

99773

T. C.  
ANADOLU ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
PATOLOJİ ANABİLİM DALI

9,10 - DİMETİL 1,2 - BENZANTRASEN İLE  
SIÇANLARDA OLUŞTURULAN TÜMÖRÜN  
GELİŞİMİNE ADRENALEKTOMİNİN ETKİSİ VE  
TİMUS - ADRENAL GLAND - TÜMÖR İLİŞKİSİ.

DR. ESİN KOTİLOĞLU

UZMANLIK TEZİ /

ESKİŞEHİR, 1990

Anadolu Üniversitesi  
Tıp Fakültesi

## İÇİNDEKİLER

GİRİŞ .....	1
GENEL BİLGİLER .....	5
YÖNTEM VE GEREÇLER .....	26
BULGULAR .....	35
TARTIŞMA .....	58
SONUÇLAR .....	67
ÖZET .....	69
KAYNAKLAR .....	70

## KISALTMALAR

ACTH .....	Adrenokortikotrop hormon
ADX .....	Adrenalektomi
DMBA .....	Dimetilbenzantrasen
FH .....	Fibröz histiyositoma
GKS .....	Glukokortikoid
HLA .....	Human Leucocyte Associated
MIF .....	Macrophage Inhibition Factor
MKS .....	Mineralokortikoid
NK .....	Natural Killer
PAS .....	Periodic Acid Schiff
S-ADX .....	Sham-Adrenalektomi

## GİRİŞ

Dünyada olduğu gibi ülkemizde de genel popülasyonda ölüme yol açan nedenler arasında kalp ve damar hastalıklarından sonra ikinci sırayı almış olan kanserin, etyoloji ve patogenezi üzerindeki çalışmalar tüm ülkelerde yoğun bir biçimde sürdürülmektedir.

Günümüzde kanser oluşturan nedenler arasında yer aldığı kabul edilen etkenler kimyasal karsinojenler, fiziksel karsinojenler ve onkojenik viruslardır. Epidemiyolojik çalışmalar insanda gelişen kanserlerin %80-90'ının yaşam tarzı ve diğer çevresel etkenlerle ilişkisi olduğunu göstermektedir (1-4).

Kanserlerin patogenezi bugün için tamamen anlaşılmiş değildir. Deneysel ve klinik bulgular neoplastik değişimin çok sayıda etken ve aşamayı içeren progresif bir olay olduğunu göstermiştir. Genel kanı, onkojenik uyarımın tek bir hücrede başladığı, bu hücrenin yapı ve fonksiyon bakımından normalden saparak otonom bir çoğalma gösterdiği ve konakçı aleyhine çalıştığı şeklindedir (1,5,6).

Onkojenik uyarımı sağlayan fiziksel, kimyasal ve viral etkenlerin hücrede mutasyona yol açtığı pek çok çalışmada gösterilmiştir (1,5). İnsanda her gün  $10^{14}$  hücre çoğalmaktadır. Bu sırada gelişen somatik mutasyon olasılığı milyonda bir olup her gün mutasyona uğramış yüzlerce farklı hücre oluşmaktadır. Bu hücreler kolaylıkla elimine edilirken onkojenik uyarım almış hücrenin konakçı savunma

mekanizmalarından nasıl kaçabildiği henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu konuda çeşitli hipotezler ileri sürülmektedir (1,5-7).

Gerçekte immün sistemin tüm komponentleri tümöral hücre eradikasyonuna katılmaktadır. Nitekim deneysel çalışmalarda ve insanlarda oluşan bazı tümörlerde, hücreyel ve humoral yanıt geliştiği gösterilmiştir (1,5,6,8-11). Ancak hücreyel immün mekanizmalar aktive olmadan humoral mekanizmalar işlerlik kazanamamaktadır. Yapılan çalışmalarda, antikör cevabının tümörün yayılımını engelleyebildiği fakat T lenfositleriyle bir etkileşime girmeden primer tümöre karşı etkin bir cevap oluşmasını sağlayamadığı gösterilmiştir (1,5,8).

Tümöre karşı gelişen aktivitede hücreyel immüitenin daha etkin bir rol üstlenmesi, immün savunma mekanizmalarında rol alan T lenfositlerinin gelişiminde anahtar organ olan ve diğer bazı efektör hücreleri de içeren timusu, çalışmalarda ön plana çıkarmıştır.

Timus çocukluk çağlarından itibaren özellikle puberteden sonra progresif olarak atrofik değişikliklere uğramaktadır. fizyolojik involusyon adı verilen bu olay sonucunda parankimin yerini yağ dokusu almaktadır (1,2,8,12). Timusta benzeri atrofik değişikliklere yol açacak faktörlerin, tümör immunolojisinde rol oynayan hücrelerin ortadan kalkmasına ve dolayısıyla tümöral gelişimin kolay ve hızlı olmasına neden olacağı düşünülebilir.

Gebelik ve laktasyon gibi bazı fizyolojik olaylar

sırasında ve beslenme bozuklukları, açlık, zehirlenmeler, travma ve enfeksiyonlar sonucu da timusta involusyon gelişmektedir. Deneysel çalışmalarda bakteriyel endotoksinler, kolloidal maddeler ve X-ışını kullanılarak ya da stress yaratılarak benzer sonuçlar alınmıştır (13-17).

Timusta involusyona neden olan koşullarda kanda adrenal kortikosteroidlerin arttığının saptanması dikkatleri adrenal gland-timus ilişkisine yöneltmiştir.

Adrenal korteks ile timus arasındaki ilişki ilk kez 1936'da Selye tarafından gösterilmiştir. Selye<sup>18</sup>, çeşitli stresslere maruz bıraktığı timusta ortaya çıkan hızlı involusyona adrenal glandın yol açtığını söylemiştir. Sonraki yıllarda adrenal kortikosteroidler ya da sentetik türevlerinin enjekte edildiği çeşitli hayvanlarla yapılan deneysel çalışmalar bunu kanıtlamıştır (13,19,20). Ayrıca glukokortikoidlerin lenfosit yıkımını hızlandırdıkları, lenfositlerin antijenle etkileşimlerindeki ikincil olayları etkiledikleri, kompleman sisteminin aktivasyonunu engelledikleri belirtilmektedir (1,21,22).

Bu durumda adenalektominin (ADX) tümör gelişimini etkileyeceği düşünülebilir. Nitekim fare ya da sıçanlara çeşitli tümör tiplerinin transplante edildiği çalışmalarda, ADX yapılan gruplarda tümör gelişim hızının daha yavaş olduğu ve gelişen tümörlerin daha küçük hacimlere eriştiği, tümör geliştikten sonra ADX yapıldığı takdirde ise tümör gelişiminin inhibe olduğu gözlenmiştir (23-29). Adrenal glukokortikoidler ekzojen olarak enjekte edildiğinde tümör

gelişimi için inokule edilmesi gereken tümöral hücre sayısının azaldığı, oluşan tümörlerin daha hızlı seyrettiği ve ayrıca kimyasal karsinogenle tümör geliştirildiği takdirde latent devrenin kısaldığı izlenmiştir (17,30-33).

Biz de çalışmamızda 9,10-dimetil 1,2-benzantrazen ile sıçanlarda oluşturulan tümörün gelişimi üzerine adrenalectominin etkisini ve timus-adrenal gland-tümör ilişkisini araştırmayı amaçladık.

## GENEL BİLGİLER

Bir organizmada hücreler, değişen derecede proliferasyon ve fonksiyonel olmaya yönelik differansiyasyon kapasitesine sahiptirler. Bu hücreysel aktivite bir organ ya da dokuda canlılığı sağlamaya yönelik şekilde koordineli olarak gerçekleşir. Ölen hücre sayısı ve ölüm hızı, çoğalanlarinkine eşittir. Böylece insanda bir günde yaklaşık  $10^{14}$  hücrenin mitoza girdiği hesaplanmıştır (1,33).

Eğer hücre proliferasyonunu sağlayan stimulus, yerine konması gereken hücre çoğalımı gerçekleştikten sonra da sürerse organ hipertrofiye olur. Bu poliklonal bir hücreysel artıştır ve eğer stimulus ortadan kalkarsa proliferasyon da durur. Regüle poliklonal hücre proliferasyonunun aksine bazen tek bir hücre transformasyona uğrayarak, herhangi bir uyarıcı sinyal almadan, bağımsız olarak üreyip çoğalma potansiyeli kazanabilir ve benzeri hücreler oluşturur. Bu proliferasyon ise monoklonal orijinli olup malign hastalıkların temelini oluşturur. Normal hücreler, in vitro birkaç pasajdan sonra yaşatılamazken malign hücrelerden sınırsız pasaj yapılabilirdiği bilinmektedir (5,6,8).

Hücrelerde gerçekleşen bu onkojenik değişimin nedeni iyi bilinmemektedir. Ancak genel kanı, her hücrede onkojenik bir potensin bulunduğu ve bunun çeşitli nedenlerle etkinlik kazandığı şeklindedir. Hücre üremesini kontrol eden genlerde mutasyon olması veya normal üreme kontrolünden sorumlu genler dışındaki mekanizmaların bozulması da suçlanmıştır. Bazı



kimyasal ve fiziksel etkenlerle onkojenik virusların da organizmada malign gelişimlere neden oldukları bilinmektedir (1-6).

#### KİMYASAL KARSİNOJENLER

Deneysel çalışmalarda en çok kullanılan karsinojen türü kimyasal karsinojenlerdir. Bu maddeler hakkındaki ilk yayın 1775 yılında Sir Percival Pott tarafından yapılmıştır. Baca temizleyicilerinde skrotumda gelişen kanser insidansının yüksek olduğunu gözleyen Pott, bunun baca isi içindeki bir maddeye bağlı olabileceğini ileri sürmüştür. Nitekim daha sonra bu maddenin benzantraseen olduğu saptanmıştır. Bu konudaki araştırmalar, Jamagiwa ve Ichikawa'nın 1915'te ilk deneysel tümörü oluşturması ile hız kazanmıştır. Saf olarak elde edilen ilk karsinojen ise 1,2,5,6-dibenzantraseen olup 1930'da Kennaway ve Higger tarafından bulunmuştur. İlerleyen yıllarda hergün yeni bir kimyasal karsinojen listeye eklenmektedir (1,3-6,27,35,36).

Kimyasal karsinojenlerle in vivo olarak ya da hücre kültürlerinde gerçekleştirilen neoplastik indüksiyon, dinamik bir olaydır. İnisiyasyon (başlangıç) ve promosyon (üreme) olmak üzere başlıca iki ana aşamadan geçer. Deneysel çalışmalarda bu aşamalarla ilgili olarak elde edilen bilgiler şöyle sıralanabilir (1-5):

\* İnisiyasyon, hücrenin uygun dozda karsinojenik bir ajanla karşılaşması ile başlar. Hücrede tümöral gelişime yatkınlık yaratan ancak tümör oluşumu için yeterli olmayan bir çeşit

değişim olur. İnisiyasyona uğramış hücre otonom büyümmez, kolaylıkla tanınabilen genotipik ve fenotipik markerlar taşımaz.

\* İnisiyasyon hızlı gelişen ve irreversibl bir olaydır. Karsinojenik ajanın tek doz halinde ya da aralıklı olarak birkaç dozda alınması aynı sonucu doğurur.

\* İnisiyasyonda gelişen irreversibl olay hedef hücre DNA'sında oluşan bir değişikliktir. Yani inisiyatörler mutajen maddelerdir. Ancak bu değişikliğin kalıcı olması için hücre en az bir kez proliferasyon aşamasından geçmelidir.

\* Promosyon aşamasında rol alan karsinojenler tek başlarına tümör oluşturamazlar. Ancak inisiyasyon aşamasını geçirmiş hücrenin klonal proliferasyonunu sağlayarak tümöral gelişime yol açarlar. Bu etkileri doz bağımlıdır.

Bazı kimyasal karsinojenler hem inisiyasyon hem de promosyon kapasitesine sahiptirler. Bunlara komplet karsinojenler denir (1,3,4).

Karsinojenlerin hücrelerle etkileşime girebilmesi için elektrofilik olmaları gerekir. Çünkü hücre içinde bağlandıkları DNA, RNA ve proteinler gibi makromoleküller nötrofiliktirler. Bu açıdan kimyasal karsinojenler direkt etki gösterenler yani reaktif elektrofiller ve prokarsinojenler olmak üzere ikiye ayrılırlar (1,3,4).

Prokarsinojenler in vivo olarak metabolik değişimlere uğrarlar. Bir yandan inaktive (detoksifiye) edici metabolik olaylarla karşılaşırken bir yandan da aktive edici reaksiyonlara girerler. Aktive edici metabolik olaylar

arasında sitokrom P-450 bağımlı monooksijenazlar veya peroksidazlarla oksidasyon, bazı redüksiyon reaksiyonları ve glutatyonla konjugasyon tanımlanmıştır. Bu reaksiyonlar aracılığıyla prokarsinojenler elektrofilik özellikler kazanırlar (1,3,5,8).

Kimyasal karsinojenler arasında yer alan değişik kimyasal yapılardaki madde gruplarının en büyüklerinden biri polisiklik aromatik hidrokarbonlar olup bunlar da prokarsinojenlerdir. Endoplazmik retikulumdaki mikrozomal monooksijenazlar tarafından elektrofil hale getirilirler. Böylece oluşan dihidrodiole epoksitleri mutajenik maddelerdir (1,3).

Polisiklik aromatik hidrokarbonların hücrelerle etkileşiminin DNA bağımlı RNA sentezi ile ilişkili olduğu in vivo ve in vitro çalışmalarda gösterilmiştir. Farklı hidrokarbonların DNA'ya bağlanma indeksleri de farklıdır. Bu indeksin 10'dan büyük olduğu hidrokarbonlar potent karsinojenlerdir. 7,12-dimetil benzantrasenin bağlanma indeksi 170 olup karsinojenik potansiyeli çok yüksektir (1,5,27,35-38).

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar deriye sürüldüklerinde veya bir organ içine enjekte edildiğinde lokal olarak kanser, subkutan veya intraartiküler verildiklerinde ise sarkom oluştururlar (1,3,5,27,35-37). Tanımlanan sarkom tipleri fibrosarkom, sinovial sarkom ve malign fibröz histiyositomdur (39,40).

Kimyasal karsinojenlerle yapılmış deneysel çalışmalarda

karsinogenez konusu oldukça iyi aydınlatılmıştır. Bu konudaki sonuçlar şöyle özetlenebilir (1,3-5):

- 1- Karsinojenlerin etkisi doz bağımlıdır. Küçük dozlar birbirine eklenerek kümülatif etki gösterebilirler.
- 2- Karsinogenez hemen gerçekleşen bir olay değildir. Karsinojenle karşılaştıktan belirli bir süre geçtikten sonra tümör oluşur. Bu süreye latent devre denir. Latent devrenin uzunluğu karsinojenin karsinojenik potansiyeline, dozuna, bu karsinojenle karşılaşılan canlının türüne ve hücre tipine bağlıdır. İnsanlarda bu süre 5-30 yıldır. Laboratuvar kemiricilerinde genellikle kısa olup en az 10 hafta en çok 99 hafta olarak bildirilmiştir (1,3-5,41).
- 3- Normal bir dokunun malign bir tümöre değişmesi birçok evreleri içine alır (multistage teorisi).
- 4- İnisiyator olarak bilinen karsinojenlerin etkinliği promotör maddelerle belirgin şekilde artar (kokarsinogenez).
- 5- Farklı karsinojenlerin etkisi birbiri üzerine eklenebilir (sinkarsinogenez).
- 6- Bazı kimyasal karsinojenler sadece belli organlarda tümör oluştururlar (Organotropi).
- 7- Kimyasal karsinojenle oluşturulan tümörler karsinojene ve oluşturulduğu canlı türüne spesifik değildirler. Bir karsinojen aynı canlıda birden çok değişik tipte tümör oluşturabileceği gibi farklı karsinojenler aynı tipte tümör gelişimine de yol açabilirler.

## FİBRÖZ HISTİYOSİTOMALAR

Fibröz histiyositomalar (FH), ister benign ister malign olsun, fibroblastlara benzeyen hücreler, myofibroblastlar, histiyositler, primitif mezangiyal hücreler ve intermediate ya da mikst özellikler taşıyan hücrelerin karışımından oluşan neoplazilerdir. Diğer özellikleri damar ağından zengin olmaları ve değişen sayıda dev hücrelerle (benign ve malign) lipid yüklü ksantomatoz hücreler içermeleridir (1,42,43).

Bu ortak morfolojik özelliklerine rağmen patogeneze ve biyolojik özellikleri açısından belirgin olarak birbirlerinden farklıdırlar. Spektrumun bir ucunda psödötümör olan ksantomatoz, diğer ucunda sınırlı da olsa agresif bir davranış kapasitesine sahip benign FH lar, bunların ikisi arasında ise juvenil ksantogranuloma yer alır (1,42,43).

Fibrohistiyositik tümörler klinik davranış ve mikroskopik özelliklerine göre başlıca 3 grupta incelenirler (Tablo I).

Fibrohistiyositik tümörlere bu ad verilirken fibroblastik özellikler kazanabilen doku histiyositlerinden köken aldıkları düşünülmüştür. Nitekim çoğu hücre lizozim, alfa-1-antitripsin, alfa-1-antikimotripsin ve faktor XIIIa gibi histiyositik differansiyasyonun tüm klasik markerlerini taşırlar. Ancak sonraki çalışmalarda histiyositik köken şüphe kazanmış ve fibroblastik kökenli oldukları ileri sürülmüştür. Günümüzde en geçerli görüş çok yönlü differansiyasyon kapasitesine sahip primitif mezangiyal hücrelerden geliştikleri şeklindedir (42-47).

TABLO I: Fibrohistiyositik tümörlerin sınıflandırılması (43):

I-BENİGN FİBROHİSTİYOSİTİK TÜMÖRLER:

- 1- Fibroz histiyositoma
  - A- Kutanöz
  - B- Derinde yerleşenler
- 2- Yaygın eruptif histiyositoma
- 3- Juvenil ksantogranüloma
- 4- Retikülohistiyositoma
- 5- Ksantoma
- 6- Retroperitoneal ksantogranüloma

II-INTERMEDIATE MALIGNANCY GÖSTERENLER:

- 1- Dermatofibrosarkoma protuberans
- 2- Bednar tümörü

III-MALIGN FİBROHİSTİYOSİTİK TÜMÖRLER:

- 1- Atipik fibroksantoma
- 2- Malign fibröz histiyositoma
  - A- Storiform-pleomorfik tip
  - B- Miksoid tip
  - C- Dev hücreli tip
  - D- İnflamatuar tip
  - E- Anjiomatoid tip

Benign FHlar en sık dermis ve superfisyal subkutan dokuda gelişirlerse de daha derindeki yumuşak dokuda ve parankimatöz organlarda da tanımlanmıştır (1,42,43).

Kutanöz FH lar soliter, yavaş büyüyen nodüller şeklindedirler. En sık erken ya da orta erişkin yaşta ve

ekstremitelerde görülürler. Yüzeyden kabarık, birkaç mm. veya cm. çapta, kırmızı ya da kırmızı-kahverengi renkte lezyonlardır. Derinde yerleşenler genellikle daha büyük çapta ve sınırlı, fokal kanama alanları içeren, beyaz ya da sarı renkte kitlelerdir (1,42,43).

Mikroskobik olarak sınırları çok keskin değildir. Çoğu alanda kesişen kısa fasiküller halindeki araba tekerleği ya da storiform dizilim gösteren fibroblastik hücrelerden oluşurlar. Derinde yerleşenlerde storiform patern daha ön plandadır. Bu hücreler arasında histiyositik hücreler yer alır. Yabancı cisim ya da Touton tipi dev hücrelere sık rastlanır, dağınık halde lenfosit ve ksantoma hücreleri bulunur. Stroma her bir hücreyi çevreleyen ince kollagen ağdan oluşur. Bu ağı trikrom boyası ile göstermek olasıdır. Bazen hyalinizasyon alanları ve kanamaya bağlı kistik gelişimler de görülebilir. Hücreler iyi differansiyedirler ve çok az pleomorfizm ve mitotik aktivite gösterirler. Nadiren hiperkromatik nukleuslu ve eozinofilik sitoplazmalı, pleomorfik hücreler görülebilirse de bu dejeneratif bir fenomen olarak yorumlanmaktadır. Gene dejeneratif süreçlere bağlı olarak hücre sitoplazmalarında PAS pozitif granüller görülebilir. Ancak hem pleomorfizm hem de mitotik aktivasyon varsa malign gruba sokulmalıdır (42-48).

Malign FH lar da, anjiomatoid tipi haricinde, 50-70 yaşlarında ortaya çıkan yumuşak doku sarkomlarıdır. Anjiomatoid tip ise ilk iki dekatta görülür. Hastaların 2/3'ü

erkektir. En çok alt ekstremitelerde yerleşir. Etyolojilerinde radyasyon, travma ve kemik enfarktlerinin rol aldığı düşünülmektedir. Malign FH lar soliter, multinodüler ve etsi görünümde, birkaç cm. çapta kitleler halindedirler. 2/3'ü iskelet kası içinde yerleşir. Makroskopik olarak sınırlıdır ama mikroskopik olarak kas fibrilleri arasına ilerlediği görülür. Kesit yüzleri içerdiği elemanlara göre griden beyaza dek değişir. Kanama ve nekroz sık görülen özelliklerindedir (1,42,43,49).

Mikroskopik olarak içerdiği elemanlardan hangisinin baskın olduğuna bakılarak alt gruplara ayrılmıştır (Tablo I).

