

Tavşanda yassı epitel hücreli dil kanseri modelinde selenyumun yararlı etkisi

The beneficial effect of selenium against induction of squamous cell carcinoma of the tongue in rabbits

Dr. Metin YILMAZ,¹ Dr. Yusuf K. KEMALOĞLU,¹ Dr. Erdoğan İNAL,¹ Dr. Oğuz KUL,²
Dr. Murat YARIM,² Dr. Rıfki HAZIROĞLU,² Dr. Ömür ATAÖĞLU³

Amaç: Tavşanda yassı epitel hücreli dil kanseri oluşturularak karsinogenezis sürecindeki histopatolojik değişiklikler izlendi ve bu süreçte selenyumun etkisi değerlendirildi.

Çalışma Planı: Çalışmada 36 adet erkek albino Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Hayvanlara 20 hafta süreyle, haftada üç kez olmak üzere ve ksilazin hidroklorid ve ketamin anestesinden sonra DMBA (9,10 dimetil 1,2 benzantrazen)-aseton karışımı uygulanarak dilde yassı epitel hücreli dil kanseri oluşturuldu. Denekler rastgele iki gruba ayrılarak, 12 tavşanın içme suyuna 4 ppm sodyum selenit eklendi, 24 hayvana normal musluk suyu verildi. Çalışma süresince 4, 8, 12 ve 16. haftalarda iki gruptan birer tavşanın yaşamının sonlandırılması, hayatta kalanların ise 20. hafta sonunda öldürülmesi planlandı. Dilde gelişen lezyonlar hem makroskopik hem de mikroskopik olarak 20 hafta süreyle izlendi.

Bulgular: Yirminci haftaya kadar selenyum grubunda iki, diğer grupta dokuz tavşan pasterellozise bağlı akut nekrotizan bronkopnömoniden öldü. Displazi görülme oranı selenyum grubunda anlamlı derecede düşük idi (%16.7 ve %66.7, p<0.0001). Selenyum grubunda displazi gelişiminin geciktiği gözlemlendi. On dokuz ve 20. haftada sağ olan tavşanlar içinde, in situ karsinom normal içme suyu alanların %25'inde saptanırken, selenyum alanların hiçbirinde gözlenmedi.

Sonuç: Yassı epitel hücreli dil kanseri modelinde selenyumun karsinogenezisi geciktirerek kanser sürecinde koruyucu etki gösterdiği sonucuna varıldı.

Anahtar Sözcükler: 9,10 Dimetil 1,2 benzantrazen; karsinom, yassı hücreli; neoplazi, deneysel; tavşan; selenyum/terapötik kullanım; zaman faktörü; dil neoplazileri/kimyasal yolla oluşturulan.

Objectives: In a rabbit model of squamous cell carcinoma of the tongue, we monitored histopathologic changes and assessed the effect of selenium against carcinogenesis.

Study Design: The study included 36 male albino New Zealand rabbits. To induce squamous cell carcinoma of the tongue, 9,10-dimethyl-1, 2- benzanthracene (DMBA)-acetone solution was applied three times a week for a duration of 20 weeks under anesthesia with xylazine hydrochloride and ketamine. The rabbits were randomly assigned to receive either pure tap water (24 rabbits) or tap water supplemented with 4 ppm sodium selenite (12 rabbits). One rabbit in each group was sacrificed at the end of 4, 8, 12 and 16 weeks, and the remaining rabbits at the end of 20 weeks for macroscopic and microscopic examination of the tongue.

Results: By week 20, two rabbits in the selenium group, and nine rabbits receiving tap water died from acute necrotizing bronchopneumonia due to pasteurellosis. Dysplasia was significantly less in selenium-receiving rabbits (16.7% vs 66.7%, p<0.0001), and its development manifested a delayed onset. Carcinoma in situ was detected in 25% of tap water-receiving rabbits that remained alive by week 19 to 20, while none of the rabbits had carcinoma in situ in the selenium group.

Conclusion: Our data demonstrate that selenium has an inhibitory and preventive effect against chemically-induced rabbit tongue carcinogenesis.

Key Words: 9,10-Dimethyl-1,2-benzanthracene; carcinoma, squamous cell; neoplasms, experimental; rabbits; selenium/therapeutic use; time factors; tongue neoplasms/chemically induced.

◆ Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, ¹KBB Hastalıkları Anabilim Dalı, ²Patoloji Anabilim Dalı; ³Ankara Üniversitesi Veteriner Hekimliği Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Ankara.

◆ Dergiye geliş tarihi: 19 Haziran 2003. Yayın için kabul tarihi: 18 Eylül 2003.

◆ İletişim adresi: Dr. Metin Yılmaz, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, KBB Hastalıkları Anabilim Dalı, 06530 Beşevler, Ankara.
Tel: 0312 - 202 44 44 / 202 64 28 Faks: 0312 - 223 05 28
e-posta: drmyilmaz@gazi.edu.tr

◆ Departments of ¹Otolaryngology and ²Pathology, Medicine Faculty of Gazi University; ³Department of Pathology, Veterinary School of Ankara University, all in Ankara, Turkey.

◆ Received: June 19, 2003. Accepted for publication: September 18, 2003.