#### TUMÖR IMMUNOLOJİSİ

Etyolojik neden ne olursa olsun onkojenik değişim sonunda hücreler yeni karakterler kazanırlar. Bu karakterlerden biri yüzey antijenleridir. Deneysel olarak hayvanlarda oluşturulan tümörlerin çoğunun antijenik yapıda olduğu gösterilmiştir. Ancak gene de malign hücreleri tanımak immun sistem için çok güç bir görevdir. Çünkü tümöral hücrelerle normal hücrelerin pek çok benzerlikleri vardır. Örneğin Moloney sarkoma virus ile oluşturulan tümöre ait antijenlerin normal hücre zarında da bulunduğu gösterilmiştir (1-8,10,11,48).

İnsanlarda ise tümörlerin antijenik özellikleri o denli belirgin değildir. Ancak malign melanom, akut lösemi, nöroblastom, koryokarsinom, Hodgkin hastalığı, Burkitt



lenfoma, gastrointestinal kanal, meme ve prostat kanserleri, osteosarkom gibi bazı tümörlere karşı gelişen hücresel ve hümorale immun yanıtları gösterme olanağı doğmuştur. Bu yanıtların spesifik olup olmadığı ise bilinmemektedir (1,5,6,8,11).

Immun kompetan bir organizmada, tümör hücrelerinin konanın immun savunma mekanizmalarından nasıl kaçabildikleri anlaşılammıştır (1,3-8). Ancak klinik olarak saptanabilinen en küçük tümör boyutu olan 1 ml.tlik tümörde en az 30 kez mitoz geçirmiş  $10^{14}$  hücre tüm vücutta ise pek azı spesifik antijene karşı fonksiyonel  $15 \times 10^{14}$  lenfosit bulunduğu göz önüne alınırsa belki bu durum biraz açıklığa kavuşur (6). Ayrıca şu hipotezler ileri sürülmektedir:

1- Tümöre özgü antijenler antikor yapımını uyarır ancak sonra bu antikorlarla kaplanırlar. Bu bloke edici antikorlar duyarlılık kazanmış sitotoksik lenfositlerin etkisini durdururlar (1,5-8,50).

2- Tümör gelişimi sırasında immunojenik subklonlar elimine edilip antijen negatif hücrelerin artışı sağlanabilir (1,5,6).

3- Tümör hücreleri HLA Klas I antijenlerini az sayıda içerebilir ve böylece sitotoksik T hücrelerinden kaçabilir (1,5).

4- Tümörler immun cevapta spesifik olmayan supresyon yaratabilir. Bunun bir kısmından supressör T hücreleri sorumlu olabilir (1,5,6,8).

5- Tümör hücreleri immun sistemde, erken dönemde sayıca çok

az oldukları için toleransa ; ileri dönemde ise çok fazla oldukları için paraliziye yol açarlar (7,8).

6- Antijenin başlattığı immunolojik reaksiyonlar kromozom anomalilerine de yol açar ve bu anomaliler tümör oluşumunu destekler (1,4,34).

Gerçekte immun sistemin tüm komponentleri tümöral hücre eradikasyonuna katılmaktadır. Ancak elbette ki hücresel mekanizmalar aktive olmadan humoral mekanizmalar işlerlik kazanamayacaktır. Ayrıca yapılan çalışmalar göstermiştir ki antikor cevabı tümörün yayılımını engelleyebilmekte ancak T lenfositleriyle bir etkileşime girmeden primer tümöre karşı etkin bir cevap oluşturulmasını sağlayamamaktadır (1,5,9-11).

Kısaca özetlenecek olursa tümörlere karşı savunmada yer alan hücreler 3 ana kategoriye ayrılır (1,3,5,8,51-54):

1- T lenfositleri:Özellikle T helper ve spesifik olarak duyarlanmış sitotoksik T hücreleri bu konuda rol alır. Deneysel çalışmalarda sitotoksik T hücreleriyle beraber interlökin 2 enjekte edilir veya sadece interlökin 2 sekrete eden sitotoksik T hücre klonları verilirse tümöre karşı gelişen etkinin daha potent hal aldığı izlenmiştir.

2- Natural killer (NK-dogal öldürücü) hücreler:interlökin 2 ile aktive olup direkt olarak veya antikor bağımlı hücresel sitotoksikite mekanizmaları ile etkin olurlar (55-56).

3- Makrofajlar:Hem non-spesifik olarak örneğin endotoksinlerle, hem de immun T hücreleri tarafından aktive edilirler. Sitotoksik ürünler salgılayıp direkt olarak ya da antikor bağımlı hücresel sitotoksikite mekanizmaları ile

etkin olurlar. Regrese olmaya başlamış tümörlerden elde edilen makrofajların sitotoksik etkisi deneysel olarak ta gösterilmiştir (1,5,57).

Başka efektör hücreler de tümör immunolojisinde önemli mekanizmalar oluşturabilir. Bunlar arasında mast hücreleri ve polimorf nüveli lökositler özellikle de eozinofil lökositler sayılabilir (52).Bu konuda daha çok araştırma yapılması gerekmektedir beraber tümöral dokuda bu hücrelerin varlığının prognozu iyi yönde etkilediğine dair pekçok çalışma vardır (58-61).

Ayrıca klasik NK hücrelerinden ayırdedilebilen başka sitotoksik efektör hücreler de tanımlanmıştır. Örneğin interlökinin aktive ettiği öldürücü hücreler (LAK hücreleri) (5,8).

Tümör hücrelerini karşı immunolojik bir cevabın varlığı dikkatleri immun sistemi oluşturan organlara ve bu organları fizyopatolojisine yöneltmiştir. Tümöre karşı gelişen aktivitede hücreyel immunitenin daha etkin bir rol üstlenmesi, T hücrelerinin gelişiminde anahtar organ olan timusu çalışmalarda ön plana çıkarmıştır.

### TIMUS

Timus embriyolojik olarak 3. faringeal yarıktan hemen tamamen otonom olarak gelişen lenfosit ve diğer mezankimal hücrelerin oluşturduğu epitelyal bir organdır. Orta hatta anterosüperiyor mediastende lokalizedir. Fibröz bir kapsülle

tamamen çevrili, piramid şeklinde, birbirine benzeyen ve yapışık, ancak birbirinden kolaylıkla ayrılabilen 2 lobdan oluşur. Infantlarda pembe renktedir, ileri yaşlarda ise sarı renkte görülür (12,62-64).

Mikroskopik olarak kapsülden dallanan fibröz septumlar organı oldukça iyi belirlenebilen lobüllere böler. Herbir lobül timusun histolojik birimini oluşturur. Lobüllerin iki kısmı vardır: daha koyu boyanan korteks ve daha açık boyanan medulla. Korteks ve medulla sınırı keskin olmamakla beraber belirgindir (1,2,8,12,62,65). Immunohistokimyasal bir çalışmada stromal eleman içermeyen üçüncü bir alan tanımlanmış ve bu alanın lenfositler için rezervuar olduğu düşünülmüştür (66).

Timus için karakteristik olan yapı ise medullada yer alan Hassal korpuskülleridir. Bu korpuskülleri, birbiri üzerine konsantrik olarak dizilerek keratinize hal almış epitel hücreleri oluştururlar. Santral kısmında kalsifikasyon, amorf proteinöz materyal ya da dejenere olmuş lenfositlere ait nükleer kırıntı bulunabilir. Hassal korpusküllerinde antijen depolandığı belirtilmişse de bunun fonksiyonel önemi bilinmemektedir (1,2,8,12,62,65). Sığan timusunda ise Hassal korpuskülleri nispeten az sayıdadır(14).

Timusun epitelyal hücreleri çatıyı oluşturan hücrelerdir ve diğer lenfoid dokulardaki retikulum hücrelerine karşılık gelirler. Organda buldukları yere ve belki de fonksiyonel durumlarına göre yuvarlak ya da iğsi formdadırlar. Desmosom ve intrasellüler tonofilaman içerdikleri, sitoplazmalarında

PAS (periyodik asit schiff) pozitif granüller bulunduğu gösterilmiştir. Fagositik güçleri zayıftır. Ayrıca lenfositik seri ana hücrelerinin proliferasyon ve differansiyasyonunu sağlayacak spesifik bir çevre oluşturdıklarına inanılmaktadır. Bu hücrelerin thymosin, thymopoetin, thymic humoral factor, thymostimulin gibi pekçok hormon benzeri faktör sentezlediği de düşünülmektedir (8, 12, 14, 32, 62, 66-68).

Timustaki lenfositler korteksin hemen altında yer alan prekürsör ya da ana hücrelerden proliferere ve differansiye olurlar. Bu prekürsör hücreler kemik iliginden göç ederler. Bu göç hem belli aralıklarla gerçekleşir hem de fetal hayatta hızlı iken sonradan yavaşlar. Prekürsör hücrelerin proliferasyon ve maturasyonundan sonra hücreler, kortekste fonksiyonel olarak immatür, medullada ise matür formları bulunacak şekilde yerleşirler. Bu farklılaşma sırasında herbirine özgüllük kazandıran ve antijenik yapıda proteinler olan yüzey markerları gelişir (1, 8, 12, 66, 68-70).

Doğumdan puberteye kadar boyutunda sürekli bir artış olan timus, puberteden sonra progresif olarak atrofik değişikliklere uğrar. Ağırlığı ve hacmi azalır, parankimin yerini yağ dokusu alır. Lenfositler belirgin derecede azalır. Hassal korpuskülleri ise hipertrofik hal alır ve bir kısmı sonradan mikrokistlere dönüşür. Bu durum fizyolojik ya da yaşlılık involusyonu olarak adlandırılır. Bu duruma puberte ile gonadlardan salgılanımı artan seks steroidlerinin neden olduğu belirtilmektedir (1, 2, 8, 12, 20). Ayrıca hipofiz

ve pituiter hormonların da rol oynadığı düşünülmektedir (13,71,72).

Timusta involusyon akut veya kronik enfeksiyonlar, beslenme bozuklukları, açlık, zehirlenmeler ya da travma sonucu da gelişebilir. Bu taktirde akut veya akkiz involusyon dan söz edilir. Deneysel olarak bakteriyel endotoksinler, kolloidal maddeler ve X-ışını ile akut involusyon oluşturulabilmiştir. Mikroskobik görünümü fizyolojik involusyondan farklıdır: pek çok lenfosit ölür ve kortekste bunların kırıntılarını fagoside etmiş çok sayıda makrofaj yer alır. Yani akut involusyonda primer olay lenfositlerin ölümüdür, makrofajlar sekonder olarak rol alırlar. Ölen lenfositlerin çoğu kortekste yer alan immatür hücrelerdir, medulladaki lenfositler ise daha az etkilenir (1,2,8,12-16).

Gebelik ve laktasyon sırasında da timus ağırlığı azalır. Bu etkiyi adrenal kortikosteroidlerin yaptığı düşünülmektedir (13,14).

Adrenal korteks ve timus arasındaki ilişkiyi ilk kez 1936'da Selye göstermiştir. Selye,<sup>18</sup> pek çok çeşit stresse maruz kalan timusta gelişen hızlı involusyona adrenal glandın yol açtığını söylemiştir. Sonraki yıllarda adrenal kortikoid hormon ya da sentetik türevlerinin enjekte edildikleri çeşitli hayvanlarla yapılan deneysel çalışmalar bunu kanıtlamıştır (13,19,20).

## ADRENAL GLAND (Glandula suprarenalis)

Böbrek üstü bezleri, böbreklerin üst kutbunun biraz iç kısmında yer alan, karın arka duvarına yaslanmış olarak duran bir çift salgı organıdır. Laboratuvar kemiricilerinde yuvarlağımsı ovoid, insanda ise yassılaştırmış üçgen şeklindedir. Kesit yüzünde grimsi beyaz renkteki santral kısım yani medulla ile bunu periferik olarak çepeçevre saran sarı renkli korteks tabakaları ayırdedilir (62,64).

Medulla ve korteks embriyolojik gelişme, yapı ve fonksiyonları bakımından tamamen birbirinden ayrıdır. Medulla nöroektodermal kökenlidir ve sempatik sinir sisteminin bir parçasıdır. Korteks ise dorsal gölom epiteli yani mezodermden gelişir (62,63).

Medulla oldukça büyük ve poligonal hücrelerle bunların arasında kalan sinuzoid tipte kapillerlerden oluşur. Ayrıca sempatik ganglion hücreleri ve sık sinir ağı içerir. Medüller hücrelerden adrenalın ve noradrenalin salgılanır (1,22,62).

Korteks granüllü, iri hücrelerden oluşan bir iç tabaka ile koyu nukleuslu küçük hücrelerden ibaret bir dış tabakaya ayrılır. Fötal hayatın sonuna doğru iç tabaka atrofiye olur. Dış tabaka ise gelişmesine devam ederek doğumdan sonraki 2 yıl içinde erişkin korteksini oluşturur. Erişkin korteksi hücreden zengin olup hücre kordonlarının dizilişine göre 3 tabakaya ayrılır: dışta, kapsül altında zona glomeruloza; ortada zona fasikülata ve en içte, medullaya bitişik olarak zona retikularis. Bu tabakalar arasında keskin

bir sınır bulunmaz (22,62,63).

Kortekste çeşitli steroid hormonlar sentez edilir ve bunların salınımı ACTH (Adrenokortikotrop hormon) kontrolündedir. Bu hormonlar arasında fonksiyonel önemi olanlar glukokortikoidler ve mineralokortikoidlerdir. Ayrıca androjenik etkili steroidler de salgılanır ve bunların arasında yer alan androstenedion aynı zamanda östrojen prekürsörüdür (1,22,62).

Mineralokortikoidler (MKS) zona glomerulozadan salgılanır. Böbreklere etki ederek sodyum tutulumunu ve potasyum atılımını arttıran hormonlardır. En güçlü MKS aldosterondur (62,63).

Glukokortikoidler (GKS) ise zona fasikülata ve bir miktar da zona retikularisten salgılanır. En güçlü etkinliğe sahip olan ve insanda en fazla salgılanan kortizoldür. Sığınlarda ise en önemli doğal GKS daha az etkin olan kortikosterondur (1,62,63).

GKS lerin temel etkisi karbonhidrat metabolizması üzerinedir. Glukoneogenezi arttırıp hücre içine glukoz girişini azaltırlar. Ayrıca protein sentezini inhibe edip protein yıkımını arttırmak, santral sinir sistemi üzerine hafif eksitator etki yapmak, damar düz kası ve myokardın adrenerjik yanıtını arttırmak gibi etkileri de vardır. Yüksek dozları büyüme hormonu salınımını inhibe eder, lipolizi hızlandırarak vücuttaki yağ dağılımını değiştirir. Suprafizyolojik konsantrasyonlar da ise iltihap olayını özellikle kronik iltihap olayını inhibe ederler (21,22).



GKS ler ayrıca geniş spektrumlu ve güçlü bir immunosupresif etki gösterirler. T ve B lenfositlerinin antijeni tanımlarını önlemezler, ancak ikincil olayları etkilerler. Bu etkileri şöyle sıralanabilir:

1-Lenfosit yıkımını hızlandırır ve lenfoid dokuyu küçültürler (21,22).

2-T lenfositlerinden lenfokin salınmasını ve böylece hücre sel immunolojik reaksiyonun başlamasını önlerler (21).

3-T lenfositlerinden MIF (Macrophage Inhibition Factor) salgılanmasına neden olarak makrofaj ve onların prekürsörü olan monositlerin ve ayrıca polimorf nüveli lökositlerin migrasyon yeteneğini inhibe ederler (21,22).

4-B lenfositlerinin antikor oluşturma yeteneğini inhibe ederler, ancak fizyolojik konsantrasyonlarda immunglobulin G ve M gibi proteinlerin yapımını ve kandaki düzeyini pek etkilemezler (21,22).

5-Kompleman sisteminin aktivasyonunu engellerler (22).

Kortizol enjekte edildikten 30 dakika sonra lenfositlerde RNA sentezinin azaldığı gösterilmiştir. Bu gözlem GKS lerin ilk etkilerini nükleer düzeyde yaptıkları kanısını uyandırmaktadır (21,73).

Döyleyse GKS enjeksiyonları ya da ADX nin tümör gelişimini etkilemesi beklenebilir.

Nitekim fare ya da sıçanlara çeşitli tümör tiplerini transplante eden araştırmacılar, ADX yaptıkları gruplarda tümör gelişim hızının daha yavaş olduğunu ve tümörlerin daha hacimlere eriştiğini görmüşlerdir. Tümör oluştuktan sonra ADX

yapılırsa tümör gelişimi inhibe olmaktadır (23-29,74).

Klinik bir çalışmada ise Santen ve ark.<sup>75</sup> metastatik meme ca olan 96 postmenapozal kadının bir kısmına ADX yaptıklarında %45'inde metastazlarda belirgin gerileme saptamışlardır.

Diğer bazı çalışmalarda ise adrenal kortikosteroidler eksojen olarak verilerek tümöral gelişme gözlenmiştir. Moore ve ark.<sup>32</sup> kortizon enjekte ettikleri hayvanlarda tümör gelişimi için inoküle edilmesi gereken tümöral hücre sayısının diğer grup için gerekenin 1/4'ü olduğunu saptamışlardır. Fachet ve ark.<sup>33</sup> ise kanda kortikosteroid konsantrasyonunu yüksek olarak saptadıkları hayvanlarda kimyasal karsinojenlerle elde ettikleri tümörlerin daha erken belirip daha hızlı geliştiğini gözlemlemiştir.

Tümör geliştirdiği ve sonradan ADX yaptığı farelere kortizol asetat, kortikosteron, DOCA ya da aldosteron enjekte eden Benton<sup>26</sup> ise tümördeki gerilemenin sadece DOCA ve aldosteron enjekte ettiği hayvan gruplarında ortadan kalktığını gözlemlemiştir. Diğer çalışmaların aksine olan bu gözlemi ile tümördeki gerilemeyi sodyum ve potasyum metabolizmasındaki değişikliklere bağlamıştır.

Oysa ki spontan olarak "Walker karsinosarkomu 256" gelişen sıçanlarda adrenal hiperplazi saptayan Coombs ve ark.<sup>28</sup>, yaptıkları histolojik incelemede hiperplazinin özellikle zona retikularisin kalınlığındaki belirgin artışa bağlı olduğunu gözlemlemiştir.

Fachet ve ark.<sup>33</sup> da 3,4-benzpirenle tümör oluşturdukları

hayvanlarda saptadıkları adrenal hiperplazinin zona fasikülatadaki genişlemeye bağlı olduğunu saptamışlardır.

Adrenal gland hormonları ile stress arasındaki ilişki, bazı araştırmacıları ADX yapmak yerine stress yaratarak tümör gelişimini gözlemlemeye yöneltmiştir.

Buinauskas ve ark.<sup>30</sup> "Walker karsinosarkomu 256" inoküle ettikleri hayvanların bir kısmına laparotomi yapmışlardır. Operasyon stressi yaşattıkları deneklerde tümör büyüme hızının hafifçe arttığını gözlemlemişlerdir.

Solomon ve Amkraut<sup>49</sup> "Maloney Murine Sarkoma Virusü" inokülasyonundan önce 3 gün süreyle elektrik şoku vererek stress yarattıkları hayvanlarda tümör insidans ve boyutunun azalmış olduğunu saptamışlardır. Inokülasyondan sonraki 3 gün içinde şok uyguladıklarında ise tümör boyutu artmıştır.

Stress yaratmanın bir yolu da hipogravite oluşturmaktır. Steffen ve Musasacchia<sup>76</sup> ortostatik ve antiortostatik olarak astıkları farelerin adrenal glandlarının %33 oranında hipertrofiye uğradığını ve timuslarının %50 ağırlık kaybettiğini ( $p < 0.01$ ) saptamışlardır.

Stressin yarattığı lenfosit deplezyonunun GKS lere bağlı olduğu düşünülmeyle beraber bu olayda, başka medyatörlerin de rol oynadığına dair bulgular vardır. Bu medyatörler arasında katekolaminler sayılabilir. Epinefrin ve norepinefrinin lenfositlerin metabolik aktivitesi ile antijen ve mitojenlere karşı cevaplarını etkilediği gösterilmiştir (77).

Stress hormonları ile radyasyonun birbirine benzer şekilde tümör gelişimini etkilediğini gözleyen Peters ve

Kelly<sup>17</sup> bu etkinin immunolojik mekanizmalar yoluyla ortaya çıktığını düşünmüşlerdir.

Paciotti ve ark.<sup>78</sup> nin yaptığı çalışmaya göre ise isoproterenol ve insulin enjeksiyonu sonrası GKS düzeyindeki kısa süreli yükselme immun fonksiyonda belirgin supresyon yaparken, uzun süreli yükselme mitojenle uyarılan lenfosit proliferasyonunda immun supresyona yol açmamaktadır. Bu gözlem immun sistemin akut ve kronik stress karşısında regüle olabildiğini düşündürmektedir.

Hiramoto ve Sugimachi<sup>79</sup> "Meth A Sarkomu" inoküle ettikleri farelerin bir kısmına tümör rezeksiyonu ile eş zamanlı olarak ADX yapmışlardır. Daha sonra yine aynı tümörden inokülasyon yaptıkları bu deneklere GKS enjekte ederek dalak hücre süspansiyonlarının sitotoksik aktivitesine bakmışlardır. Yeterli replasman yaptıklarında bu sitotoksik aktivitenin arttığını saptamış ve GKS lerin efektör fazı etkilemediği sonucuna varmışlardır.

In vitro çalışmalar sonucu da GKS lerin lenfositler üzerindeki etkisinin bifazik olduğu gösterilmiştir. Lenfositlerin fibroblastlara karşı reaksiyonu gözlenirken induksiyon fazında ortama GKS eklenirse lenfositlerin total sayısı azalmakta ancak büyük, transforme lenfosit yüzdesi ve duyarlı lenfositlerin sitolitik kapasitesi artmaktadır. Effektör fazda ortama GKS eklenirse sitolitik aktivitede inhibisyon olmaktadır. Bu inhibisyon lenfosit sayısının azalması ile gerçekleşmemekle birlikte oluş mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır (80,81).

## YÖNTEM VE GEREÇLER

Bu deneysel çalışmada albino Wistar cinsi, 7 haftalık, erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden (DETAM'dan) temin edildi ve bu çalışma aynı merkezin laboratuvarlarında 8,5 aylık sürede gerçekleştirildi. Diğer işlem ve değerlendirmeler ise Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim dalında yapıldı.

Deney süresince denekler karanlıkta,  $22\pm 2^\circ\text{C}$ 'lik oda ısısında, 45x30x15 cm. boyutlarındaki kafeslerde 5'er ya da 7'şerli gruplar halinde tutuldular. Yem sanayiinden alınan Peled yem ile beslendiler. ADX yapılan gruba %0.9'luk tuzlu su, diğer gruplara musluk suyu ad libitum verildi.

Denekler 3 gruba ayrıldı:

Grup 1: Adrenalektomi (ADX) yapılan grup (10 sıçan)

Grup 2: Sham adrenalektomi (S-ADX) yapılan grup (10 sıçan)

Grup 3: Kontrol grubu (10 sıçan)

ADX operasyonu iki aşamalı olarak gerçekleştirildi.

Birinci ve ikinci operasyonlar arasında 1 hafta

beklendi. Denekler operasyondan önce eter anestezisi ile uyutuldu. Iyot ile silinen karın cildi ilk operasyonda sağ parasantral kesi ile açıldı. Batına girildiğinde karaciğer lobları kaldırılınca arka duvarda sağ böbrek ve üzerindeki az

---

1-Eter sülfat:  $\text{C}_6\text{H}_5$

miktardaki sarı beyaz yağ dokusu içinde adrenal gland kolaylıkla görülüyordu. Adrenal gland kapsülünde ufak bir defekt oluşturulduktan sonra glandın bütünlüğü bozulmadan protrude olması sağlandı ve pensetle çıkarıldı. Daha sonra glanda ait herhangi bir parçacığın kalmaması için gland ve böbrek çevresindeki yağ dokusu böbrek kapsülü ile beraber tamamen çıkarıldı. Hemostaz sağlandıktan sonra batin duvarı ve cilt ciltaltı dokusu 4/0 atravmatik katkıtle kapatıldı. İkinci operasyonda batına sol parasantral kesi ile girildi. Dalak sağa doğru mide üzerinden ekarte edildiğinde arka duvarda sol böbrek ve adrenal gland kolaylıkla görülüyordu. Benzer teknikle ADX yapıp hemostaz sağlandıktan sonra batin duvarı ve cilt ciltaltı dokusu 4/0 atravmatik katkıtle kapatıldı.

İkinci gruptaki denekler de bir hafta ara ile 2 kez opere edildiler. Eter anestezisi ile uyutulan bu deneklerin operasyonlarında sadece benzer kesilerle batinları açıldı ve birinci grubun operasyon süresine eşit olabilecek süre açık bırakıldı, organlar benzer şekilde ekarte edildi. Kesi yerleri aynı şekilde sütüre edildi (Sham adrenalectomi: S-ADX).

9,10-dimetil 1,2-benzantracen (DMBA)'ın parafin yağı içinde %2'lik solusyonu hazırlandı. ADX ve S-ADX gruplarındaki deneklerin sağ ayak bileğine intraartiküler

---

2- 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene(7,12-dimethyl benz(a)anthracene).Sigma Chemical Company No:D-3254  
3- Paraffin oil

olarak 0.2 cc. solusyon 3 kez enjekte edildi. İlk enjeksiyon ikinci operasyondan 1 hafta sonra yapıldı, diğer enjeksiyonlar arasında 4 hafta beklendi. Kontrol grubuna ise 0,2 cc. parafin yağı aynı şekilde enjekte edildi.

Tüm denekler deneye alındıkları anda, her enjeksiyondan sonra ve enjeksiyonların bitiminden itibaren her ay özel sıçan tartısında tartılarak büyümeleri izlendi. Enjeksiyon bölgesi incelenerek makroskobik olarak tümöral bir gelişim bulunup bulunmadığına bakıldı.

Son enjeksiyondan 5 ay sonra deneyde kullanılan tüm denekler eter ile öldürüldü ve otopsi yapıldı.

Enjeksiyon yapılmış olan sağ bacaklar radyolojik incelemeye alındı. Bunun için Sakamoto<sup>40</sup> 40 kW, 12 mA dozun tüp mesafesinin 40 cm. e ayarlanıp 5 sn. süreyle verilmesini önermiştir. Bu dozu temin edecek uygun radyografi aleti bulunmadığından skopi aletinde tüp uzaklığı sıfırlanarak ve temin edinebilinen minimal doz olan 40 kW 200 mAs uygulanarak radyolojik inceleme yapıldı.

Enjeksiyon yerinde makroskobik olarak saptanabilen tümörlerden alınan örnekler %10'luk formalin solusyonunda tespit edildi. Uygun takip işlemlerinden geçirilerek parafin blokları hazırlandı. 4-9 mikron kalınlığındaki kesitler Hematoksilen Eozin (H.E), Gomori'nin tek basamaklı Trikrom

---

4- Rat Scale: Capacity 700 gr. by 2 gr.

Model Y6 700 Pelouze Scale Co. Evanston, Ill.

5- %10 luk formalin solusyonu=100 cc. %37-40 formaldehit  
900 cc. musluk suyu

boyası, Periodic Acid Schiff (PAS) ve Gomori'nin retikülin boyası ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi.

Çalışmada yer alan tüm deneklerin enjeksiyon yapılan sağ ayak bileği ve bunun komşulugunu içeren alanın tamamı dekal takibine alındı. Parafin bloklardan hazırlanan kesitler H.E. ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi.

Otopsi yapılan deneklerin göğüs ve karın boşluklarındaki tüm organlar makroskopik olarak incelendi. Timusları ve S-ADX ile kontrol grubundaki deneklerin adrenal glandları çıkarıldıktan sonra herbiri hassas terazide tartıldı. Daha sonra %10'luk formalin solusyonunda tespit edildi. Uygun takip işlemlerinden geçirilerek parafin blok kesitleri H.E. ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi.

Mikroskopik incelemede saptanan tümörlerin boyutlarını belirlemek üzere tümörün gözleendiği büyük büyütme saha sayısı sayıldı. Bu saha sayılarına göre tümörler 15 büyük büyütme sahasından az ve çok yer kaplayanlar olmak üzere iki gruba ayrıldı. ADX ve S-ADX gruplarındaki tümörlerin boyutları ki kare testi kullanılarak karşılaştırıldı.

Deneyde kullanılan tüm denekler için "timus ağırlıkları/vücut ağırlığı" oranı, S-ADX ve kontrol grubundaki her bir denek için "her iki adrenal glandın ağırlık ortalaması/vücut ağırlığı" oranı hesaplandı. Adrenal glandların kesitlerinde elde edilen en geniş çap ve korteks kalınlığı cm. cinsinden ölçülerek "korteks kalınlığı/medulla kalınlığı" oranı hesaplandı. Gruplar bu parametreler

---

6- Hassas terazi: Bosch S 2000 (Max.200 gr.-Min.0.5 mgr.)



açısından istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Bu amaçla varyans analizi ve t testi kullanıldı.

Kullanılan boya teknikleri:

I. HARRIS'İN HEMATOKSİLEN EOSİN'İ (80):

SOLUSYONLAR:

HARRIS'İN HEMATOKSİLENI

Hematoksilen kristal	5.0 gr.
%95'lik alkol	50.0 cc.
Ammonium veya potassium alum (şap)	100.0 gr.
Distile su	1000.0 cc.
Mercuric oxide	2.5 gr.

Hematoksilen alkolde, şap suda ısıtılarak eritildikten sonra bu iki solusyon birbiri ile karıştırılır, süratle kaynatılır. Ateş üzerinden alındıktan sonra mercuric oxide eklenir. Bu karışım koyu menekşe rengi alıncaya kadar tekrar ısıtılır. Bu renk oluşur oluşmaz ateşten indirilerek soğuk su içeren bir kap içerisinde soğutulur.

ASIT ALKOL

%70'lik Alkol	1000.0 cc.
Konsantré Hidroklorik asit	10.0 cc.

AMONYAKLI SU

Çeşme suyu	1000.0 cc.
Amonyak	1.0-2.0 cc.

EOSİN SOLUSYONU

Eosin Y, %3'lük sudaki solusyonu	100.0 cc.
%95'lik Alkol	125.0 cc.
Distile su	375.0 cc.

TEKNİK: 1- Ksilol, alkol absolu, %95'lik alkolden geçirilir.

2- Harris'in hematoksisleninde 15 dakika boyanır.

3- Akar suda yıkanır.

4- Asit-Alkolde 3-10 kez çalkalanarak soldurulur.

Nukleuslar berrak mavi, zemin renksiz olmalıdır. Bu durum mikroskopta kontrol edilir.

5- Akar suda süratle yıkanır.

6- Kesitler amonyaklı suya parlak mavi renk meydana gelinceye kadar daldırılır.

7- Akar suda 10-20 dakika yıkanır.

8- Eosin ile 15 saniye-2 dakika boyanır. Bu süre Eosinin eski ya da yeni oluşuna ve istenilen boya koyuluğuna bağlıdır.

9- %95'lik alkolden geçirilir.

10- En az iki kez alkol absuluden geçirilir.

11- En az iki kere ksilolden geçirilir.

12- Permount veya balsam ile monte edilir.

SONUÇLAR: Nukleuslar ..... mavi  
Sitoplazma ..... pembe

## II. GOMORI'NİN TEK BASAMAKLI TRICHROME BOYASI (80):

### SOLUSYONLAR:

#### BOUIN'İN SOLUSYONU

Picric acid, sudaki konsantre solusyonu	75.0 cc.
Formaldehyde, %37-40	25.0 cc.
Glacial acetic acid	5.0 cc.

#### TRICHROME BOYASI

Chromotrope 2R	0.6 gr.
Light green	0.3 gr.
Glacial acetic acid	1.0 cc.
Phosphotungstic acid	0.8 gr.
Distile su	100.0 cc.

### TEKNIK:1- Ksilol

2- Absolu alkol

3- % 95'lik alkol

4- Suya daldırılır

5- Bir saat süreyle, 56 C ısıdaki fırında Bouin'in solusyonunda tutulur.

6- Nukleusları boyamak için 10 dakika iron hematoksilin, Weigert'in veya Gomori'nin chromium hematoksileni ile boyanır.

7- Suda yıkanır.

8- 15-20 dakika Trichrome boyası ile boyanır.

9- %0.5'lik acetic suda tutulur. Çok koyu boyanırsa  
%1'lik solusyonu kullanılır.

10- %95'lik alkolden geçirilir.

11- Absolu alkolden geçirilir.

12- İki kez ksilolden geçirilir.

13- Permount veya balsamla monte edilir.

SONUÇLAR: Kas lifleri ..... kırmızı

Kollagen ..... yeşil

Nukleuslar ..... maviden siyaha kadar

### III.GOMORI'NİN RETİKÜLİN BOYASI [Perdau modifikasyonuna göre]

(81):

#### SOLUSYONLAR:

%1'LİK POTASYUM PERMANGANAT  
%2'LİK POTASYUM METABİSÜLFİT  
%2'LİK FERRIC AMONIUM SULPHATE  
%10'LUK NÖTRAL FORMALİN  
%0.2'LİK GOLD CHLORIDE  
%2.5'LUK SODYUM THIOSULFAT  
%10'LUK POTASYUM HİDROKSİT

#### AMONYAKLI GÜMÜŞ SOLUSYONU

%10'lük gümüş nitrat 10.0 cc.

%10'lük sodyum hidroksit 2.0 cc.

Gümüş nitrat ve sodyum hidroksit karıştırılır. Oluşan çökelti çözülmeye başlayınca dek damla damla amonyak eklenir. Sonra %10'lük sodyum hidroksit damla damla eklenip çalkalanır. Bu işlem çökeltinin tamamı çözülmüncüye kadar sürdürülür. Daha sonra eşit hacimde distile su eklenir ve süzülür.

TEKNİK:1- Kesitler sudan geçirilir.

2- %10'lük potasyum permanganatta 2 dakika okside edilir.

- 3- Suda yıkanır.
- 4- Potasyum metabisülfite ile 1 dakika soldurulur.
- 5- Suda uzun süre yıkanır.
- 6- %2'lik ferric amonyum sulfatta 1 dakika sensitize edilir.
- 7- Uzun süre akar suda yıkanır. Sonra iki ayrı distile sudan geçirilir.
- 8- Bir dakika süre ile amonyaklı gümüş solusyonunda doyurulur.
- 9- 5 saniye distile suda yıkanır.
- 10- 3 dakika %10'luk formalinde bekletilir.
- 11- Akar suda uzun süre yıkanır.
- 12- %2'lik gold chloride içinde 5-10 dakika tutulur.
- 13- Distile su ile yıkanır.
- 14- Potasyum metabisülfitte 1 dakika tutulur.
- 15- Distile su ile yıkanır.
- 16- 1-2 dakika %2.5'lük sodyum tiosulfatta tutulur.
- 17- Su ile yıkanır, dehidrate edilir, şeffaflaştırılır ve monte edilir.

SONUÇLAR: Retikülin ..... siyah  
Nukleuslar ..... grimsi  
Kollagen ..... koyu gri-pembe

## IV.PERIODIC ACID SCHIFF BOYASI [PAS] (81):

## SOLUSYONLAR:

20.5'LİK PERIODIC ACID  
MAYER'İN HEMATOKSİLENI  
SULFURIC ACID

%10'luk sodyum metabisülfid	6.0 cc.
1/N %10'luk hidroklorik asit	5.0 cc.
Distile su	100.0 cc.

## SCHIFF REAKTİFİ

Bazik fuksin	1.0 gr.
Sodyum metabisülfid	1.0 gr.
Distile su	200.0 cc.
1/N hidroklorik asit	20.0 cc.

Bazik fuksin 200 C'ye kadar kaynatılmış distile suda gözdeürölüp 50 C 'a kadar soğutulur. Süzölür ve hidroklorik asit eklenir. 25 C'a kadar soğutulur ve sodyum metabisülfid eklenir. Bu solusyon renksiz hale gelinceye kadar karanlıkta yaklaşık 2 gün bekletilir, sonra kullanılır.

TEKNİK:1- Kesitler sudan geçirilir.

2- 20.5'lik periodic acid ile 5 dakika boyanır.

3- Distile suda yıkanır.

4- Schiff solusyonu ile 15 dakika yıkanır.

5- Uç ayrı sulfurik asitte herbiri 2 dakika olmak üzere 6 dakika bekletilir.

6- Akar suda 5 dakika yıkanır.

7- 30 saniye süreyle Mayer'in hematoksisleninde boyanır.

8- 5 dakika akar suda yıkanır.

9- Dehidrate edilir, şeffaflaştırılır ve monte edilir.

SONUÇLAR: PAS pozitif materyal ..... kırmızımsı mor

Nukleuslar ..... koyu gri

## BULGULAR

Deney süresince tüm gruplarda yer alan deneklerin ağırlıkları her ay özel sıçan tartısında ölçüldü. Her grup için aylık ağırlık ortalamaları Tablo 2'de verilmiştir. Sonbahar aylarında hafif kilo kaybı ya da yaklaşık sabit kalması dışında tüm deneklerde her ay düzenli kilo artışı olduğu gözlemlendi.

Deneklerin postoperatif izlemlerinde önemli bir sorun çıkmadı. Sadece biri ADX, diğeri ise S-ADX grubunda yer alan iki denekte insizyonel herni gelişti.

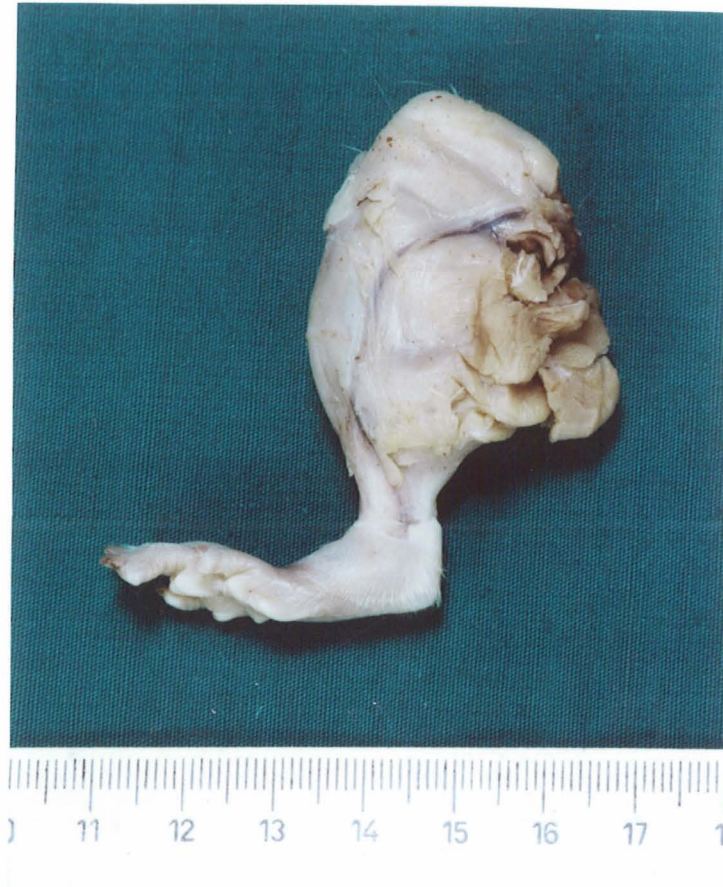
TABLO 2:Deneyde kullanılan deneklerin aylık ağırlık ortalamaları (gr.)

AYLAR	ADX GRUBU	S-ADX GRUBU	KONTROL GRUBU
Haziran	146.4	168.1	148.4
Temmuz	153.1	180.5	183.0
Ağustos	214.6	218.2	205.5
Eylül	259.0	228.4	230.8
Ekim	257.8	261.5	250.4
Kasım	305.3	280.4	266.8
Aralık	286.3	275.2	272.3
Ocak	306.2	319.1	296.4
Şubat	323.4	332.8	315.3

Enjeksiyon yerleri her ay incelendi.S-ADX grubunda yer alan 6 no'lu denekte son enjeksiyondan 3 ay sonra, 3 no'lu denekte ise 4 ay sonra sağ ayak bileği üzerinde arka tarafta sert, küçük, nodüler yapıda tümöral oluşum palpe edildi. Diğerlerinde sağ ayak bileği çapı sol ayak bileği çapına göre hafifçe artmış olarak gözlemlendi (Resim 1). ADX ve kontrol



Resim 1: S-ADX grubunda yer alan 1 no'lu deneye ait bacaklar. Üstte enjeksiyon yapılan sağ bacak, altta ise sol bacak görülmekte olup sağ ayak bileği çapı soldan 0.1 cm. fazladır.



grubundaki deneklerde ise enjeksiyon yapılan bacakta diğer bacağı oranla belirgin bir fark saptanmadı.

Deney sonuçlandırıldığında yapılan otopside deneklerin göğüs ve karın boşlukları açıldı. Makroskopik olarak organlarda herhangi bir patoloji gözlenmedi. Yalnız ADX grubunda yer alan deneklerin hepsinde karaciğer, sağ böbrek üst kutbuna yapışmış halde idi. Ayrıca ADX grubundaki 4 no'lu denegin batını içinde mide büyük kurvaturuna yapışık olarak 1x0,5x0,5 cm. boyutlarda düzgün kapsüllü, elastik kıvamda bir nodül mevcuttu. Deneyde kullanılan hiç bir denekte lenfadenopatiye rastlanmadı.

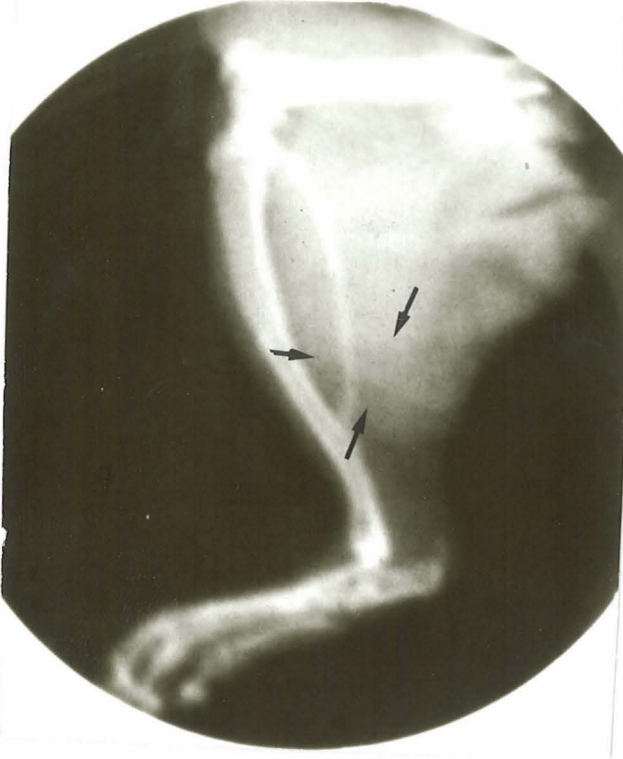
Yukarıda tanımlanan ADX grubunda yer alan 4 no'lu denekteki nodül ışık mikroskopunda incelendiğinde, polimorf nüveli lökositlerin çoğunluğunu oluşturduğu iltihabi hücrelerin, kalın fibrokollagen bir kapsül ile çevrelendiği görüldü.