◆ Correspondence: Dr. Metin Yılmaz, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, KBB Hastalıkları Anabilim Dalı, 06530 Beşevler, Ankara, Turkey.
Tel: +90 312 - 202 44 44 / 202 64 28 Fax: +90 312 - 223 05 28
e-mail: drmyilmaz@gazi.edu.tr

Karsinogenezis çok hücreli organizmalarda kimyasal, fiziksel ve biyolojik ajanların tek başlarına ya da birlikte yaptıkları etkiler sonucunda hücrede genetik değişiklikler ortaya çıkması ile başlayan bir süreçtir. Karsinojenin cinsi ve maruz kalma süresi kadar, bu süreci kolaylaştıran ya da engelleyen bünyesel faktörlerin de önemli rolü vardır. Bireyin genetik materyalindeki aktif supresör gen/onkogen dengesi ve başta oksidatif enzimatik reaksiyonlar olmak üzere, karsinojene maruz kalan vücut hücrelerine ait faktörler karsinogenezis sürecindeki başlıca bünyesel değişkenlerdir. Bünyesel faktörlerin büyük oranda bireysel değişkenlik gösterdiği bilinmektedir.^[1] Yapılan çalışmalar, bünyesel faktörlerdeki bireysel değişkenlikte beslenme alışkanlığının önemli rolü olduğunu göstermektedir. Özellikle oksidatif enzimatik reaksiyonların etkinliğinde hastanın beslenme alışkanlığının büyük rolü vardır.^[1]

Karsinogenezis sürecinin araştırılması için en sık başvurulan yöntem, hayvan çalışmalarıdır. Hayvan modelleri üzerinde karsinogenezis sürecini etkileyen pek çok çevresel ve bünyesel faktörün değerlendirilmesi mümkün olmuştur. Üst solunum-sindirim sisteminde deneysel kanser modellerinin çoğu hamster, daha azı sıçan, çok daha azı da fareler üzerinde yürütülmektedir. Bu çalışmalarda üst solunum-sindirim sistemi bölgeleri olarak bukkal mukozaya, dil, sert damak ve az sayıda çalışmada da alt dudak seçilmektedir. Deneysel kanser modelleri oluşturulurken kimyasal-promotor ajan olarak başlangıçta kömür katranı kullanılırken, sonraki yıllarda 9,10 dimetil 1,2 benzantrasen (DMBA - 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene) kullanılmaya başlanmıştır; böylelikle pek çok çevresel ve bünyesel faktör araştırılabilmektedir.^[2-12]

Selenyumun karsinogenezis sürecindeki engelleyici rolü ilk kez 1949 yılında Clayton ve Bauman tarafından kimyasal yolla oluşturulan karaciğer tümörlerinde gösterilmiştir.^[13] Bu tarihten itibaren pek çok ekolojik, epidemiyolojik, klinik ve deneysel çalışmada selenyumun antikanserojen etkisi olduğu bildirilmiştir.^[12,14-20,21-24]

Bu çalışmada, tavşanda kimyasal yolla oluşturulan yassı epitel hücreli dil kanserinde selenyumun koruyucu etkisi incelendi.

GEREÇ VE YÖNTEM

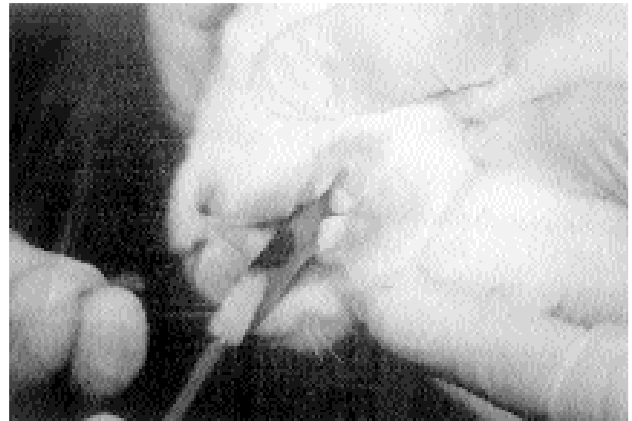
Bağımsız, eşzamanlı kontrollü olan planlanan bu çalışmada Ankara Üniversitesi Veteriner Hekimliği

Fakültesi'nden elde edilen 4-6 aylık (1600-2400 gr) 36 erkek albino Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Tavşanlar, araştırmadan 15 gün öncesinden çalışma sonuna kadar bakıma alındı. Hayvanlar ilk olarak deri hastalıkları yönünden değerlendirildi ve bariz deri hastalığı olanlar çalışma dışı bırakıldı. Seçilen deneklerden dışkı kültürleri alındı ve çalışmadan önce hayvanlara paraziter enfeksiyonlara karşı bir hafta süreyle sülfomethazin tedavisi uygulandı. Tedavi sonrasında dışkı kültürlerinde üreme olmadığı saptanan denekler çalışmaya alındı; üreme saptananlar çalışma dışında bırakıldı.

Ankara Üniversitesi Veteriner Hekimliği Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapılan çalışma sırasında karsinojen maddenin araştırma grubuna ve hayvanların bakımından sorumlu olanlara zarar vermemesi için gerekli önlemler alındı. Bu amaçla, karsinojen uygulamasında özel kıyafet ve örtüler kullanıldı ve her işlemten sonra kullanılan örtü ve kıyafetler imha edildi. Karsinojen uygulaması sırasında ortamın yeterli havalandırılması sağlandı.

Çalışmada, karsinojen olarak DMBA'nın (katolog no: 6607, Merck, Almanya) literatürde belirtilen şekilde^[7,10,14] aseton içinde hazırlanan %0.5'lik solüsyonu kullanıldı.

Çalışma etik kurallara uyularak gerçekleştirildi. İşlem yapılacak bölmeye alınmadan 10 dakika önce deneklere 1 ml ksilazin hidroklorid (im) ve 1 ml ketamin (im) verildi. Ksilazin hidroklorid ve ketamin anestezisinin 15 dakika süreyle ağırlı uyaranlara tepki vermeyen orta derecede güvenilir anestezi sağlaması nedeniyle uygulamanın bu süre içinde bitirilmesine özen gösterildi.



Şekil 1 - İşaretli bölge, dilin fiziksel ve kimyasal travmaya maruz bırakılan 1/3 orta serbest kenarını gösteriyor.

Anestezi altındaki denek uygulama masasına alındıktan sonra sağ yanı üzerine yatırıldı; üzeri koruyucu bir örtü ile örtüldü; ağızı açılarak, ucu doku zedeleyici özellikte olmayan bir penset ile dili dışarı çıkartıldı. Bu sırada bir aspiratör kullanılarak tükürük kontrolü sağlandı. Daha sonra dilin 1/3 orta kısmının sol serbest kenarına endoservikal smear fırçası (HP 380E) yardımıyla friksiyon tarzında iki dakika süreyle %0.5'lik aseton-DMBA solüsyonu uygulandı (Şekil 1). Kullanılan solüsyon, her işlem günü için yeniden hazırlandı. Bu işlem, deneyler süresince haftada üç kez tekrarlandı.

Çalışmaya alınan denekler basit tesadüfi örneklem yöntemiyle iki gruba ayrıldı. Grup 1'dekilere 4 ppm sodyum selenit (Na₂Se - Sigma) içeren içme suyu verilirken, grup 2'dekilere normal musluk suyu verildi. Çalışma başlangıcında iki gruba da 10'ar deney hayvanı alındı; ancak çalışmanın uzun süre devam edeceği düşünüldüğünde bu süre içinde ortaya çıkacak beklenmeyen ölümlerde iki çalışma grubuna da aynı laboratuvar ortamında bekletilen başka hayvanların eklenmesi planlandı. Yeni eklenen hayvanların çalışmaya alındığı tarih birinci gün olarak kabul edildi. Denekler çalışma boyunca aynı laboratuvar ortamında, farklı bölümlerde tutuldu. Çalışma süresi 20 hafta olarak belirlendi. Gerek çalışma boyunca gerekse çalışma sonunda tavşanlar etik kurallar çerçevesinde yüksek doz anestezi ile öldürüldü.

İstatistiksel analizler, IBM PC bilgisayarında, Microstat (Echosoftware, 1984) programıyla yapıldı. İki grupta belirlenen oranların karşılaştırması ki-kare testi ile yapıldı. Oluşturulan tablolarda, değerler 5'ten küçük olduğu zaman (<5) Fisher'in kesin ki-kare testi uygulandı. İstatistiksel analizlerde *p* değeri 0.05'ten küçük olan sonuçlar anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışma süresince, lezyonun mikroskopik izlemi amacıyla her gruptan dört hayvanın yaşamı sonlandırıldı. Her iki grupta toplam 12 hayvan ise değişik haftalarda öldü (Tablo I). Bu hayvanlardan biri (19. haftada) anestezi işlemi sonrasında kaybedilirken, 11 hayvanın ölümünden sorumlu herhangi bir işlem yoktu. Ölen deneklerde nekropsi ve histopatolojik inceleme yapıldı; 11 hayvanın ölüm nedeni, pasterellozise bağlı akut nekrotizan bronkopnömoni olarak belirlendi. Pasterellozise bağlı akut nekrotizan bronkopnömoni nedeniyle ölen hayvanların sayısı iki deney grubu arasında (grup 1: 2/12; grup 2: 9/24) anlamlı farklılık göstermedi (*p*>0.05).

TABLO I
DENEKLERİN ÖLÜM ZAMANLARI

Deney haftası	Selenyumlu içme suyu (n=12)		Normal içme suyu (n=24)	
	A	B	A	B
4	1	-	1	1*
7	-	-	-	1*
8	1	-	1	-
11	-	-	-	1*
12	1	-	1	-
14	-	1*	-	2*
15	-	-	-	1*
16	1	-	1	-
18	-	1*	-	2*
19	-	-	-	1*,1**
20	6	-	10	-

A: Yaşamları sonlandırılan denekler; B: Kendiliğinden ölen denekler; *: Pasterellozise bağlı akut nekrotizan bronkopnömoni nedeniyle ölen denek sayısı; **: Deney sırasında anesteziye bağlı olarak kaybedilen denek.

Makroskopik bulgular: Çalışmanın başlaması ile dilde makroskopik olarak önce ülser ve enflamasyon gelişti; üçüncü haftadan itibaren yara yerinde makroskopik olarak granülasyon dokusu gözlemlendi. İki grupta da ilk üç hafta içinde her uygulama sırasında görülen kanama giderek azaldı ve dördüncü haftadan itibaren yara yeri tabanının çevresinde "sertleşme" başladı. Sekizinci haftadan itibaren, iki grupta da sağ kalan hayvanların yarısında dilde lezyona komşu bölgelerde papiller ve nodüler oluşumlar görüldü. Dilde saptanan makroskopik bulgular yönünden (ortaya çıkan ülser ve enflamatuvar reaksiyonun sonlanma süresi, mukozal kanama süresi, fibrozis ve nodüler lezyonların görülme süresi ve oranı) iki grup arasında anlamlı fark bulunmadı (*p*>0.05).