Deney sonuçlandırıldığında sadece S-ADX grubunda yer alan 3 ve 6 no'lu deneklerde makroskopik olarak tümör saptandı. Tümörler 3 no'lu denekte enjeksiyon yerinin hemen proksimalinden başlayıp baldır kasları içine doğru büyüyen 1x1x0,5 cm. boyutlarında, 6 no'lu denekte ise ayak bileği eklemine 1 cm. proksimalinden başlayarak baldır kasları içine yerleşmiş 0,5 cm. lik bir alanda deriye fikse, 2,5x2x2 cm. boyutlarında idi.

Yapılan radyolojik incelemede sınırları pek iyi belirlenemeyen, yumuşak doku dansitesinde tümöral doku saptandı. 3 no'lu denegin enjeksiyon yapılan sağ bacağıının

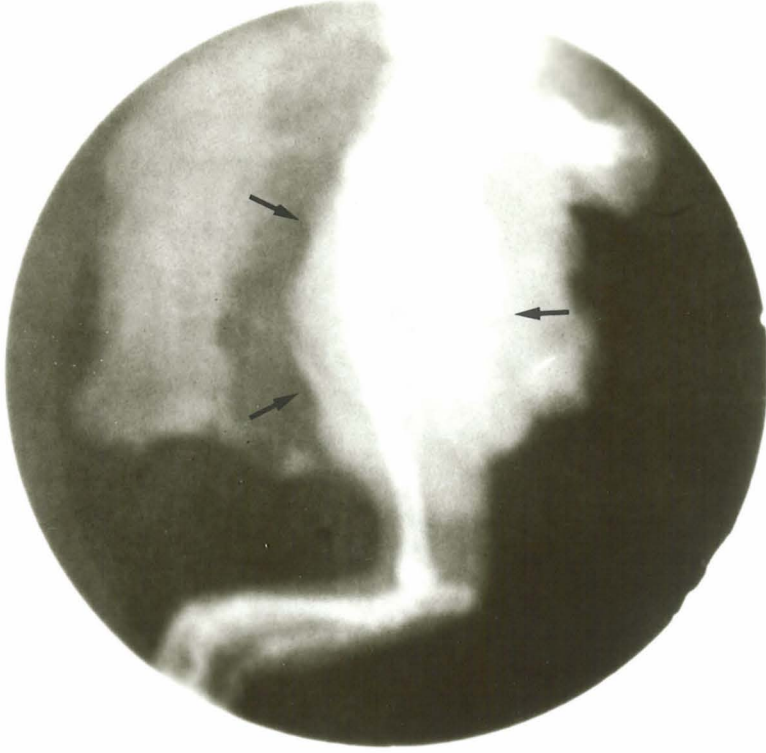


makroskopik görünümü ve radyografisi resim 2'de, 6 no'lu deneye ait olanlar ise resim 3'de verildi.



Resim 2: S-ADX grubunda yer alan 3 no'lu denegin enjeksiyon yapılan sag bacağının üstteki resimde radyografisi, alttaki resimde ise makroskopik görünümü izlenmektedir.

→ Tümörü belirlemektedir.



Resim 3: S-ADX grubunda yer alan 6 no'lu denegin enjeksiyon yapılan sag bacağı görülmektedir. Üstte radyografisi izlenmekte olup → tümörü göstermektedir. Altta makroskobik görünümü yer almakta olup → tümörün cilde fikse olduğu alanı göstermektedir.

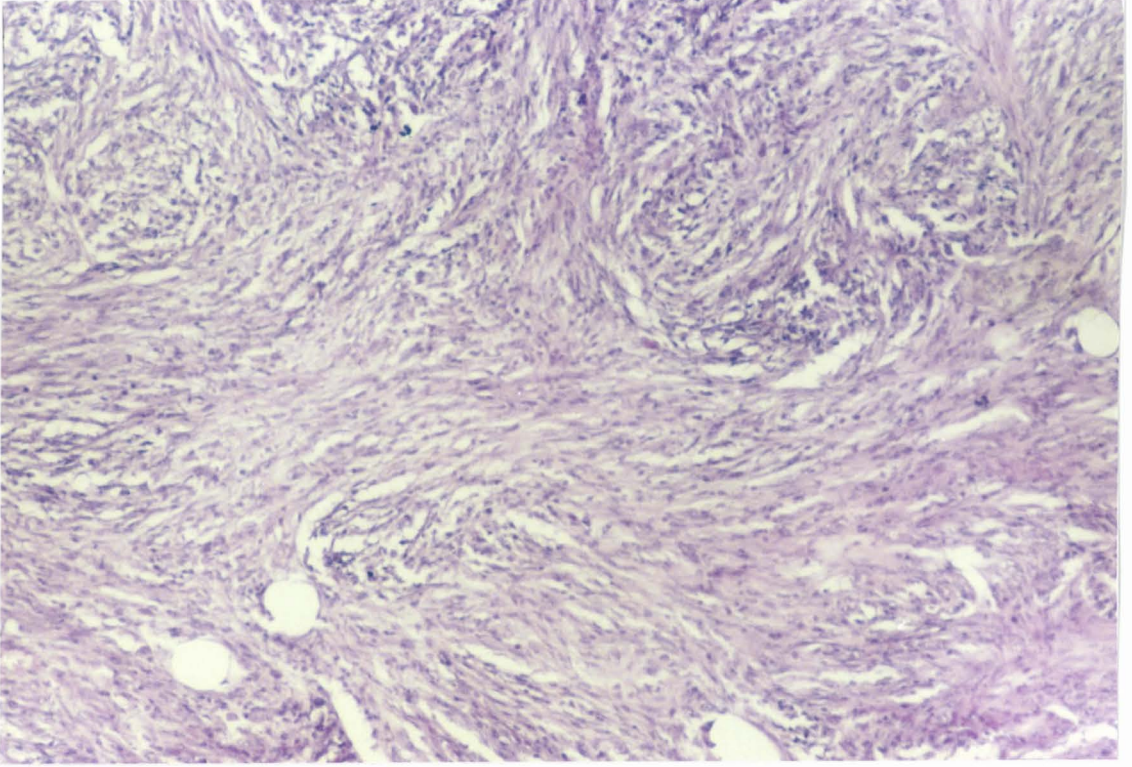


Makroskobik olarak bu tümörler çevre dokuya infiltrasyon ancak iyi sınırlı görünümde, multinodüler yapıda idi. Kesit yüzleri gri-beyaz ve solid olup nadir alanlarda çarpazlaşma gösteriyordu.

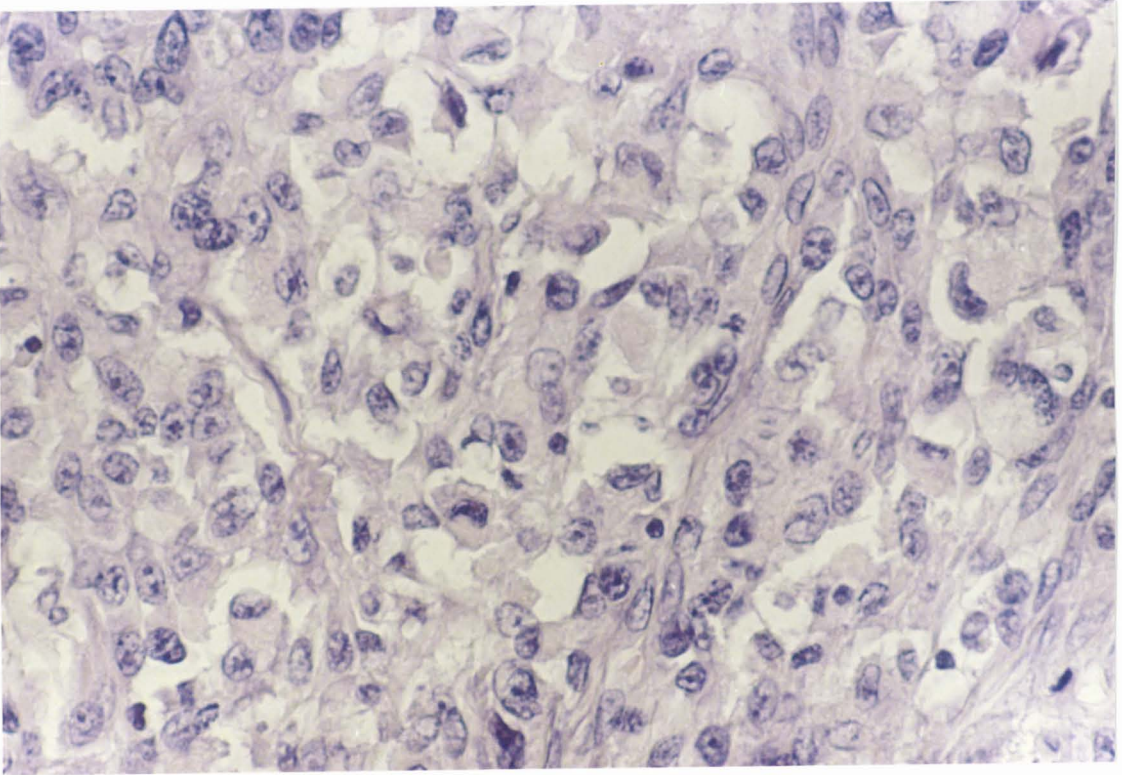
Mikroskobik olarak tümörler başlıca 3 elemandan oluşuyordu: 1-birbirini çarpazlayan ve yer yer storiform yapılar yapan demetler oluşturan fibroblastlar (Resim 4), 2- geniş köpüksü sitoplazma ve büyük veziküle çekirdek, belirgin eozinofilik küçük çekirdekçiğe sahip histiyositik hücreler (Resim 5), 3-bazıları histiyositik hücre çekirdekleri niteliğinde birkaç adet çekirdeğe, bazıları ise birden çok sayıda atipik, pleomorfik, büyük çekirdeklere sahip dev hücreler (Resim 6,7). Kesitlerde kanama ve nekroz alanlarına rastlanmadı. Mitotik aktivite 1-2 mitoz/10 büyük büyütme sahası olarak saptandı. Bazı kesitlerde tümöral dokunun yer yer kas lifleri arasına ilerlediği dikkati çekti (Resim 8).

Yapılan trikrom boyası ile hücreler arasında kollajenden zengin bağ dokusunun yer aldığı (Resim 9), retikülin boyası ile de hücrelerel lif ya da demetler arasında az miktarda retikülin lifi bulunduğu görüldü (Resim 10). PAS boyasında ise sitoplazmasında PAS pozitif granül içeren hücre sayısı çok azdı (Resim 11).

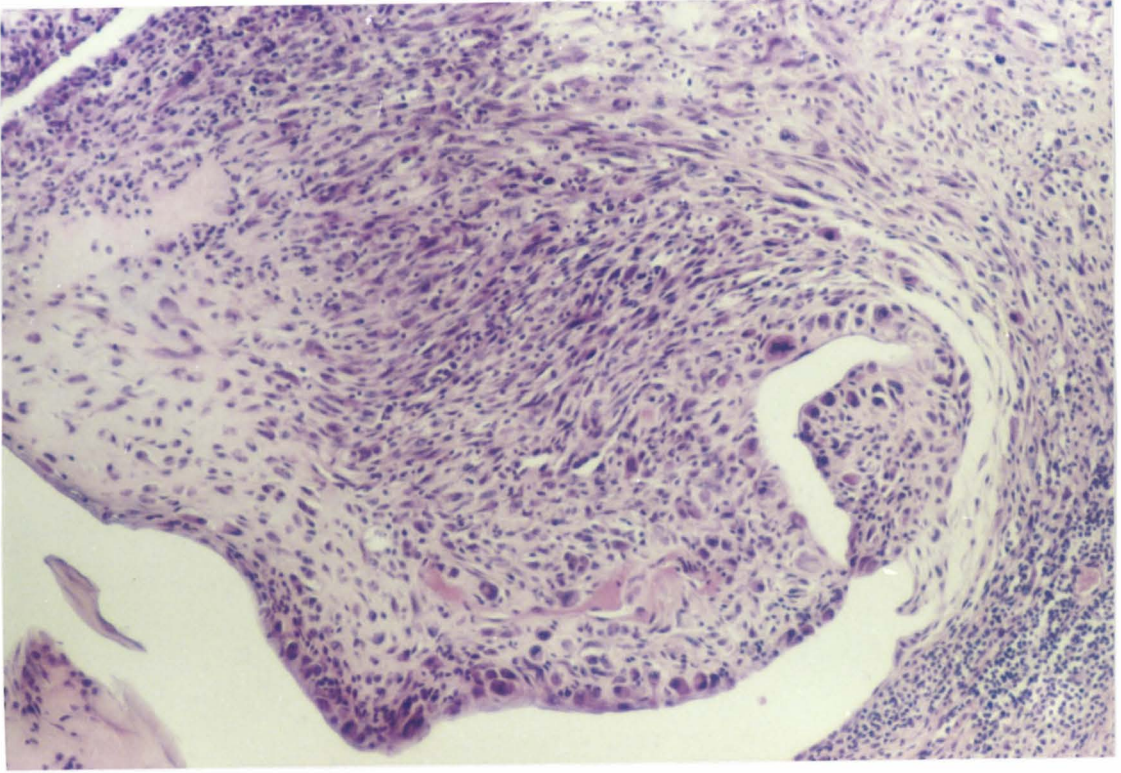
Makroskobik olarak tümör görülmeyen deneklerden S-ADX grubunda yer alanların tümünde, ADX grubunda yer alanların ise 6 tanesinde mikroskobik incelemede tümör saptandı. Bu tümörlerin kesitlerinde de yukarıda tanımlanan özellikler gözlemlendi.



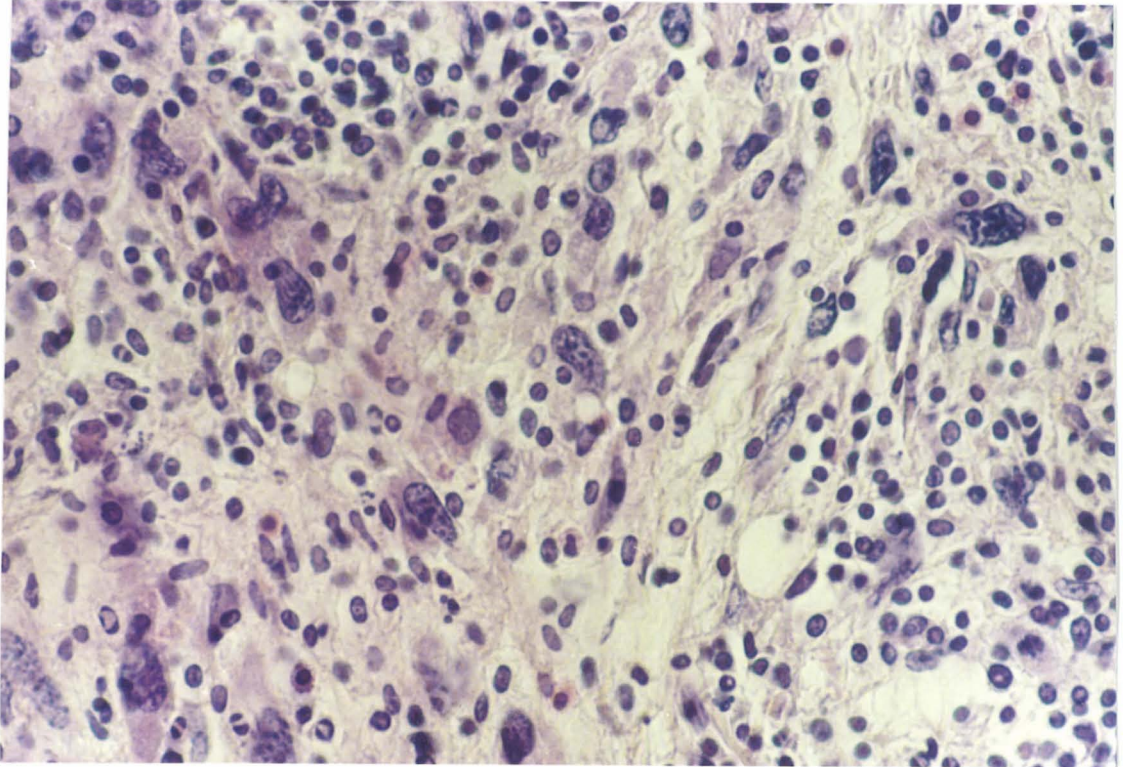
Resim 4: Tümöral dokuda değişik yönlerde uzanıp birbirini çarpıztıran ve storiform yapılar yapan kısa fasiküller halindeki fibroblastik hücreler. H.E. 10x3.2



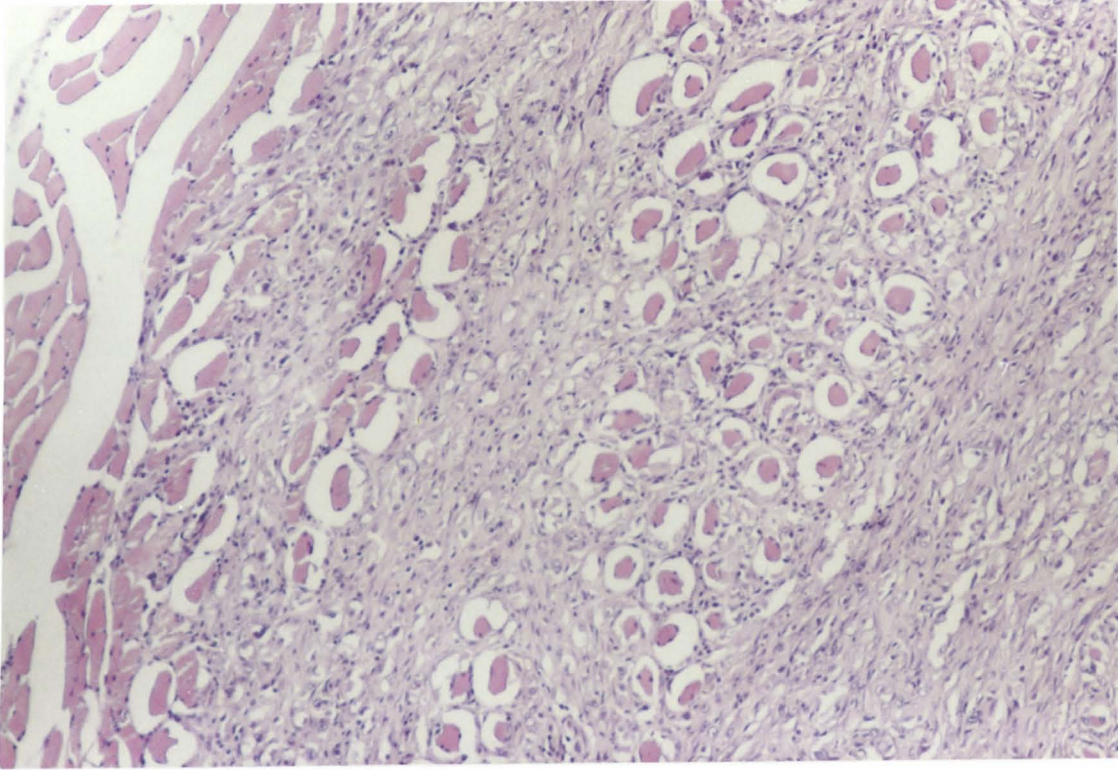
Resim 5: Tümöral dokuda yer alan büyük, veziküle çekirdek, belirgin çekirdekçik ve geniş, granüle sitoplazmaya sahip histiyositik hücreler. H.E. 40x3.2



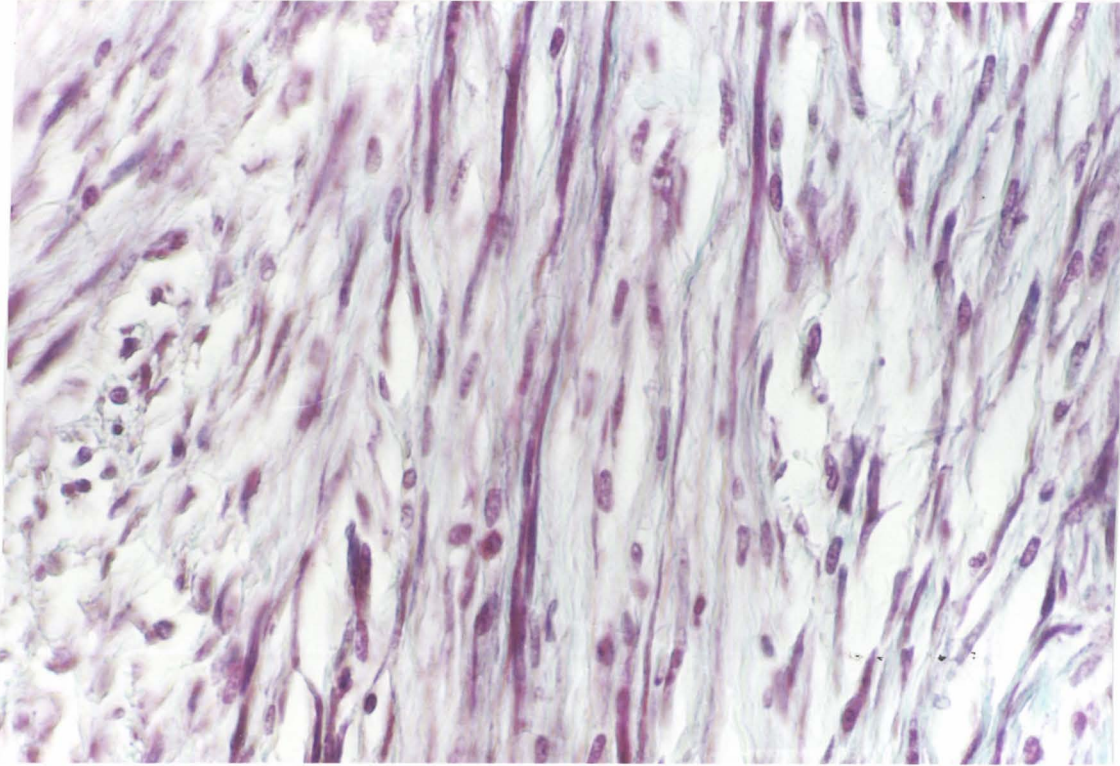
Resim 6: S-ADX grubunda gelişen tümörlerden birinde dev hücreleri içeren alan. H.E. 10X3.2



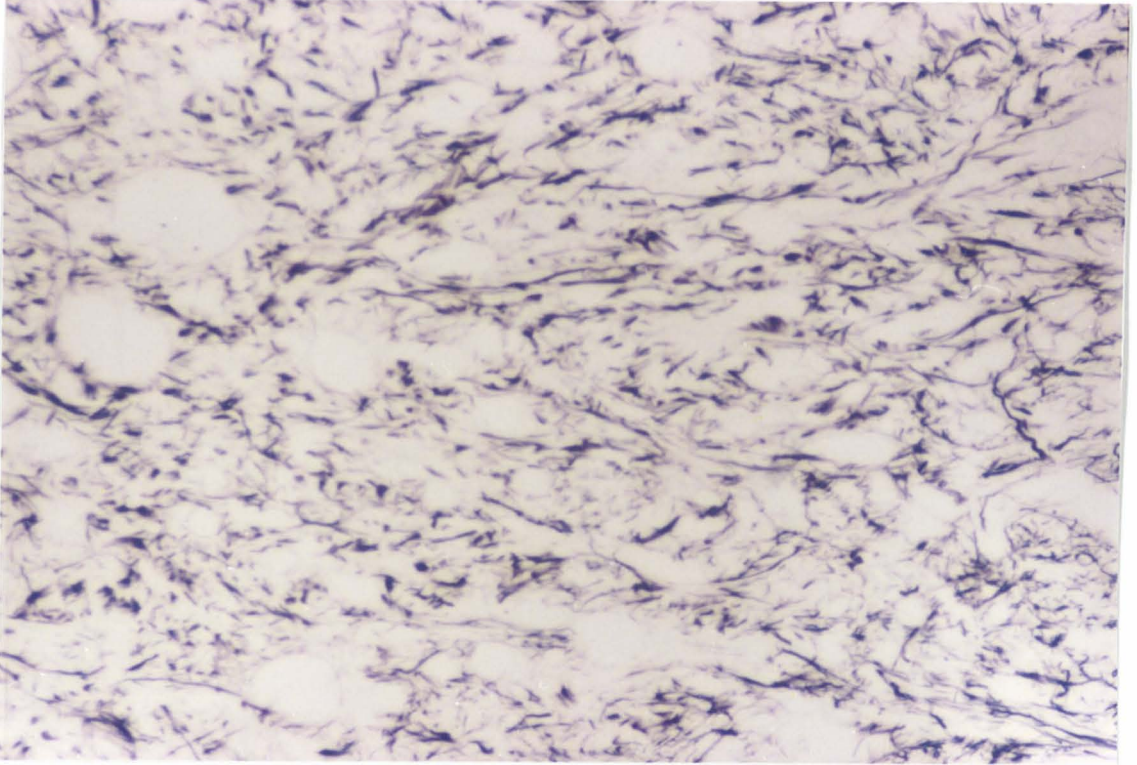
Resim 7: Tümöral dev hücrelerin büyük büyütme ile görünümü. H.E. 40X3.2



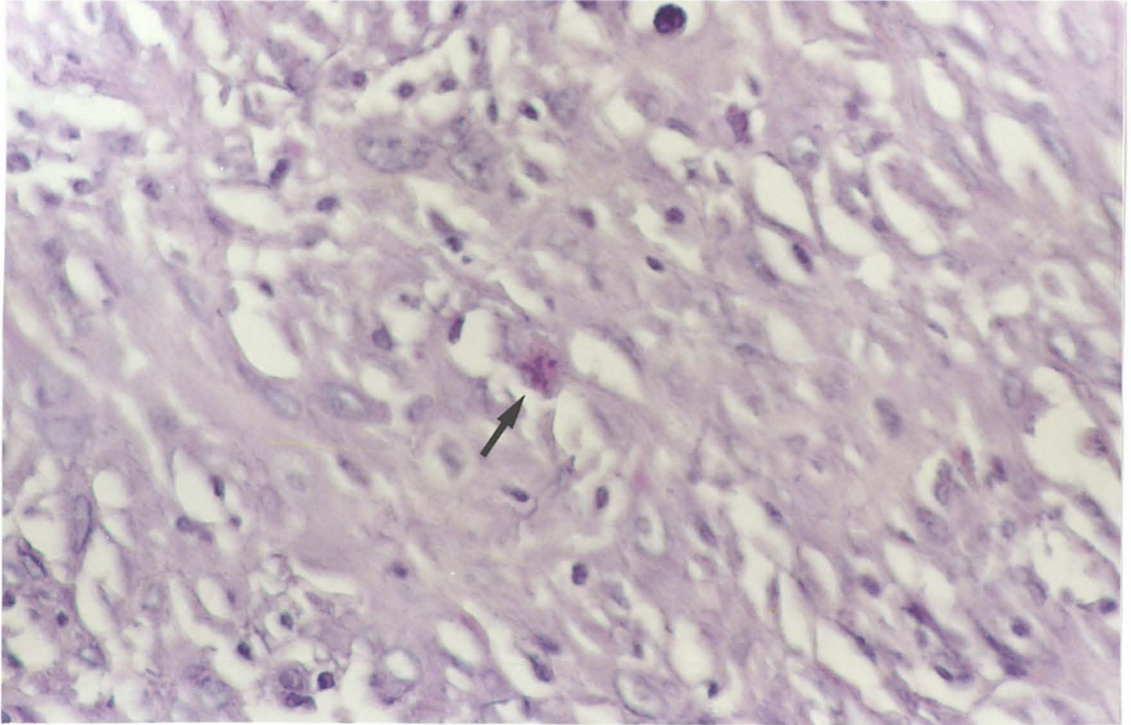
Resim 8: Tümöral hücrelerin kas lifleri arasına ilerleyerek yer yer onları çevreledikleri görülmektedir. H.E. 10x3.2



Resim 9: Tümöral doku stromasında yer alan kollagen lifler. Gomori'nin tek basamaklı trikrom boyası. 40x3.2



Resim 10: Tümöral dokunun retikülin çatısı.  
Gomori'nin retikülin boyası. 10X3.2



Resim 11: Tümöral dokuda intrasitoplazmik PAS pozitif granül  
içeren hücre sayısının çok az olduğu görülmektedir.  
PAS boyası. 40X3.2  
→ PAS pozitif granül içeren tümöral hücreyi göstermektedir.

Işık mikroskopunda elde ettiğimiz bu verilere dayanarak oluşan tümörleri malign transformasyon gösteren fibroz histiyositoma olarak yorumladık. Ancak bazıları multinükleer çok pleomorfik nükleuslara sahip hücreler içermesine rağmen mitotik aktivitenin fazla olmaması, kanama ve nekroz alanlarının görülmemesi nedeni ile kesin olarak benign ve malign ayrımı yapmaktan kaçındık.

Mikroskopik incelemede belirlenen tümörlerin kaç adet büyük büyütme sahası kapladığı Tablo 3'te verilmiştir. Böylece boyutları hakkında fikir edinilebilen tümörler 15 büyük büyütme sahasından az ve çok alan kaplayanlar olmak üzere iki gruba ayrıldı. S-ADX grubunda 7 adet, ADX grubunda 5 adet olmak üzere toplam 12 hayvanda gelişen tümörler 15 büyük büyütme sahasından daha az yer kaplıyordu. Onbeş büyük büyütme sahasından daha fazla sahada tümörün izlendiği denek sayısı ise S-ADX grubunda 3 , ADX grubunda 1 adet olmak üzere toplam 4 adet idi.

TABLO 3: Mikroskopik incelemede saptanan tümörlerin kapladıkları büyük büyütme saha sayısı

DENEK NO	ADX GRUBU	S-ADX GRUBU
1	2	7
2	4	11
3	17	182
4	-	5
5	-	10
6	4	328
7	-	4
8	-	3
9	2	12
10	3	43



S-ADX ve ADX grubunda gelişen tümör boyutları ki-kare testi ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark olmadığı saptandı ( $p > 0.05$ ; Tablo 4).

TABLO 4: Mikroskopik olarak saptanan tümörlerin boyutlarına göre dağılımı

	15 BB SAHASI >	15 BB SAHASI <	TOPLAM
ADX	5	1	6
S-ADX	7	3	10
TOPLAM	12	4	16

Gerek makroskopik gerekse mikroskopik olarak saptanan tümörler göz önüne alındığında S-ADX grubundaki deneklerin tümünde ( $10/10 = \%100$ ) tümör gelişti. ADX grubundaki deneklerin ise 6 tanesinde ( $6/10 = \%60$ ) tümör geliştiği saptandı. Toplam 20 deneye DMBA enjekte edildiği ve bunların 16'sında tümör geliştiği göz önüne alındığında tümör insidansı  $16/20 = \%80$  olarak belirlendi.

S-ADX ve kontrol grubundaki deneklere ait her iki adrenal gland ağırlıkları ve ortalamaları Tablo 5'te verilmiştir.

İstatistiksel çalışma yapmak üzere her bir denek için bu ağırlıkların ortalaması alınıp o denegin vücut ağırlığına bölündü. "Adrenal gland ağırlık ortalaması/vücut ağırlığı" oranları Tablo 6'da verilmiştir. İki grup bu açıdan karşılaştırıldığında S-ADX grubunda adrenal gland ağırlığının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda fazla olduğu gözlenmiştir ( $p < 0.01$ ; Tablo 7).

TABLO 5: Adrenal gland ağırlıkları ve ortalamaları (gr.)

DENEK NO	KONTROL GRUBU			S-ADX GRUBU		
	SAG	SOL	ORTALAMA	SAG	SOL	ORTALAMA
1	0.024	0.024	0.024	0.023	0.024	0.024
2	0.025	0.023	0.024	0.036	0.032	0.034
3	0.018	0.020	0.019	0.030	0.031	0.031
4	0.026	0.022	0.024	0.035	0.036	0.036
5	0.031	0.028	0.030	0.034	0.034	0.034
6	0.023	0.023	0.023	0.037	0.036	0.037
7	0.021	0.027	0.024	0.034	0.034	0.034
8	0.022	0.024	0.023	0.032	0.031	0.032
9	0.023	0.024	0.024	0.031	0.035	0.033
10	0.026	0.023	0.024	0.032	0.033	0.033

TABLO 6: Adrenal gland ağırlığı ortalaması/vücut ağırlığı oranları

DENEK NO	VÜCUT AĞIRLIĞI (W) (gr.)		ADRENAL GLAND AĞIRLIK ORTALAMASI (A) (gr.)		W/A (gr.)x1000	
	KONTROL	S-ADX	KONTROL	S-ADX	KONTROL	S-ADX
1	314	364	0.024	0.024	0.0764	0.0659
2	332	340	0.024	0.034	0.0722	0.1000
3	370	354	0.019	0.031	0.0513	0.0875
4	335	298	0.024	0.037	0.0716	0.1208
5	283	324	0.030	0.034	0.1060	0.1049
6	315	322	0.023	0.037	0.0730	0.1149
7	302	322	0.024	0.034	0.0794	0.1055
8	307	348	0.023	0.032	0.0749	0.0919
9	302	330	0.024	0.033	0.0794	0.1000
10	293	326	0.024	0.033	0.0819	0.1012

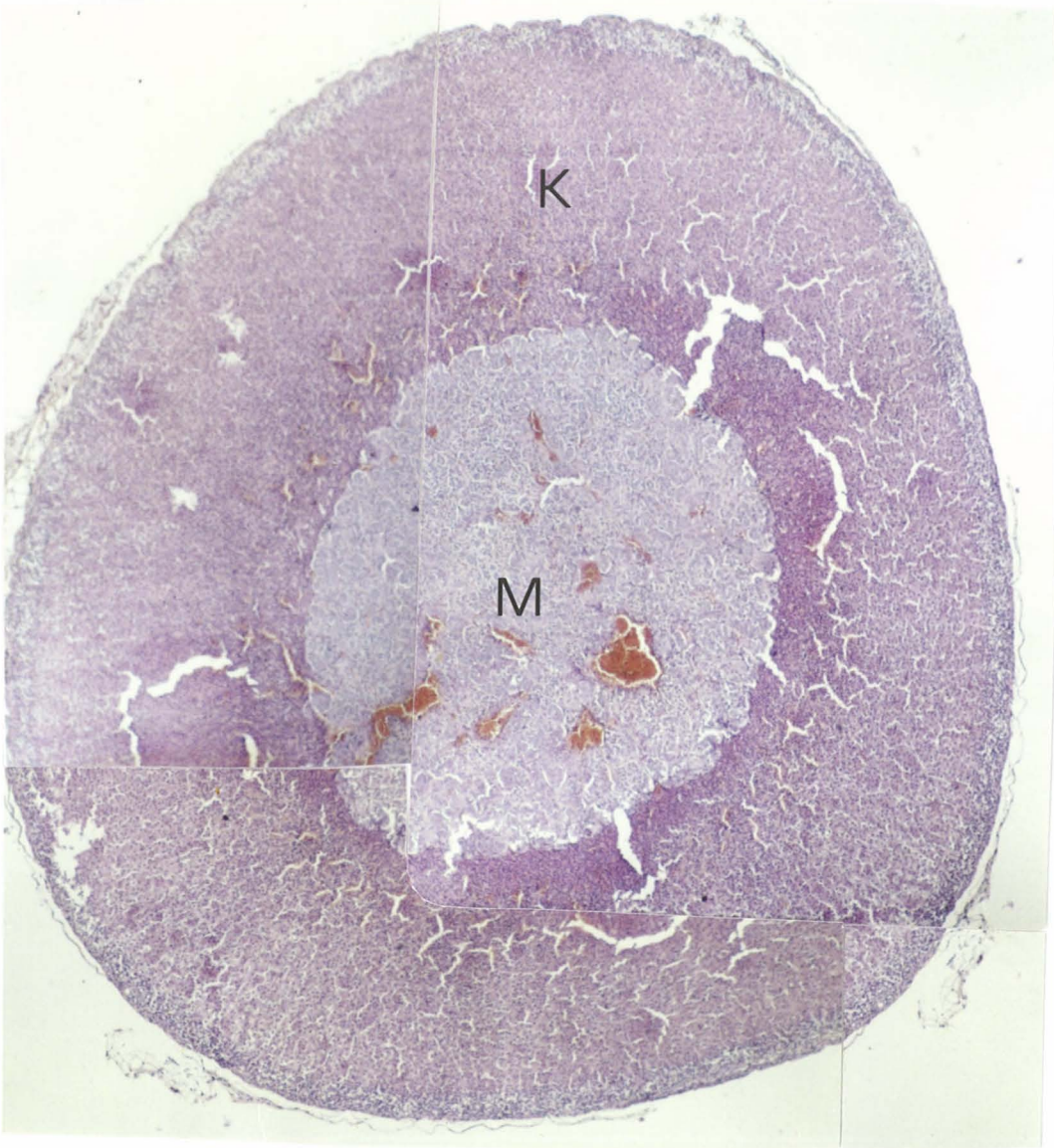
TABLO 7: TABLO 6'daki değerlerin istatistikleri

GRUP ADI	N	ORTALAMA	ST. SAPMA	ST. HATA
KONTROL	10	0.00007664	0.00001423	0.00000450
S-ADX	10	0.00009902	0.00001515	0.00000479

t= -3.43 ; SD= 18 ; p<0.01

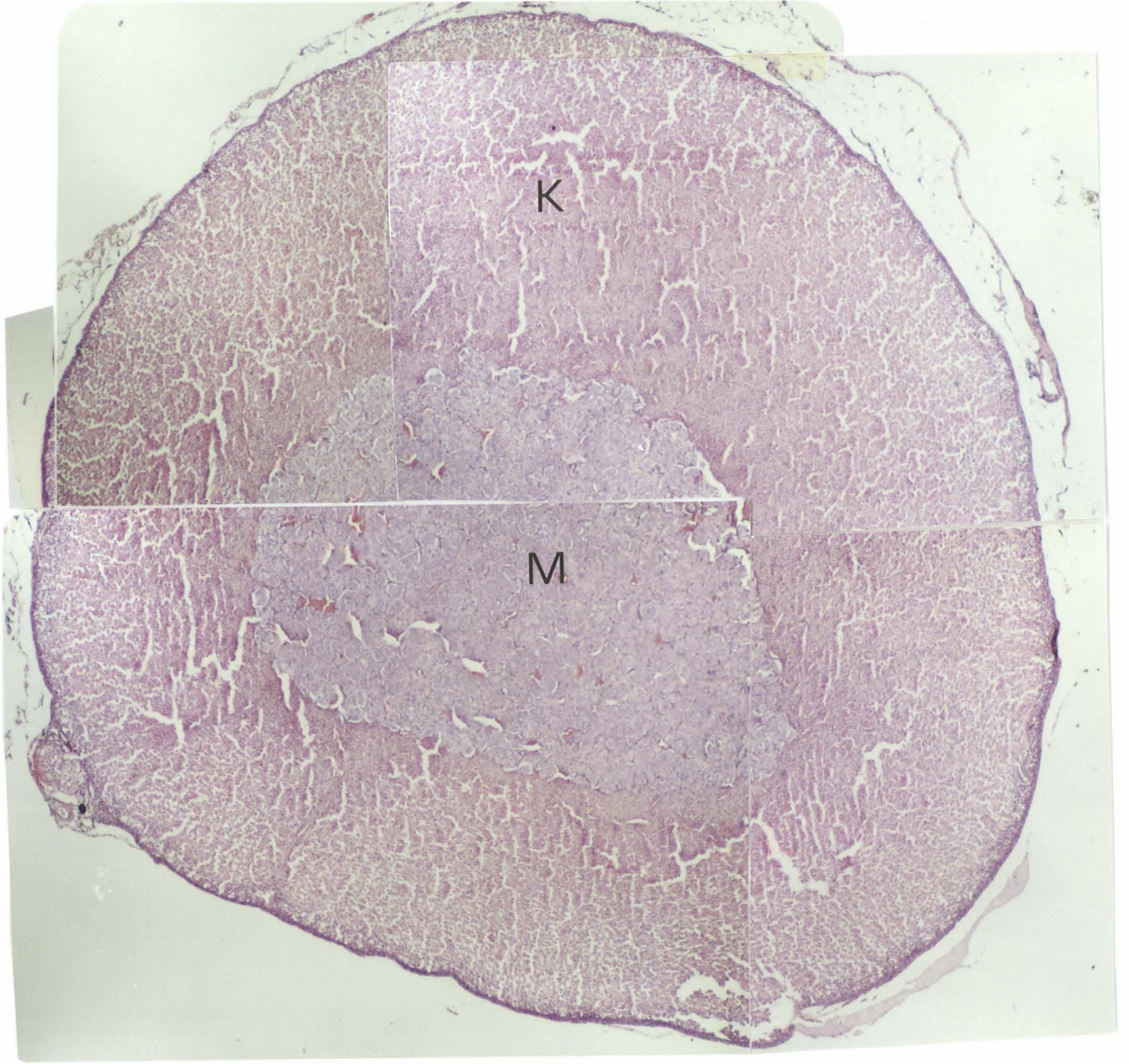
YORUM:Önemli düzeyde farklı.

Bu adrenal glandlardan hazırlanan kesitlerde adrenal gland çaplarının S-ADX grubunda kontrol grubuna oranla artmış olduğu izlendi (Resim 12-13).



Resim 12: Kontrol grubuna ait adrenal gland kesiti görülmektedir. H.E. 4x3.2

K : Korteks                      M : Medulla



Resim 13: S-ADX grubuna ait adrenal gland kesitlerinde gland çapının kontrol grubuna göre artmış olduğu görülmektedir.  
H.E. 4X3.2      K : Korteks      M : Medulla

İstatistiksel çalışma için S-ADX ve kontrol grubundaki deneklerin her birine ait her iki adrenal gland kesitlerinde gland çapları cm. cinsinden ölçülüp en büyük çap değerlendirilmeye alındı (Tablo 8). Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.01$ ; Tablo 9).

TABLO 8: Adrenal gland kesitlerinde gözlenen en büyük çaplar (cm.)

DENEK NO	S-ADX	KONTROL
1	0.325	0.275
2	0.233	0.275
3	0.325	0.250
4	0.325	0.275
5	0.310	0.300
6	0.350	0.200
7	0.250	0.250
8	0.325	0.300
9	0.350	0.230
10	0.300	0.200

TABLO 9: Tablo 8'in istatistik değerlendirimi

GRUP ADI	N	ORTALAMA	ST.SAPMA	ST.HATA
S-ADX	10	0.309	0.039	0.012
KONTROL	10	0.256	0.036	0.012

$t = 3.19$  :  $SD = 18$  :  $P < 0.01$

YORUM: Önemli düzeyde farklı.