Histopatolojik bulgular: İki grupta da değişik haftalarda ölen ya da yaşamlarına son verilen hayvanlarda lezyon sahası histopatolojik olarak incelendi. Tavşan dilinin normal histopatolojik görünümü Şekil 2'de gösterildi.

Normal dil görünümünden ilk sapma, birinci ay sonunda ölen ya da yaşamlarına son verilen deneklerin üçünde (selenyum grubundan 1, normal içme suyu grubundan 2 denek) gözlemlendi. Karsinojen uygulanan bölgede epitel dokunun tamamen ortadan kalktığı ve yerinde ülser geliştiği görüldü (Şekil 3). Ülser bölgesi çevresinde, çoğunluğu nötrofil lökosit-

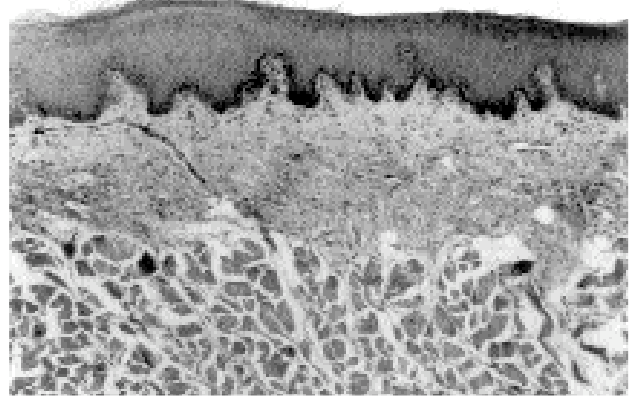
ler ve histiositlerden oluşan yangısal reaksiyon saptandı. Ülser kenarındaki çok katlı yassı epitel dokusunda dejenere epitel hücrelerinden oluşan keratoz ve parakeratoz görüldü. Selenyum verilen grupta gözlenen keratoz ve parakeratoz diğer gruba göre daha yoğun idi. Ancak, dördüncü haftada selenyum grubunda bir, normal içme suyu grubunda ise sadece iki hayvanın dil materyali incelenmiş olduğundan istatistiksel değerlendirme yapılmadı.

İkinci ay sonunda yaşamlarına son verilen iki tavşanın (selenyum grubundan 1, normal içme suyu grubundan 1 denek) karsinojen uygulanan ülser dil sahasının etrafındaki epitel dokusunda hiperplazi ve dejeneratif değişiklikler saptandı ve bu görünümdeki hücrelerin subepitelyal alana doğru uzantılar yaptığı görüldü. Subepitelyal alanda mononükleer hücre infiltrasyonu ve yoğun fibrozisten oluşan kronik yangısal reaksiyon izlendi. Ülser merkezinde reaktif yangısal olay, komşu subepitelyal alanda kronik enflamasyon gözlemlendi. Bazal membrana komşu epitel içinde her mikroskop sahasında, sadece 1-2 mitotik hücre saptandı. İki gruptaki materyaller arasında saptanan tek fark, normal içme suyu verilen tavşana ait dil lezyonunda, ülser sahasının etrafındaki epitelde dejeneratif değişikliklerin yanı sıra yer yer rejeneratif atipi olarak yorumlanan alanların varlığı idi. Bu durum, epitel yenilenmesine bağlı hücresel atipi olarak değerlendirildi (Şekil 4). Ancak, bu görünüm patoloğ tarafından displazi olarak yorumlanmadı.

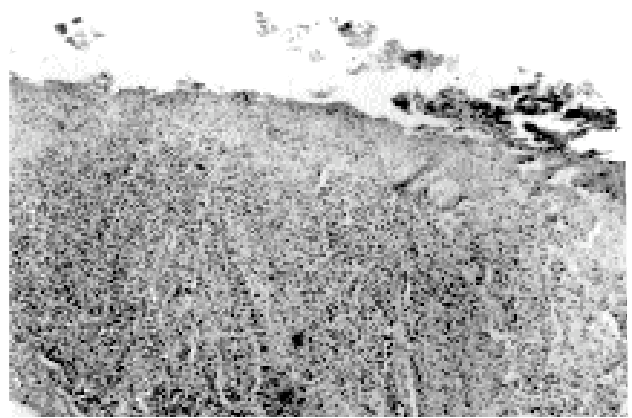
Üçüncü ay sonunda (12. haftada her gruptan bir deneğin yaşamına son verilirken, 14. haftada grup 1'den bir, grup 2'den ölen iki tavşan değerlendirilmeye alındı), normal içme suyu alan gruptaki üç tavşanın dil kesitlerinde epitel tabakasının alt 1/3'lük bölümünde mitotik hücreler ve atipik hücre görünimleri (polikromazi, hiperkromazi, anizositoz, anizokleoz) saptandı. Bu görünüm epitelin sadece 1/3 bazal kısmında olması nedeniyle "hafif displazi" olarak değerlendirildi (Şekil 5). Selenyum grubundaki iki tavşanda ise, ülser kenarında izlenen yenilenme faaliyeti ve yer yer fibrozis dışında histopatolojik değişiklik saptanmadı.