En büyük çapı saptadığımız kesitlerde korteks ve medulla kalınlığı da cm. cinsinden ölçülerek "korteks kalınlığı/medulla kalınlığı" oranı hesaplandı (Tablo 10). Bu oranlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde S-ADX

grubunda korteksin kontrol grubuna göre daha geniş olduğu

saptandı ( $p < 0.01$ ; Tablo 11).

TABLO 10: Adrenal glandların korteks ve medulla kalınlıkları (cm.)

DENEK NO	KORTEKS KALINLIĞI (K)		MEDULLA KALINLIĞI (M)		K/M (cm.)	
	S-ADX	KONTROL	S-ADX	KONTROL	S-ADX	KONTROL
1	0.175	0.150	0.150	0.125	1.116	1.200
2	0.116	0.150	0.117	0.125	0.991	1.200
3	0.150	0.050	0.175	0.200	0.857	0.250
4	0.200	0.125	0.125	0.150	1.600	0.833
5	0.200	0.150	0.110	0.150	1.818	1.000
6	0.200	0.100	0.150	0.100	1.333	1.000
7	0.150	0.110	0.100	0.140	1.500	0.789
8	0.200	0.150	0.125	0.150	1.600	1.000
9	0.225	0.110	0.125	0.120	1.800	0.916
10	0.160	0.100	0.140	0.100	1.143	1.000

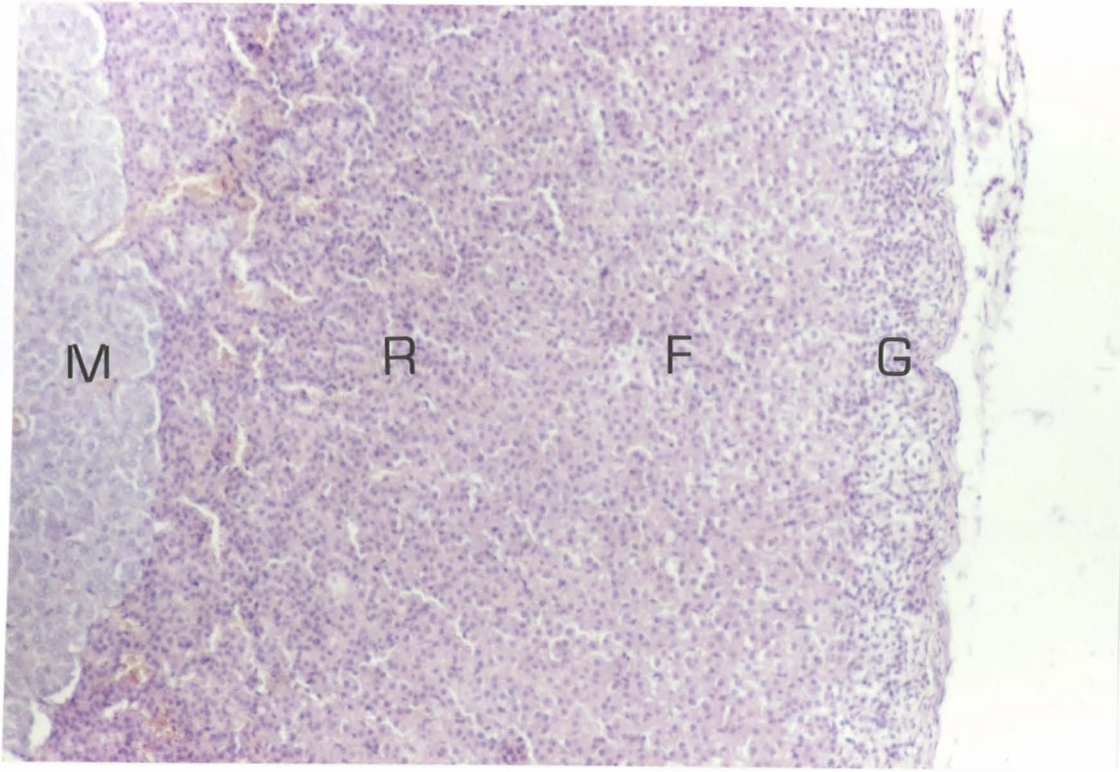
TABLO 11: Tablo 10'daki verilerin istatistikleri

GRUP ADI	N	ORTALAMA	ST.SAPMA	ST.HATA
S-ADX	10	1.381	0.335	0.116
KONTROL	10	0.919	0.270	0.085

$t = 3.42$  :  $SD = 18$  :  $p < 0.01$

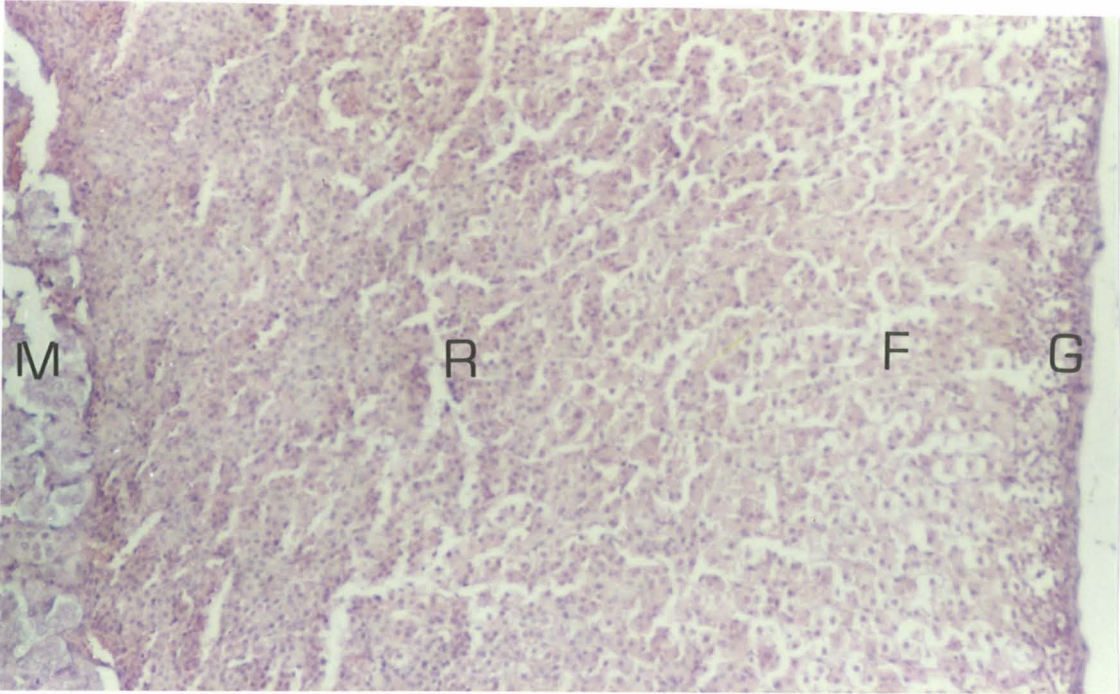
YORUM: Önemli düzeyde farklı.

Mikroskopik incelemede S-ADX grubuna ait adrenal gland kesitlerinde kortekste zona glomerulozanın çok incelmış olduğu dikkati çekti (Resim 14-15). Böylece kortikal hipertrofiden zona fasikülata ve zona retikularisin sorumlu olduğu düşünüldü.



Resim 14: Kontrol grubuna ait adrenal gland kesitinin daha büyük büyütme ile görünümü. H.E. 10x3.2

G : Zona glomeruloza                      F : Zona fasikülata  
R : Zona retikülaris                      M : Medulla



Resim 15: S-ADX grubuna ait adrenal gland kesitlerinde kontrol grubuna göre korteksin kalınlaştığı ve zona glomerulozanın inceldiği görülmektedir. H.E. 10x3.2

G : Zona glomeruloza                      F : Zona fasikülata  
R : Zona retikülaris                      M : Medulla

Deneyde kullanılan deneklerin timus ağırlıkları ve "timus ağırlığı/vücut ağırlığı" oranları Tablo 12'de verilmiştir. İstatistiksel değerlendirimi ise Tablo 13'te yer almakta olup her üç grup kendi arasında karşılaştırıldığında aralarında önemli düzeyde fark bulunmuştur ( $F(2,27)=3.59$ ;  $p<0.05$ ). "Timus ağırlığı oranı/vücut ağırlığı" oranının ortalaması kontrol grubunda en yüksek, ADX grubunda düşük, S-ADX grubunda ise en düşük değerdeydi.

TABLO 12: Deneklerin "timus ağırlıkları/vücut ağırlıkları" oranları (gr.)

DENEK NO	VÜCUT AĞIRLIĞI W (gr.)			TIMUS AĞIRLIĞI T (gr.)			W/T (gr.)x1000		
	S-ADX	ADX	KONTROL	S-ADX	ADX	KONTROL	S-ADX	ADX	KONTROL
1	364	360	314	0.014	0.106	0.196	0.038	0.294	0.624
2	340	318	332	0.119	0.191	0.168	0.350	0.601	0.506
3	354	352	370	0.073	0.109	0.133	0.206	0.310	0.359
4	298	340	335	0.159	0.124	0.194	0.534	0.354	0.579
5	324	338	283	0.144	0.174	0.153	0.444	0.515	0.541
6	322	342	315	0.172	0.220	0.235	0.534	0.643	0.746
7	322	300	302	0.166	0.214	0.193	0.516	0.713	0.639
8	348	328	307	0.112	0.171	0.143	0.322	0.521	0.466
9	330	248	302	0.127	0.212	0.212	0.384	0.855	0.702
10	326	308	293	0.139	0.197	0.120	0.426	0.640	0.410



TABLO 13:Deneklerin "timus ağırlığı/vücut ağırlığı" oranı yönünden karşılaştırılması

GRUP ADI	N	ORTALAMA (x100)	ST.SAPMA (x100)	ST.HATA (x100)	KARŞILASTIRMA
S-ADX	10	0.0375410	0.0157573	0.0049829	A
ADX	10	0.0515760	0.0188305	0.0059547	A B
KONTROL	10	0.0557200	0.0124564	0.0039390	B

GRUPLARIN ÖNEMLİLİĞİ:

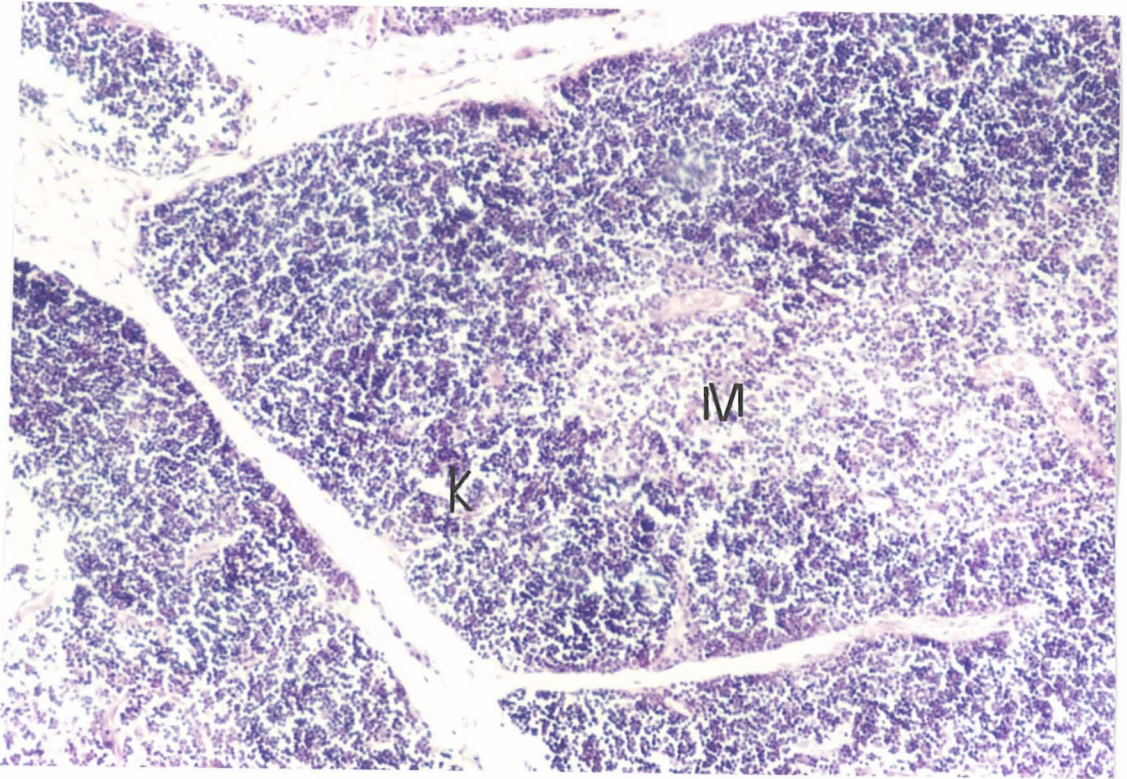
$F(2,27) = 3.59$  :  $p < 0.05$

YORUM:Grup ortalamaları arasında önemli fark vardır.

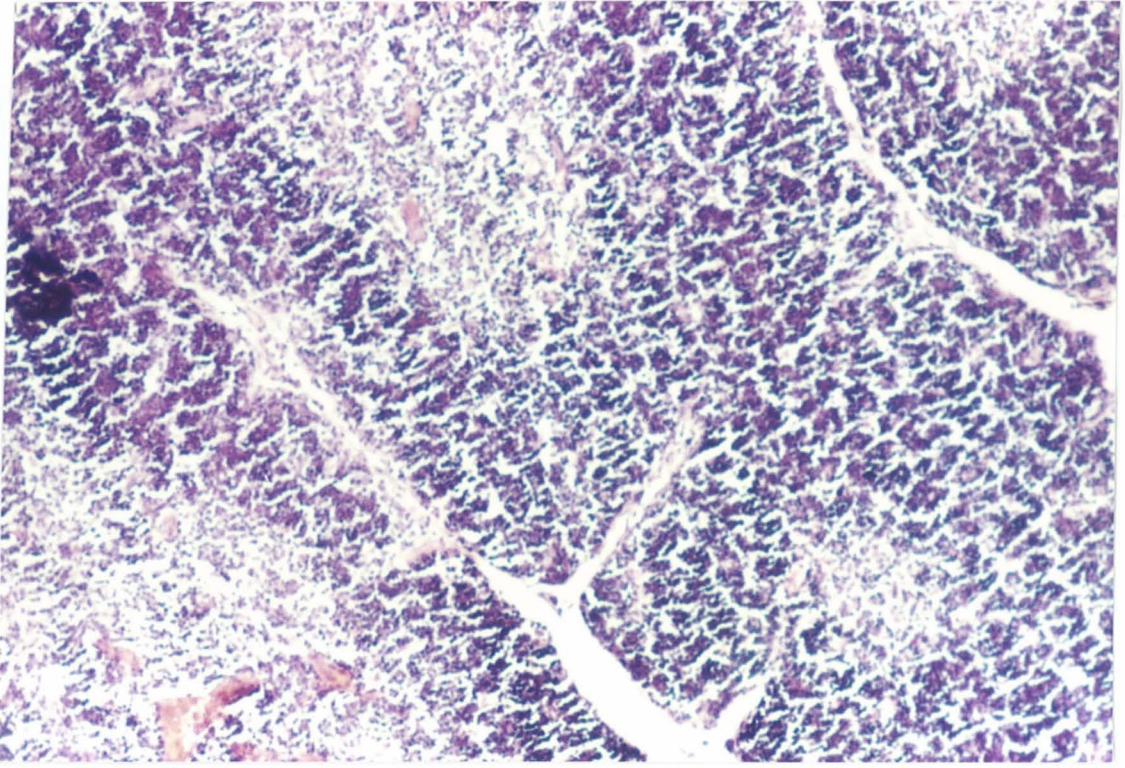
GENEL ST.HATA= 0.00005026732

\*\*\* S-ADX grubu ile kontrol grubu arasında ileri derecede fark vardır. S-ADX ile ADX ve ADX grubu ile kontrol grubu arasında önemli fark vardır.

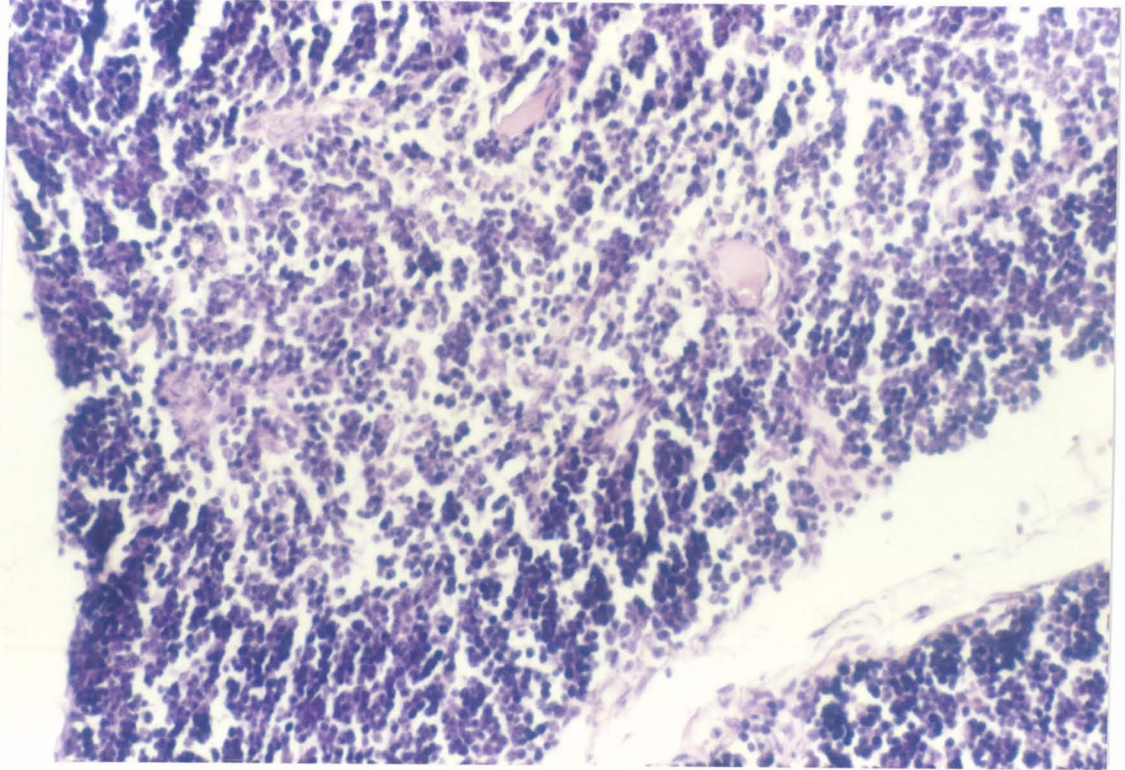
Timuslardan hazırlanan kesitler ışık mikroskopunda incelendiğinde kontrol grubu ile ADX grubuna ait kesitler arasında fark gözlenmedi (Resim 16,17,18). S-ADX grubuna ait timus kesitlerinin çoğunda ise kortekste fagositik aktivite gösteren makrofajlar görüldü (Resim 19,20).



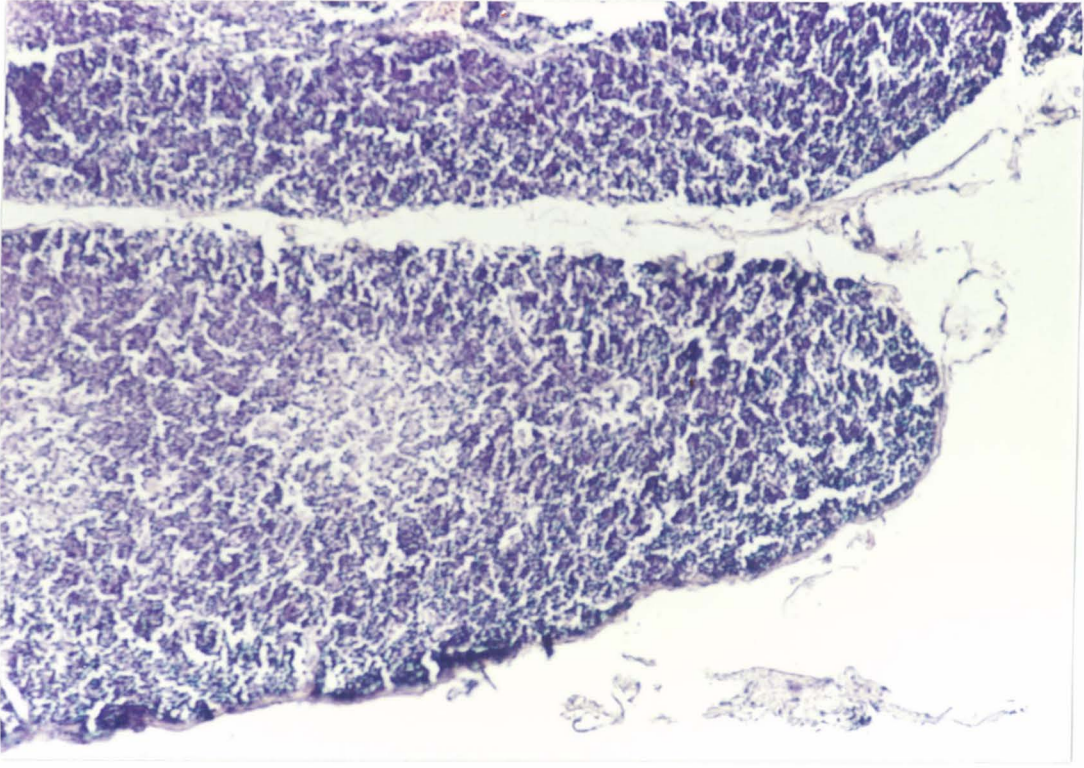
Resim 16: Kontrol grubuna ait timus kesiti. H.E. 4x3.2  
K : Korteks                      M : Medulla



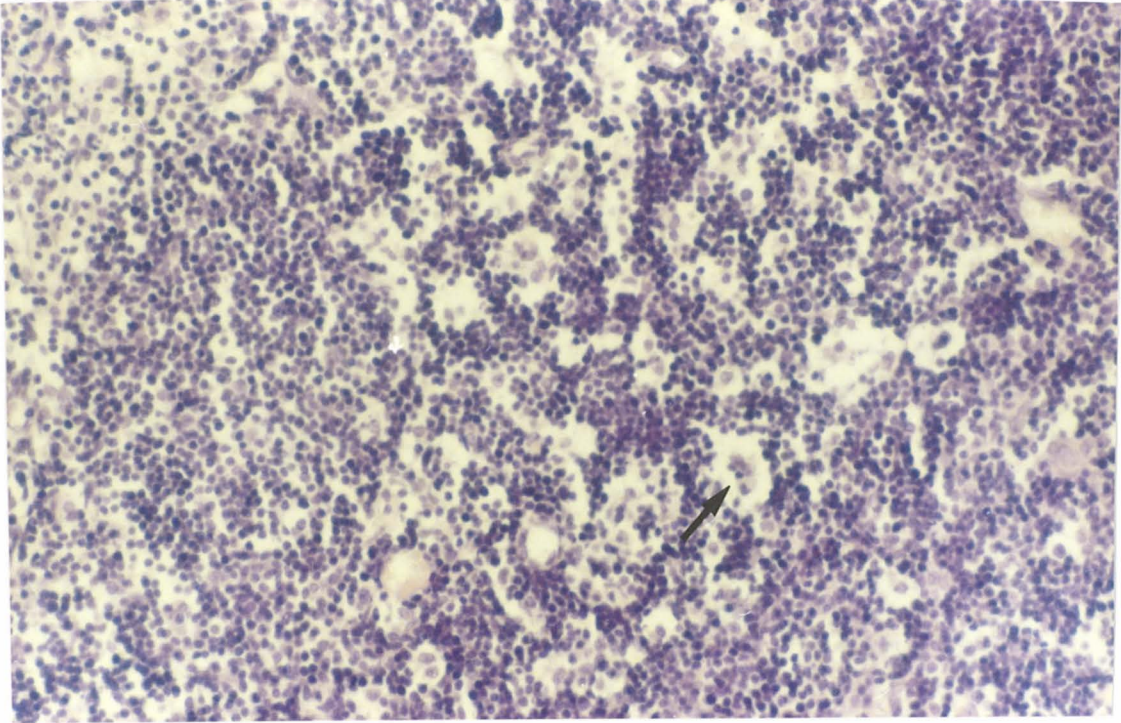
Resim 17: ADX grubundaki timuslara ait bir kesit izlenmektedir. Kontrol grubu ile bu grup arasında timusların histolojik görünümü açısından bir fark gözlenememiştir. H.E. 10x3.2



Resim 18: Yukarıda izlenen timus kesitinin daha büyük büyütme ile görünümü. H.E. 20x3.2



Resim 19: S-ADX grubuna ait timus kesitinde kortekste fagositik aktivite gösteren makrofajlar görülmektedir. H.E. 10x3.2



Resim 20: Yukarıdaki timus kesitinin daha büyük büyütme ile görünümü. H.E. 20x3.2  
→ Fagositik aktivite gösteren makrofajları göstermektedir.

## TARTIŞMA

Bir kimyasal karsinojen organizmaya girdikten sonra tümörün gelişebilmesi için belli bir sürenin geçmesi gerekmektedir. Latent devre adı verilen bu süre, kullanılan karsinojenin tümör oluşturma potansiyaline, dozuna, verildiği canlı türüne ve verildiği bölgeye göre değişir. İnsanlarda bu sürenin 5-30 yıl olduğu düşünülmektedir. Oldukça kolay tümör oluşturulabilen laboratuvar kemiricilerinde ise farklı teknik ve değişik kimyasal karsinojenlerle verilen bu süre 10-99 hafta arasında değişmektedir (39,41,45,84-86).

DMBA en potent kimyasal karsinojenlerden biri olup bu madde ile yapılan çalışmalarda en erken 12 haftada en geç ise 50 haftada tümör geliştiği bildirilmiştir. Ortalama olarak verilen latent devre 27-35 haftadır (39,40,84,86).

Çalışmamızda DMBA'nin parafin yağı içindeki %2'lik solusyonu kullanılmış ve bu süre göz önüne alınarak ilk enjeksiyondan 40 hafta sonra deneye son verilmiştir.

DMBA, diğer tüm polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi lokal olarak etkisini göstermekte ve deriye sürüldüğünde ya da bir organ içine enjekte edildiğinde kanser, subkutan veya intraartiküler verildiğinde ise sarkom oluşturmaktadır.

DMBA'nin subkutan ya da intraartiküler olarak enjekte edildiği çeşitli çalışmalarda gelişen tümörler fibrosarkom, sinoviyal sarkom ve malign fibroz histiyositom olarak rapor edilmiştir (39,40). Çalışmamızda enjeksiyonları intraartiküler olarak yaptık ve gelişen tümörlerin

histopatolojik özelliklerini malign transformasyon gösteren fibroz histiyositom olarak yorumladık.

Kullanılan kimyasal karsinojenin dozu ile gelişen tümör insidansı arasında pozitif bir korelasyon olduğu bilinmektedir. Karsinojenin verildiği canlı türü ve verilme biçimi de bu konuda etken olabilir (1-4,40).

Sakamoto<sup>40</sup> albino Wistar cinsi, 7 haftalık, erkek sıçanlara 9,10-dimetil 1,2-benzantrasenin parafin yağı içindeki %2'lik solusyonundan 0.1 cc. intraartiküler olarak enjekte etmiştir. Enjeksiyonları 1 ay ara ile 3 kez yaptığı 56 denekten 49'unda (%87.5) tümör geliştiğini gözlemlemiştir.

Bizim çalışmamızda da DMBA'nin aynı solusyonu kullanılmış ve ADX ya da S-ADX yapılan aynı cins sıçanlara 1 ay ara ile 3 kez 0.2 cc. intraartiküler olarak enjekte edilmiştir. S-ADX grubunda yer alan deneklerin tümünde (10/10=%100) tümör gelişmiştir. Bu gruptaki tümör insidansının Sakamoto'nun çalışmasına göre yüksek olması, çalışmamızda uyguladığımız karsinojen dozunun daha fazla olması ile açıklanabilir. ADX grubunda gelişen tümör insidansının düşük olması (6/10=%60) ise adrenal glandın çıkarılmasına bağlı olabilir.

Nitekim yapılan pek çok deneysel ve klinik çalışmada ADX'nin tümör gelişimini yavaşlattığı gösterilmiştir. Ayrıca konanın direncinin düşük olmasının ve stress yaratan çeşitli faktörlerin de tümör gelişimini arttırdığı bildirilmiştir (23-30,51).

Slawikowski<sup>25</sup>, "Walker karsinosarkomu 256" tümör

hücrelerini inokule ettiği sıçanların bir kısmına ADX bir kısmına S-ADX yaparak ADX ile tümör insidansı ve tümör büyüme hızı arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. ADX yaptığı grupta S-ADX grubuna oranla tümör insidansını yüksek bulmuştur. Ancak tümöral hücre inokulasyonunu ADX operasyonundan hemen sonra, 48 saat sonra ve 96 saat sonra olmak üzere 3 değişik zamanda yaptığında insidans değerlerinin farklı olduğunu saptamıştır. Operasyon ile inokulasyon zamanı arasındaki süre uzadıkça, insidansın azaldığını gözlemiştir.

Çalışmamızda operasyon ile ilk enjeksiyon arasındaki bekleme süresi 7 gündür ve latent devre de gözönüne alındığında operasyon ile tümör gelişimi arasındaki süre çok daha uzamıştır. Dolayısıyla ADX grubunda saptadığımız düşük insidans, operasyon ile enjeksiyon zamanı arasındaki sürenin uzun tutulmasına bağlı olarak Slawikowski'nin çalışması ile uyum göstermektedir.

Slawikowski<sup>25</sup> ayrıca tümör büyüme hızının ADX grubunda S-ADX grubuna oranla daha yavaş olduğunu da gözlemlemiştir.

Bishoff ve ark.,<sup>23</sup> "R10 sıçan sarkomu" ve "Walker karsinosarkomu 256" inokule ettikleri hayvanların bir kısmına ADX yaparak tümör gelişim hızını araştırmışlardır. ADX grubunda tümör gelişim hızının kontrol grubundan daha düşük olduğunu saptamışlardır. Ancak bu farkı istatistiksel olarak anlamlı bulamayıp, bu durumu, ADX den sonra yaşatılabilen hayvan sayısının tümörün davranışı hakkında yeterli bilgi edinilmesine olanak tanımayacak kadar az olmasına bağlamışlardır.

Nagasawa ve ark.<sup>74</sup> ise DMBA ile sıçanlarda meme tümörü oluşturmuş ve tüm deneklerde makroskopik olarak tümör saptadıktan sonra deneye son vererek ADX nin etkisine bakmışlardır.

Yine ADX yapılan deneklerde transplante edilen tümörlerin büyümeleri bir süre izlenmiş ve ulaştıkları son boyutların, S-ADX grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı oranda küçük olduğu rapor edilmiştir. Adrenal GKS ler ekzojen olarak enjekte edildiğinde tümör gelişimi için inokule edilmesi gereken tümöral hücre sayısının azaldığını, oluşan tümörlerin daha hızlı geliştiklerini, kimyasal karsinogen kullanıldığı taktirde latent devrenin kısaldığını gösteren pek çok çalışma vardır. Çeşitli şekillerde stress yaratılarak yapılan deneysel çalışmalarda da tümör büyüme hızının arttığı gösterilmiştir (17,24-26,28-33,51,74,75).

Çalışmamızda S-ADX grubundaki 2 denekte makroskopik olarak saptanabilen tümör gelişti. Bu tümörlerden biri 4x4x3 cm. diğeri ise 1x1x0.5 cm. boyutlarında idi. ADX grubunda ise makroskopik olarak saptanabilen boyutta tümör gelişmiş denek yoktu. Mikroskopik inceleme sonucu saptadığımız tümör boyutlarını karşılaştırdığımızda ise S-ADX ile ADX grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulamadık ( $p > 0.05$ ; Tablo 4). Bu durumda; tümörler henüz yeni gelişme aşamasında oldukları için büyüme hızları hakkında yeterli bilgi edinilemediği düşünülebilir. Eger bunları daha uzun süre izleme olanagı bulabilseydik tümörlerin en son ulaşacakları boyutlar birbirinden farklı olabilirdi.



Yayınlanan bazı çalışmalarda, belli bir boyuta ulaşan tümörlerin ADX yapıldıktan sonra regresyona uğradıklarının bildirilmesi, adrenal gland ile tümör gelişimi arasında direkt ya da indirekt bir ilişkinin var olabileceği düşüncesini güçlendirmiştir (23,24,26,28,29,74).

Coombs ve ark.<sup>28</sup> spontan olarak "Walker karsinosarkomu 256" gelişen sıçanlarda adrenal hiperplazi bulunduğunu saptamışlardır. Bu hiperplaziyi açıklığa kavuşturmak üzere bir grup sağlıklı deneye "Walker karsinosarkomu 256" inokule etmişlerdir. Tümör gelişen denelerde hem adrenal gland ağırlığını fazla bulmuşlar hem de korteks kalınlığının arttığını gözlemlemişlerdir. Korteksteki bu kalınlık farkını zona retiküleristeki artışın oluşturduğu sonucuna varmışlardır. Tümör gelişen deneklerden inokulasyondan sonraki 7.günde otopsi yaptıkları denelerde zona retikülerisin korteksin %61'ini oluşturduğunu (kontrol grubunda ise %39'unu); 14.günde otopsi yaptıkları denelerde %81'ini (kontrol grubunda ise %32'sini) oluşturduğunu saptamışlardır.

Fachet ve ark.<sup>33</sup> da 3,4-benzpiren ile tümör oluşturdukları deneklerin adrenal gland ağırlıklarının kontrol grubuna göre belirgin olarak artmış olduğunu ( $p < 0.01$ ) ve bu artışı zona fasikülatadaki hiperplazinin oluşturduğunu gözlemlemişlerdir.

Biz de çalışmamızda S-ADX ile kontrol grubunu "adrenal glandların ağırlık ortalaması/vücut ağırlığı" oranları (Tablo 6), adrenal gland kesitlerinde ölçülen en büyük çaplar ve adrenal korteks kalınlıkları açısından (Tablo 8,10).

karşılaştırdık. Adrenal gland ağırlıkları, çapları ve kortikal kalınlıkları S-ADX grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı oranda daha fazla idi ( $p < 0.04$ ; Tablo 7,9,11). Kortekste zona glomerulozanın S-ADX grubunda kontrol grubuna oranla çok daha ince bir alan kapladığını dolayısıyla kortikal hiperplazinin zona fasikülata ve zona retikularisin genişlemesi sonucu gerçekleştiğini gözlemledik.

Benton<sup>26</sup> ın "sarkoma 180" inokule ettiği farelerdeki gözlemi ise yukarıdakilerden farklıdır. ADX yaptığı grupta tümörün regresyona ugradığını izleyen Benton, tümörlerin gelişimi üzerinde hangi adrenal hormonun etkili olduğunu araştırmak üzere ADX ten sonra deneklere kortizol asetat, kortikosteron, DOCA ve aldosteron enjekte etmiştir. Kullandığı dozlarda kortizol asetat ve kortikosteron hiçbir etki göstermezken DOCA ve aldosteron belirgin olarak tümöral dokunun regresyonunu durdurmuştur.

Bu gözlem değişiklikleri tümörlerin özelliklerinden dolayı olabilir. Çünkü değişik tümör türlerinin ADX ya da GKS lerden farklı şekillerde etkilendiği bilinmektedir.

Moore ve ark.<sup>31</sup> "sarkoma 180", "Krebs-2" ve "Ehrlich ascite" tümör hücrelerinin kortizona nispeten duyarsız, lenfosarkom, rhabdomyosarkom, 3-metil kolantrenle oluşturulan sarkomlarla, "Walker karsinosarkomu 256" nin ise kortizona duyarlı olduğunu; Bischoff ve ark.<sup>23</sup> ise ADX sonrasında tümör gelişim hızının karsinom inokule edilen grupta sarkom inokule edilen gruba oranla daha fazla yavaşladığını

gözlemlemişlerdir.

Ayrıca ADX yapılan deneklerde deri allograftlarının belirgin olarak hızlı atıldığını ve lenfoid organlarda hücrel deplesyon geliştiğini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Bu nedenle araştırmacılar, çeşitli şekillerde stress yarattıktan, ADX yaptıktan ya da GKS enjekte ettikten sonra lenforetiküler sistemi incelemeye yönelmişlerdir (17,19,29,54,77,87,90).

Haelst<sup>19</sup> sıçanlara subkutan hidrokortizon enjekte ederek timusta gelişen akut involusyonu incelemiştir. Enjeksiyondan sonraki 4. saatten itibaren fokal desintegrasyon şeklinde lenfosit hasarı başlamış ve 12. saatte korteks medulla ayrımı kaybolmuştur. Birinci günden itibaren lenfositlerde tam bir deplesyon gözlenmiş olup 3. günde küçük lenfositler tamamen kaybolmuş sadece dağınık halde büyük lenfositler görülmüş ve timus boyutu belirgin olarak azalmıştır.

Kaiser ve ark.<sup>29</sup> ise "C57B1/6J fibrosarkomu S21" inokule ettikleri farelerle çalışmışlardır. Bir grup deneye ADX bir gruba S-ADX yaparak timus ağırlığına, timustaki lenfosit aktivasyonuna ve proliferasyonuna bakmışlardır. Yaklaşık 10 tümöral hücre inokule ettikleri deneklerde ADX grubunda S-ADX ve kontrol grubuna oranla timus ağırlığının ( $p<0.01$ ) ve timustaki lenfosit proliferasyonunun arttığını ( $p<0.05$ ) saptamışlardır.

Edwards ve ark.<sup>87</sup> 10 mgr. tümöral doku implante ettikleri farelerin timuslarını incelediklerinde 17. günde başlayıp 24.-28. günlerde belirginleşen involusyonel değişiklikler

gözlemlemiştirlerdir. Benzer protokolle gerçekleştirdikleri diğer bir çalışmada ise farelerin timus DNA ve RNA içeriğine bakmışlardır. On yedinci günde DNA ve RNA içeriğinin azalmaya başlayıp 24. günde ilk değerlerin %80-85 ine düştüğünü gözlemlemiştirlerdir (88).

Kaiserlian ve ark.<sup>90</sup> "Lewis in akciğer karsinomu"nu inoküle ettikleri farelerde gelişen timus atrofisinden sorumlu olabilecek faktörleri araştırmak üzere bir grup deneye ADX yapmışlardır. Tümör inokulasyonundan 17 gün sonra ADX yaptıkları ve yapmadıkları deneklerin timus ve dalaklarını incelemiştirlerdir. Timus ağırlığına, içerdiği lenfosit sayısına ve histolojik özelliklerine bakarak ADX in tümörün yarattığı timus involusyonunu tamamen engellediği sonucuna varmışlardır.

Yine 10 mgr. tümöral doku implante eden Rowland ve ark.<sup>89</sup> da timus ağırlığının ilk günlerden itibaren azaldığını görmüşlerdir. Histopatolojik incelemede korteksteki hücrelerde RNA içeriğinin artması anlamına gelen pironinofilinin 4. günde başlayıp 15. güne dek sürdüğünü saptamışlardır. Daha sonra ise korteks hem boyut hem de hücresel içerik açısından küçülerek medulla belirgin hale gelmiştir.

Yaptığımız çalışmada "timus ağırlığı/vücut ağırlığı" oranı bakımından her üç grubu karşılaştırdık (Tablo 13). Bu oranın S-ADX ve ADX gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğunu saptadık ( $F(2,27)=3.59 ; p<0.05$  ). Gelişen tümörlerin timusta

involusyona yol açtığını düşündük. ADX grubunda timus ağırlığındaki azalma S-ADX grubundan daha azdı. S-ADX grubu ile kontrol grubu arasındaki fark, ADX grubu ile kontrol grubu arasındaki farktan istatistiksel olarak çok daha ileri derecede anlamlı idi. Bu nedenle ADX in tümörün timusta yol açtığı involusyonu bir miktar engellediği sonucuna vardık.

Timusların histopatolojik değerlendiriminde ise S-ADX grubuna ait timus kesitlerinde kortekste fagositik aktivite gösteren makrofajlar bulunduğu dikkatimizi çekti. Akut involusyon olarak değerlendirilebilecek bu bulgu kortikal lenfositlerin yıkımının başladığını belirlemektedir. Yukarıda sözü edilen diğer çalışmalardaki bulgular ışığında bu olayın ilerleyerek sonraki aşamada, tümördeki büyümeye paralel olarak, timusta atrofi ile sonuçlanacağı düşünülebilir.

## SONUÇLAR

Albino Wistar cinsi, 7 haftalık, erkek, 30 adet sıçanın kullanıldığı bu çalışmada deneklerin bir kısmına ADX (birinci grupta yer alan 10 sıçan), bir kısmına da S-ADX (ikinci grupta yer alan 10 sıçan) yaptık. Bu deneklerin sağ ayak bileğine intraartiküler olarak 9,10-dimetil 1,2-benzantraseenin parafin yağı içindeki %2'lik solusyonundan 0.2 cc. 1 ay ara ile 3 kez enjekte ettik.

1- İlk enjeksiyondan 40 hafta sonra denekleri öldürerek deneye son verdiğimizde deneklerin %80'inde malign transformasyon gösteren fibrohistiyositik tümörler gelişti.

2- ADX yapılan deneklerin 6'sında (%60), S-ADX yapılan hayvanların ise tümünde (%100) enjeksiyon yerinde ve yakın komşulugunda tümör gelişti. ADX'nin tümör insidansını azalttığı sonucuna varıldı.

3- S-ADX grubunda yer alan 2 denekte makroskobik boyutta tümör saptandı. ADX grubundaki deneklerin hiçbirinde makroskobik boyutta tümör gelişmemişti. Bu nedenle ADX nin tümör gelişimini yavaşlattığı düşünöldü.

4- Mikroskobik incelemede saptanan tümör boyutları karşılaştırıldığında ADX ile S-ADX grubu arasında önemli bir fark gözlenmedi ( $p > 0.05$ ). Bu durum tümörlerin henüz yeni gelişme aşamasında olmaları açıklandı.

5- Adrenal glandların ağırlıkları yönünden S-ADX grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında S-ADX grubunda adrenal gland ağırlığının arttığı gözlendi. Aradaki fark

istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p < 0.01$ ).

6- Adrenal glandların histopatolojik kesitlerinde ölçülen en büyük çaplar ve korteks kalınlıkları açısından S-ADX ve kontrol grubu karşılaştırıldı. S-ADX grubunda saptanan değerler kontrol grubundakilere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı oranda fazla idi ( $p < 0.01$ ).

7- Adrenal gland korteks kalınlığının S-ADX grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış olması ( $p < 0.05$ ) zona fasikülata ve zona retikularisin hipertrofisi sonucuydu.