Dördüncü ay sonunda (16. haftada her gruptan bir deneğin yaşamına son verilirken, 18. haftada grup 1'den bir, grup 2'den ölen iki tavşan değerlendirilmeye alındı), normal içme suyu grubundaki üç tavşanın ikisinde orta derece displazi (epitelin 2/3 alt ve orta kısmını tutan nükleus hiperkromazisi ve

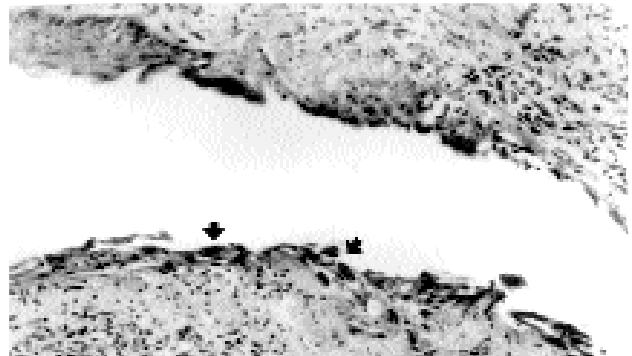
pleomorfizm ile kendini gösteren hücresel atipi), birinde orta displazi saptandı (Şekil 6). Selenyum grubunda, incelenen iki dil materyalinin hiçbirinde derecede bile olsa displazi izlenmedi; kenarlarda aktif



Şekil 2 - Işık mikroskopunda normal tavşan dilinin histopatolojik görünümü (H-E x 40).



Şekil 3 - Epitel tabakasının ortadan kalktığı, kenarda parçalanmış epitel dokusunun görüldüğü ülser (birinci ay sonunda, normal içme suyu grubundan tavşana ait ışık mikroskopu görüntüsü; H-E x 100).



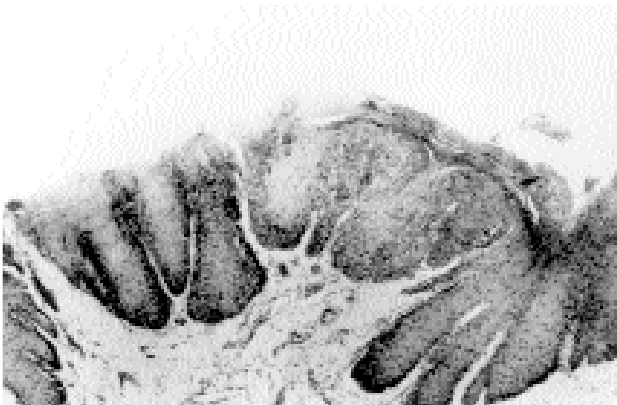
Şekil 4 - Rejeneratif atipi, ülser sahasının etrafındaki epitelde yenilenmeye bağlı hücresel atipi (ikinci ay sonunda normal içme suyu grubundan tavşana ait ışık mikroskopu görüntüsü; H-E x 200).

yenilenme faaliyeti ile birlikte ülser ve yer yer fibrozis alanları görüldü.

Yirminci hafta sonunda tüm deneklerin yaşamına son verildi (selenyum grubunda altı, normal içme suyu grubunda 10 denek). Ayrıca, normal içme



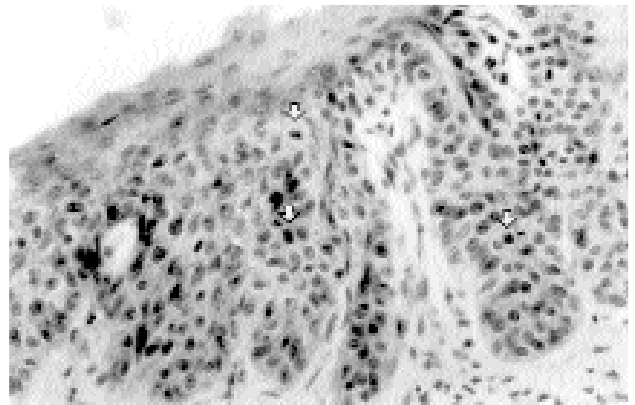
Şekil 5 - Epitel tabakasının 1/3 alt bölümünü işgal eden mitoz ve belirgin nükleus hiperkromazisi ve pleomorfizm ile kendini gösteren hücresel atipi (hafif displazi). (Üçüncü ay sonunda normal içme suyu grubundan tavşana ait ışık mikroskobu görüntüsü; H-E x 400).



Şekil 6 - Epitel tabakasının yarısından fazlasını işgal eden mitoz ve belirgin nükleus hiperkromazisi ve pleomorfizm ile kendini gösteren hücresel atipi (orta displazi). (Üçüncü ayın sonunda normal içme suyu grubundan tavşana ait ışık mikroskobu görüntüsü; H-E x 400).

suyu grubunda 19. haftanın sonunda kendiliğinden ölen ve nekropsisi yapılan iki deneğin histopatolojik bulguları da bu gruba alındı. Normal içme suyu alan gruptaki 12 hayvandan birinde hafif displazi, beşinde orta derecede displazi görülürken, ikisinde epitel tabakasının 2/3'ünden fazlasını kaplayan mitoz, nükleus hiperkromazisi ve pleomorfizm ile kendini gösteren hücresel atipi (ağır displazi) saptandı (Şekil 7). Üç tavşanda epiteldeki mitoz, nükleus hiperkromazisi ve pleomorfizm ile belirginleşen hücresel atipinin epitel tabakasının tamamını kapladığı (in situ karsinom) görüldü (Şekil 8). Bir tavşanda kenarlarında orta derecede yenilenme faaliyeti olan ve tabanında yoğun fibrozis bulunan ülser sahası izlendi; ancak, displazi olarak yorumlanabilecek değişiklik saptanmadı. Selenyum verilen grupta ise yalnızca iki hayvanda epitelin alt kısmında hafif displazi olarak yorumlanabilecek hücresel atipi saptandı.

Çalışmaya alınan 36 tavşan birlikte değerlendirildiğinde, selenyum verilen grupta %16.7 oranında (2/12) displazi görüldü. Normal içme suyu verilen tavşanlarda bu oran %66.7 (16/24) idi. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.0001$) (Tablo II). In situ karsinom ise yalnızca normal içme suyu alan grupta saptanmış olmakla birlikte, gruplardaki hayvan sayısının azlığından dolayı bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$). İki grup arasında diğer histopatolojik parametrelerin (ülser, iltihabi hücre infiltrasyonu, hiperplazi, yenilenme faaliyeti) hiçbirinde anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0.05$).

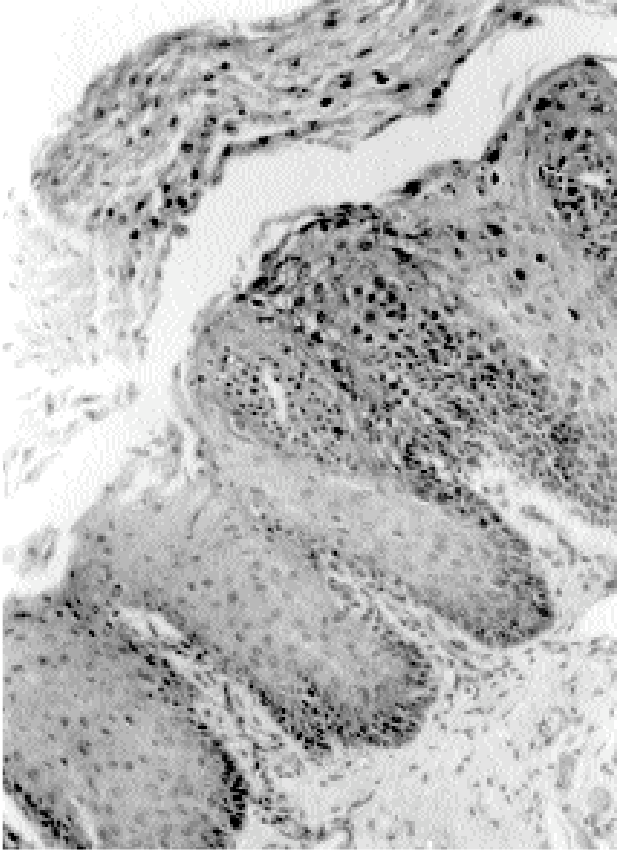


Şekil 7 - Epitel tabakasının 2/3'den fazlasını işgal eden mitoz ve belirgin nükleus hiperkromazisi ve pleomorfizm ile kendini gösteren hücresel atipi (ağır displazi). (Beşinci ay sonunda normal içme suyu grubundan tavşana ait ışık mikroskobu görüntüsü; H-E x 400).

Lenf nodları ve akciğerlerin histopatolojik incelenmesi: Tavşanların boyun lenf nodlarında makroskobik ya da mikroskobik olarak herhangi bir patolojik lezyon saptanmadı. Akciğerlerin incelenmesinde, pasterellozis bronkopnömonisine bağlı akciğer lezyonları dışında herhangi bir lezyon görülmedi.

TARTIŞMA

Literatür incelendiğinde, ağız boşluğunda kanser modeli için kullanılan deney hayvanlarının genellikle Suriye hamsterleri ve sıçanlar olduğu görülmektedir.^[3-8,10-12,14,25] Ancak, ülkemizdeki pek çok araştırma merkezinde hamster bulmak mümkün olmamaktadır. Sıçanlar, ülkemizde kolay elde edilebilen deney hayvanları olmakla birlikte, dil ve ağız boşluğunda lezyon yaratılması süreci kolay değildir. Çalışmamız, ülkemizde çok kolay bulunan, bakımı kolay ve üzerinde çalışılması diğerlerine oranla sorun-



Şekil 8 - Epitelin tamamını işgal ederek, epitel dışına taşınan mitoz ve belirgin nükleus hiperkromazisi ile kendini gösteren hücresel atipi (karsinoma in situ). (Beşinci ay sonunda normal içme suyu grubundan tavşana ait ışık mikroskobu görüntüsü; H-E x 200).

suz olan Yeni Zelanda tavşanlarının üst solunum yolu karsinogenezi üzerine yapılacak çalışmalar için iyi bir model olduğunu göstermiştir.

Çalışmamızda, Yeni Zelanda tavşanlarının dil yan kısımlarına karsinojen (DMBA), kimyasal irrtan (aseton) ve fizik irrtasyon (fırçalama) uygulayarak dil kanseri patogenezi de rol oynayan üç faktörün de kullanıldığı bir modelde, in situ karsinom evresine kadar karsinogenezi sürecini izlemiş olduk. Bu süreç, gerek makroskobik gerekse mikroskobik bulgularıyla açıkça ortaya konmuş; fiziksel ve kimyasal irrtanların kimyasal karsinojenin etkisini nasıl kolaylaştırdığı görülmüştür. Bu bulgular, başta dil olmak üzere, üst solunum ve sindirim yolu kanserlerinin gelişmesinde rol oynayan karsinojen dışı fizik ve kimyasal irrtanların (alkol, oklüzyon bozukluğu, kötü ağız hijyeni)^[1,10] bu süreçteki rolünü desteklemektedir. Ayrıca, aynı ortam ve koşullarda tutulan ve aynı şekilde fizik ve kimyasal irrtasyona ve karsinojene maruz bırakılan hayvanların bir kısmında displazik değişiklik saptanmaması ya da geç dönemde saptanması da genetik faktörlerin bu süreçteki rolüne işaret etmektedir.