8- Timus ağırlıkları açısından her üç grup birbirleriyle kıyaslandığında S-ADX ve ADX gruplarındaki değerlerin kontrol grubuna göre düşük olduğu gözlemlendi. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $F(2,29) = 3.59$ ;  $p < 0.05$ ). Timus ağırlığının ADX grubunda S-ADX grubundaki kadar düşük olmaması ADX'nin timusta gelişen involusyonu engellediğini düşündürdü.

9- Timusların histopatolojik değerlendiriminde S-ADX grubuna ait çoğu kesitte kortekste fagositik aktivite gösteren makrofajlar dikkatimizi çekti. Bu bulgu timusun akut involusyona uğradığı şeklinde yorumlandı.

Böylece ADX'nin, sıçanlarda kimyasal karsinojenle oluşturulan tümör insidansını azalttığı ve tümör gelişimini inhibe ettiği sonucuna varıldı. Bu etkileri immun sistem üzerinden indirekt olarak gösterdiği olasılığı üzerinde duruldu. Bununla beraber daha büyük boyutlardaki tümörlerle çalışılarak timusun daha ayrıntılı incelenmesinin yararlı olacağı kanısındayız.

## ÖZET

Bu çalışmada albino Wistar cinsi, 7 haftalık, erkek sıçanlara ADX (1. grup) ve S-ADX (2. grup) yapılarak 9,10-dimetil 1,2-benzantraseenin parafin yağı içindeki %2'lik solusyonundan 0.2 cc. intraartiküler olarak, birer ay ara ile 3 kez enjekte edildi. İlk enjeksiyondan 40 hafta sonra deneye son verildiğinde hayvanların %80'inde malign transformasyon gösteren fibrohistiyositik tümörler gelişti. ADX grubunda gelişen tümör insidansı (%60) S-ADX grubuna (%100) oranla düşük düzeyde idi. Her iki grup arasında gelişen tümör boyutları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ( $p > 0.05$ ). S-ADX grubunda kontrol grubuna oranla adrenal gland ağırlığının arttığı ( $p < 0.01$ ) ve adrenal kortikal hiperplazi geliştiği ( $p < 0.01$ ) gözlemlendi. Timus ağırlığının hem ADX hem de S-ADX grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı oranda az olduğu saptandı ( $F(2,27)=3.59$  ;  $p < 0.05$ ). ADX grubundaki değerlerin S-ADX grubundaki kadar düşük olmaması ADX'nin timusta gelişen involusyonu engellediği şeklinde yorumlandı. Timusların histopatolojik olarak incelenmesi sonucunda S-ADX grubunda akut involusyona ait bulgular görüldü.



## KAYNAKLAR

- 1-COTRAN R.S., KUMAR V., ROBINS S.L.: Robbins Pathologic Basis of Disease (4th Ed.), W.B.Saunders Company, Philadelphia, 1989, pp.239-305, 1373-74
- 2-KISSANE J.M.: Anderson's Pathology. (8th Ed.). The C.V.Mosby Co., St. Louis, 1985, pp.546-49, 1351-58
- 3-ERHAN Y.: Neoplazi Ders Notları. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Patoloji ABD, Bornova, 1985
- 4-DZKAN A.U., BULAY O.: Tümörler. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Matbaası, Ankara, 1980, s.30-39
- 5-STITES D.P., STOBO J.D., WELLS J.V.: Basic and Clinical Immunology In Greenberg P.D. (Ed.) Tumor Immunology. (6th Ed.). Appleton and Lange, USA, 1987, pp.186-96
- 6-KILICTURGAY K.: Immunolojiye Giriş. Yargıçoğlu Matbaası, Ankara, 1987, s.96-98
- 7-LAMON E.W., SKURZAK H.M., KLEIN E.: The Lymphocyte Response to a Primary Viral Neoplasm (MSV) through Its Entire Course in BALB/C Mice. Int. J. Cancer 10: 581-88, 1972
- 8-BULAY O.: Hücre Zedelenmesi, Lokal Dolaşım Bozuklukları, İltihap, Immunité ve Timus Hastalıkları. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 1984, s.214-24, 227-33, 246
- 9-FELDMANN M., BASTEN A.: The Relationship between Antigenic Structure and the Requirement for Thymus Derived Cells in the Immun Response. J. Exp. Med. 134: 103-19, 1971

- 10-POLLACK S., NELSON K.: Early Appearance of a Lymphoid Arming Factor and Cytotoxic Lymph Node Cells after Tumor Induction. *Int. J. Cancer* 14: 522-29, 1974
- 11-HOLDEN H.T., KIRCHNER H., HERBERMAN R.B.: Secondary Cell-Mediated Cytotoxic Response to Syngeneic Mouse Tumor Challenge. *J. Immunol.* 115: 327-31, 1975
- 12-ROSAI J., LEVINE G.D.: Tumors of the Thymus. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, 1976, pp.1-22
- 13-RECENT RESULTS IN CANCER RESEARCH Vol.5. N.Y. Springer Verlag, 1966, pp.16-17
- 14-HAELST U.V.: Light and Electron Microscopic Study of the Normal and Pathological Thymus of the Rat I. The Normal Thymus. *Z. Zellforsch.* 77: 534-53, 1967
- 15-GAD P., CLARK S.L.: Involution and the Regeneration of the Thymus in Mice Induced by Bacterial Endotoxin and Studied by Quantitative Histology and Electron Microscopy. *Am. J. Anat.* 122: 573-606, 1968
- 16-TAYLOR R.B., WORTIS H.H.: Thymus Dependence of Antibody Response: Variation with Dose of Antigen and Class of Antibody. *Nature* 220: 927-28, 1968
- 17-PETERS L.J., KELLY H.: The Influence of Stress and Stress Hormones on the Transplantability of a Non-Immunogenic Syngeneic Murine Tumor. *Cancer* 39: 1482-88, 1977
- 18-SELYE H.: Thymus and Adrenal in the Response of the Organisms to Injuries and Intoxications. *Brit. J. Exp. Path.* 17: 234-48, 1936 (21 no'lu kaynaktan aktarılmıştır.)

- 19-HAELST U.V.:Light and Electron Microscopic Study of the Normal and Pathological Thymus of the Rat II.The Acute Thymic Involution. Z.Zellforsch. 80: 153-82, 1967
- 20-ZIYLAN Z.: Timus ve T hücrelerinin görevleri. Sermet Matbaası, İstanbul, 1976
- 21-KAYAALP O.:Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji Cilt III. (2. baskı). Nüve Matbaası, Ankara ,1983, s.1998-2003
- 22-KAZANCIGİL A. ve ark.:Fizyoloji Cilt III. Sanem Matbaası, Ankara, 1978, s.354-76; (Çev.Guyton A.C.:Textbook of Medical Physiology.(5th Ed.). W.B. Saunders Co.,Philadelphia., 1976)
- 23-BISHOFF F.,MAXWELL L.C.:Hormones in Cancer V.The Effect of Glandular Extirpation upon the Growth of Transplantable Tumors. J. Pharm. and Exper. Therap. 46: 51-58, 1932
- 24-INGLE D.J.,BAKER B.L.:The Effect of Adrenalectomy in the Rat upon the Rate of Growth of Transplantable Tumors. Endocrinology 48: 313-15, 1951
- 25-SLAWIKOWSKI G.J.M.:Tumor Development in Adrenalectomized Rats Given Inokulations of Aged Tumor Cells after Surgical Stress. Cancer Res. 20: 316-20, 1960
- 26-BENTON D.A.:Growth of Sarcoma 180 in Adrenalectomized Mice. Cancer Res. 22: 1220-25, 1962
- 27-ALEXANDROV K.,VENDRELY C.,VENDRELY R.:A Comparative Study of the Action of Carcinogenic Substances on the RNA Synthesis in Mouse Skin. Cancer Res. 30: 1192-96, 1970

- 28-COOMBS R.R.H., CASTRO J.E., SELLWOOD R.A.: Adrenal Hyperplasia in Rats with Walker Carcinosarcoma 256. *Br. J. Surg.* 61: 136-40, 1974
- 29-KAISER C.W., HECHT M., ROTH M., COOPERBAND S.R.: Modification of Immunogenic Tumor Growth by Adrenalectomy in a Syngeneic Murine System. *Cancer* 55: 760-65, 1984
- 30-BUINAUSKAS P., McDONALD G.O., COLE W.H.: Role of Operative Stress on the Resistance of Experimental Animal to Inokulated Cancer Cells. *Ann. Surg.* 148: 642-45, 1988
- 31-MOORE G.E., KONDO T., OLIVER R.J.: Effects of Cortisone in Tumor Transplantation. *J. Nat. Cancer Inst.* 25: 1097-1110, 1960
- 32-MOORE G.E., OWEN J.J.T.: Experimental Studies on the Development of the Thymus. *J. Exp. Med.* 126: 715-725, 1967
- 33-MIZUNO D. et al.: Host Defence against Cancer and its Potentiation In Facht J. et al. (Ed.): Adrenocortical Function and Serum Properdin Level of Thymectomized and Sham-Operated Rats Bearing Chemically Induced Tumors. University Park Press, Tokyo, 1975, pp.145-153
- 34-GULMEZOGLU E.: Bağışıklığın Temelleri (2. baskı). Dztekk Matbaası, Ankara, 1979, s.176-87
- 35-ANDRIANOV L.N., BELITSKY G.A., IVANOVA O.J., et al.: Metabolic degradation of 3,4-benzopyrene in the Cultures of Normal and Neoplastic Fibroblasts. *Brit. J. Cancer* 21: 566-75, 1967

- 36--FLECHER J.W., SYDNOR K.L.: Carcinogenicity of Derivatives of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene. *Cancer Res.* 31: 1951-54, 1971
- 37--DUNCAN M.E., BROOKES P.: Metabolism and Macromolecular Binding of Dibenz(a,c)anthracene and Dibenz(a,h)anthracene by Mouse Embryo Cells in Culture. *Int. J. Cancer* 9: 349-52, 1972
- 38--TS' O P.O.P., DIPAOLLO J.A.: Carcinogenesis Part A. Marcel Dekker Inc., New York, 1974, pp.135-158, 237-247
- 39--GHADIALLY F.N., ROY S.: Experimentally Produced Synovial Sarcomas. *Cancer* 19: 1901-8, 1966
- 40--SAKAMOTO K.: Malignant Fibrous Histiocytoma Induced by Intra-Articular Injection of 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene in the Rat. *Cancer* 57: 2313-22, 1986
- 41--HIEGER I.: Carcinogenesis. Academic Press, London, 1961, pp.45-61
- 42--ROSAI J.: Ackerman's Surgical Pathology Vol.II. (7th Ed.). The C.V. Mosby Co., St. Louis, 1985, pp.1560-64
- 43--ENZINGER F.M., SHARON W.W.: Soft Tissue Tumors (2nd Ed.). The C.V. Mosby Co., St. Louis, 1988, pp.223-300
- 44--FU Y., GIULIO G., KAYE G., et al.: Malignant Soft Tissue Tumors of Probable Histiocytic Origin (Malignant Fibrous Histiocytomas): General Considerations and Electron Microscopic and Tissue Culture Studies. *Cancer* 35: 176-98, 1975

- 45-MII Y., MARUYAMA H., MIYAUCHI Y., et al.: Experimental Studies on Malignant Fibrous Histiocytomas in Rats: Production of Malignant Fibrous Histiocytomas by 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide in Bone of Fischer 344 Strain Rats. *Cancer* 50: 2057-65, 1982
- 46-WOOD G.S., BECKSTEAD J.H., TURNER R.R., et al.: Malignant Fibrous Histiocytoma Tumor Cells Resemble Fibroblasts. *Am. J. Surg. Pathol.* 10: 323-35, 1986
- 47-LAWSON C.W., FISHER C., GATTER K.C.: An Immunohistochemical Study of Differentiation in Malignant Fibrous Histiocytoma. *Histopathology* 11:375-83, 1987
- 48-MERKOW L.P., FRICH J.C., SLIFKIN M., et al.: Ultrastructure of a Fibroxantosarcoma (Malignant Fibroxantoma). *Cancer* 28: 372-83, 1971
- 49-SPJUT H.J. FECHNER R.E. ACKERMAN L.V.: Tumors of Bone and Cartilage (Suppl.). Armed Forces Institute of Pathology Washington, 1981, pp.1-18
- 50-HELLSTROM I., HELLSTROM K.E.: Studies on Cellular Immunity and Its Serum-Mediated Inhibition in Moloney-Virus-Induced Mouse Sarcomas. *Int. J. Cancer* 4: 587-600, 1969
- 51-VAETH J.M.: The Interrelationship of the Immun Response and Cancer In Solomon B.F. and Amkraut A.A. (Ed.): Emotions, Stress and Immunity. S.Karger, Switzerland, 1972, pp. 84-97
- 52-CURRIE G.A.: Cancer and the Immune Response (1st Ed.). T. and A. Constable Ltd., Edinburg, 1974

- 53-MIZUNO D., et.al.:Host Defence against Cancer and Its Potentiation In Brunner K.T.,et.al.(Ed.):Lymphocyte-mediated Cytotoxicity: Mechanism and Relationship to Tumor Immunity. University Park Press, Tokyo, 1975, pp.43-53
- 54-KAISERLIAN D.,SAVINO W.,BACH J.:Studies of the Thymus in Mice Bearing Lewis Lung Carcinoma I.Thymic Natural Killer Cell Activity in 3LL Tumor Bearing Mice. Cell. Immunol. 80: 187-97, 1967
- 55-HERBERMAN R.B.,NUNN M.E.,HOLDEN H.T.,et.al.:Augmentation of Natural Cytotoxic Reactivity of Mouse Lymphoid Cells against Syngeneic and Allogeneic Target Cells. Int. J. Cancer 19: 555-64, 1977
- 56-HERBERMAN R.B.,NUNN M.E.,HOLDEN H.T.,et al.: Augmentation of Natural Cytotoxic Reactivity of Mouse Lymphoid Cells against Syngeneic and Allogeneic Tumors  
II.Characterization of Effector Cells. Int. J. Cancer 16: 230-39, 1975
- 57-MIZUNO D. et al.:Host Defence against Cancer and its Potentiation In Alexander P.(Ed.):The Role of Macrophages in the Host Defence against Cancer. University Park Press, Tokyo, 1975, pp.113-130
- 58-BOSTROM S.G.,HART W.R.:Carcinomas of the Cervix with Intense Stromal Eosinophilia. Cancer 47: 2887-93, 1981
- 59-LOWE D.,JORIZZO J.,HUTT M.S.R.:Tumor-Associated Eosinophilia:A Review. J. Clin. Pathol. 34: 1343-48, 1981

- 60-LOWE D., FLETCHER C.D.M., GOWER R.L.: Tumor-Associated Eosinophilia in Bladder. *J. Clin. Pathol.* 37: 500-502, 1984
- 61-LODI L.: Tumor-Associated Tissue Eosinophilia in Nasopharyngeal Carcinoma. A Pathologic Study of 422 Primary and 138 Metastatic Tumor. *Cancer* 59: 466-70, 1987
- 62-ERKOÇAK A.: Özel Histoloji (2. baskı). Ajans Türk Matbaası, Ankara, 1973, s.62-68, 107-114
- 63-KAYALI H.: İnsan Embriyolojisi. Güven Kitapevi, Ankara, 1977, s.101-102, 140-42
- 64-ODAR I.V.: Anatomi Ders Kitabı Cilt 2. (10. baskı). Ayyıldız Matbaası, Ankara, 1977, s.224-28, 255-58
- 65-GOLDSTEIN G., MAC KAY I.R., WARREN H.: The Human Thymus. Green Inc., St. Louis, 1969
- 66-EWIJK W.V.: Immunohistology of Lymphoid and Non-lymphoid Cells in the Thymus in Relation to T Lymphocyte Differentiation. *Am. J. Anat.* 170: 311-30, 1984
- 67-MASUDA A., NISHIMOTO Y., MORITA T., MATSUYAMA M.: Dexamethasone-induced Changes in Morphology and Keratin Organization of Rat Thymic Epithelial Cells in Primary Culture. *Exp. Cell Res.* 160: 343-55, 1985
- 68-SHARP J.G., CROUSE D.A., FURTILO D.T.: Ontogeny and Regulation of the Immune System. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 111: 1106-13, 1987



- 69--SCOLLAY R.G., BUTHER E.C., WEISSMAN I.L.: Thymus Cell Migration Quantitative Aspects of Cellular Traffic from the Thymus to the Periphery in Mice. *Eur. J. Immunol.* 10: 210-18, 1980
- 70--HSU S., JAFFE E.S.: Phenotypic Expression of T Lymphocytes in Thymus and Peripheral Lymphoid Tissues. *Am. J. Pathol.* 121: 69-78, 1985
- 71--GRIFF R.O., ASTWOOD E.B.: *Handbook of Physiology* Sec.7, Vol.4, Part 2. Baltimore, The Williams and Wilkins Company, 1975
- 72--HARRISON D.E., ARCHER J.A., ASTLE C.M.: The Effect of Hypophysectomy on Thymic Aging in Mice. *J. Immunol.* 129: 2673-77, 1982
- 73--ARAS K., ERSEN G.: *Tıbbi Biyokimya: Hormonlar*. Ankara Universitesi Tıp Fakültesi Matbaası, Ankara, 1974, s.5-6
- 74--NAGASAWA H., YANAI R., NAKAJIMA Y.: Response to Adrenovariectomy and/or Pituitary Grafting of Carcinogen-induced Mammary Tumors in Rats with Different Growth Potential. *Europ. J. Cancer* 16: 1345-50, 1980
- 75--SANTE R.J., WORGUL T.J., SAMOJLIK E., et.al.: A Randomized Trial Comparing Surgical Adrenalectomy in Women with Advanced Breast Cancer. *N. Eng. J. Med.* 305: 545-51, 1981
- 76--STEFFEN J.M., MUSACCHIA X.J.: Thymic Involution in the Suspended Rat: Adrenal Hypertrophy and Glucocorticoid Receptor Content. *Aviat. Space Environ. Med.* 57: 162-67, 1986

- 77-ROCHA B.:The Effects of Stress in Normal and Adrenalectomized Mice. Eur. J. Immunol. 15: 1131-35, 1985
- 78-PACIOTTI G.F.,SKWERER R.G.,TAMARKIN L.:Differential Response of Rat Splenic Lymphocytes to Short-term and Long-term Neuroendocrine challenges: Possible Desensitization of the Cellular Immun Response to Corticosteroids. J. Neuroimmunol. 16: 253-59, 1987
- 79-HIRAMOTO Y.,SIGUMACHI K.:Effect of Glucocorticoid Deficiency after Adrenalectomy on Antitumor Immunity. Cancer Immunol. Immunother. 25: 157-60, 1987
- 80-COHEN I.R.,STAVY L.,FELDMAN M.:Glucocorticoids and Cellular Immunity in vitro Facilitation of the Sensitization Phase and Inhibition of the Effector Phase of a Lymphocyte Anti-fibroblast Reaction. J. Exp. Med. 132: 1055-70, 1970
- 81-STAVY L.,.COHEN I.R.,FELDMAN M.:Stimulation of Rat Lymphocyte Proliferation by Hydrocortisone during the Induction of Cell-mediated Immunity in vitro. Transplantation 17: 173-79, 1974
- 82-GRIDLEY M.F.:Manual of Histologic and Special Staining Technics (2nd Ed.). McGraw Hill Book Company, Inc., New York, 1960, pp.28-29, 66
- 83-SMITH A.,BRUTON J.:A Colour Atlas of Histological Staining Technics. Wolfe Med. Pub. Ltd., London, 1977, pp.127-28, 152-53

- 84-HUGGINS C., GRAND L.C., BRILLANTES F.P.: Mammary Cancer Induced by a Single Feeding of Polynuclear Hydrocarbons and Its Suppression. *Nature* 189: 204-207, 1961
- 85-MARUYAMA H., MII Y., EMI Y., et.al.: Experimental Studies on Malignant Fibrous Histiocytomas. II. Ultrastructure of Malignant Fibrous Histiocytomas Induced by 4-(Hydroxyamino)-Quinoline 1-Oxide in Rats. *Lab. Invest.* 48: 187-98, 1983
- 86-MARTIN M.S., HAMMANN A., MARTIN F.: Gut-associated Lymphoid Tissue and 1,2-dimethylhydrazine Intestinal Tumors in the Rat: An Histological and Immunoenzymatic Study. *Int. J. Cancer* 38: 75-80, 1986
- 87-EDWARDS A.J., SUMNER M.R., ROWLAND G.F., HURD C.M.: Change in Lymphoreticular Tissues during Growth of a Murine Adenocarcinoma. I. Histology and Weight of Lymph Nodes, Spleen and Thymus. *J. Nat. Cancer Inst.* 47: 301-11, 1971
- 88-EDWARDS A.J., ROWLAND G.F., SUMNER M.R., HURD C.M.: Change in Lymphoreticular Tissues during Growth of a Murine Adenocarcinoma. II. Nucleic Acid Content and Synthesis in Lymph Nodes, Spleen and Thymus *J. Nat. Cancer Inst.* 47: 313-20, 1971
- 89-ROWLAND G.F., EDWARDS A.J., SUMNER M.R., HURD C.M.: Thymic Dependency of Tumor-induced Immunodepression. *J. Nat. Cancer Inst.* 50: 1329-36, 1973
- 90-KAISERLIAN D.: Studies of the Thymus in Mice Bearing Lewis Lung Carcinoma: III. Possible Mechanisms of Tumor-induced Thymic Atrophy. *Clin. Immunol. Immunopath.* 32: 316-25, 1984