Bu çalışmada saptanan önemli bir bulgu da, selenyum eklenen içme suyu alan hayvanlarda, normal içme suyu alanlara göre çok daha geç dönemde ve hafif bir displazinin ortaya çıkmasıdır. Selenyum verilen grupta (grup 1), displazik değişikliklerle ilk kez 20. haftada karşılaşılırken, diğer grupta (grup 2) 12. haftadan itibaren karşılaşılmıştır. Çalışma süresince,

TABLO II

NORMAL İÇME SUYU ALAN VE İÇME SULARINA SELENYUM EKLENMİŞ TAVŞANLARDAN ELDE EDİLEN HİSTOPATOLOJİK BULGULARIN KARŞILAŞTIRILMASI

	Selenyumlu içme suyu (n=12)	Normal içme suyu (n=24)
Ülser	12/12	24/24
İltihabi hücre infiltrasyonu	12/12	24/24
Hiperplazi	12/12	24/24
Rejenerasyon	12/12	24/24
Displazi	2/12	13/24
Hafif	2/12	4/24
Orta	0/12	7/24
Ağır	0/12	2/24
Karsinoma in situ	0/12	3/24

selenyum grubunda %16.7 oranında hafif displazi görülürken, normal içme suyu grubundaki tavşanların %66.7'sinde değişik derecelerde displazi ve in situ karsinom saptanmıştır. Çalışmanın sonlandırıldığı 19 ve 20. haftalarda yaşamlarına son verilen tavşanlar göz önüne alındığında, normal içme suyu grubundaki 12 tavşanın 11'inde (%91.7) displazi ya da in situ karsinom saptanmıştır. İstatistiksel olarak bu değer selenyum alan gruba göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmektedir ($p < 0.001$).

Bu sonuçlara göre, selenyum alan grupta displazi gelişimi kontrol grubuna göre sekiz hafta daha geç ortaya çıkmış ve hafif displazi derecesini geçmemiştir. Bu bulgu, selenyumun kimyasal karsinogenezis sürecinde önleyici ya da geciktirici bir role sahip olduğu şeklindeki yayınları desteklemektedir.^[7,12,17,18,21,23,26] Üst solunum ve sindirim sisteminde DMBA ile yaratılan deneysel kanser modellerinde, kanser 12-30. haftalar arasında ortaya çıkarken, selenyumun alan gruplarda kanser gelişmesi 20-30. haftalarda başlamaktadır.^[2,4,5,12,22-24,27]

Selenyumun karsinogenezis sürecindeki rolünün değerlendirildiği ekolojik, epidemiyolojik, klinik ve deneysel hayvan çalışmalarında antikanserojen etkileri olduğu bildirilmiştir.^[13,15-17,19-22] Periyodik tablonun 6A grubunda yer alan bu elementin serumdaki 1 μmol 'ün altındaki serbest selenyum seviyeleri hücre proliferasyonunu uyarırken, 5 μmol 'ün üstündeki seviyeler ise hücre proliferasyonunu inhibe etmektedir.^[22] İnsanlarda serumdaki serbest selenyum seviyeleri 2-5 μmol arasında değişmekle birlikte, 100 μmol 'e kadar artış gösteren değerler de bildirilmiştir.^[26]

Selenyumun karsinogenetik süreçteki rolü henüz tam olarak bilinmemekle birlikte, başlıca üç mekanizma üzerinde durulmaktadır: (i) Glutasyon peroksidaz enziminin integral kısmında yer alarak DNA'yı serbest radikal hasarına karşı koruduğu gösterilmiştir. (ii) Kanser hücrelerinde fenotipik değişime katkıda bulunan tioredoksin (thioredoxin) redüksiyonunu katalizleyen selenosistein içeren tioredoksin redüktaz üzerinden antikarsinojen etki yaptığına dair güçlü kanıtlar vardır. (iii) Karsinogenetik ajanla yarışmaya girerek DNA'ya bağlanmasını engellediği üzerinde durulmaktadır.^[12,13,20,23,25] Çalışmamızda elde edilen sonuçlar, selenyumun kimyasal karsinogenezisi geciktirici bir etki gösterdiğini desteklemektedir.

Bu bilgiler ışığında, üst solunum ve sindirim sisteminin sık olarak kimyasal karsinojenlere maruz

kaldığı kişilerde (örneğin sigara kullanımı), ek selenyum alımının olumlu etkide bulunduğu söylenebilir. Ancak, kullanılan içme suyu ve yemek tuzundaki selenyum miktarındaki bölgesel farklılıkların ve sürekli ek selenyum alınmasının diğer elementlerin absorpsiyonunu ne şekilde etkilediğinin de irdelenmesi gerekir.

Yazarların notu

Çalışmanın planlanması ve başlangıcı (1998) fakültemizde etik kurul komitesi kurulmasından önce olduğundan, çalışma için etik kurul onayı bulunmamaktadır. Ancak hayvanlara yapılan işlemler ve öldürülmeleri uluslararası etik kurallar çerçevesinde yapılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL, editors. Neoplasia. In: Basic pathology. 6th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1997. p. 132-74.
2. Odukoya O, Schwartz J, Weichselbaum R, Shklar G. An epidermoid carcinoma cell line derived from hamster 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced buccal pouch tumors. J Natl Cancer Inst 1983;71:1253-64.
3. Dachi SF. Experimental production of carcinomas of the hamster tongue. J Dent Res 1967;46:1480.
4. Fujita K, Kaku T, Sasaki M, Onoe T. Experimental production of lingual carcinomas in hamsters by local application of 9, 10-dimethyl-1, 2-benzanthracene. J Dent Res 1973;52:327-32.
5. Goodwin WJ Jr, Bordash GD, Huijing F, Altman N. Inhibition of hamster tongue carcinogenesis by selenium and retinoic acid. Ann Otol Rhinol Laryngol 1986; 95(2 Pt 1):162-6.
6. Shklar G. The effect of cortisone on the induction and development of hamster-pouch carcinomas. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1967;23:241-8.
7. Ohtake K, Shingaki S, Nakajima T. A model for the study of lymph node metastasis from oral carcinoma by serial transplantation of metastatic tumor in hamsters. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1990;69:701-7.
8. Ohtake K, Shingaki S, Nakajima T. Effects of incision and irradiation on regional lymph node metastasis in carcinoma of the hamster tongue. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1990;70:62-9.
9. Kim TW, Chen Q, Shen X, Regezi JA, Ramos DM, Tanaka H, et al. Oral mucosal carcinogenesis in SENCAR mice. Anticancer Res 2002;22:2733-40.
10. Balasenthil S, Saroja M, Ramachandran CR, Nagini S. Of humans and hamsters: comparative analysis of lipid peroxidation, glutathione, and glutathione-dependent enzymes during oral carcinogenesis. Br J Oral Maxillofac Surg 2000;38:267-70.
11. Li N, Han C, Chen J. Tea preparations protect against DMBA-induced oral carcinogenesis in hamsters. Nutr Cancer 1999;35:73-9.
12. Goodwin WJ Jr, Bordash GD, Xue JW, Huijing F,

- Altman N. Selenium inhibition of chemical carcinogenesis in the upper aerodigestive tract of hamsters. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1985;93:373-9.
13. Griffin AC. Role of selenium in the chemoprevention of cancer. *Adv Cancer Res* 1979;29:419-42.
 14. Broghamer WL, McConnell KP, Blotcky AL. Relationship between serum selenium levels and patients with carcinoma. *Cancer* 1976;37:1384-8.
 15. Shamberger RJ, Tytko SA, Willis CE. Antioxidants and cancer. Part VI. Selenium and age-adjusted human cancer mortality. *Arch Environ Health* 1976; 31:231-5.
 16. Willett WC, Polk BF, Morris JS, Stampfer MJ, Pressel S, Rosner B, et al. Prediagnostic serum selenium and risk of cancer. *Lancet* 1983;2:130-4.
 17. Salonen JT, Salonen R, Lappetelainen R, Maenpaa PH, Alfthan G, Puska P. Risk of cancer in relation to serum concentrations of selenium and vitamins A and E: matched case-control analysis of prospective data. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1985;290:417-20.
 18. Jaskiewicz K, Marasas WF, Rossouw JE, Van Niekerk FE, Heine Tech EW. Selenium and other mineral elements in populations at risk for esophageal cancer. *Cancer* 1988;62:2635-9.
 19. Golczewski JA, Frenkel GD. Cellular selenoproteins and the effects of selenite on cell proliferation. *Biol Trace Elem Res* 1989;20:115-26.
 20. Gallegos A, Berggren M, Gasdaska JR, Powis G. Mechanisms of the regulation of thioredoxin reductase activity in cancer cells by the chemopreventive agent selenium. *Cancer Res* 1997;57:4965-70.
 21. Goodwin WJ Jr, Bordash GD, Huijing F, Altman N. Inhibition of hamster tongue carcinogenesis by selenium and retinoic acid. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1986; 95(2 Pt 1):162-6.
 22. Harr JR, Exon JH, Weswig PH, Whanger PD. Relationship of dietary selenium concentration; chemical cancer induction; and tissue concentration of selenium in rats. *Clin Toxicol* 1973;6:487-95.
 23. Ip C. Prophylaxis of mammary neoplasia by selenium supplementation in the initiation and promotion phases of chemical carcinogenesis. *Cancer Res* 1981;41(11 Pt 1):4386-90.
 24. Odukoya O, Hawach F, Shklar G. Retardation of experimental oral cancer by topical vitamin E. *Nutr Cancer* 1984;6:98-104.
 25. Berggren M, Gallegos A, Gasdaska J, Powis G. Cellular thioredoxin reductase activity is regulated by selenium. *Anticancer Res* 1997;17(5A):3377-80.
 26. Goodwin WJ Jr, Lane HW, Bradford K, Marshall MV, Griffin AC, Geopfert H, et al. Selenium and glutathione peroxidase levels in patients with epidermoid carcinoma of the oral cavity and oropharynx. *Cancer* 1983;51:110-5.
 27. Shklar G. Experimental oral pathology in the Syrian hamster. *Prog Exp Tumor Res* 1972;16:518-38.