

DIETİLSTİLBESTROL UYGULANAN FARELERDE KROMOZOMAL ABERASYONLAR VE GENİTAL HISTOPATOLOJİLERİNİN İNCELENMESİ

Dr. İsmihan GÖZE*, Dr. Fahrettin GÖZE**, Dr. Ahmet ÇOLAK***

ÖZET: Çalışmada bir, iki ve üç aylık sürelerle 6µg/gün/fare dozunda dietilstilbestrol (DES) uygulanan farelerin kemik iliği alınarak kromozomları ve genital organlarındaki histopatolojik değişiklikler incelendi. Bir, iki ve üç ay DES uygulanan farelerin kromozomlarındaki toplam sayısal ve yapısal anomaliler, kontrol grubu değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı sayı artışı izlendi ($p<0,05$). Bu grupların tümünde histopatolojik olarak adenoskuamöz metaplaziyle birlikte iltihap, endometriumda hafiften şiddetliye kadar varan değişik derecelerde hiperplazi ve kavitede sineşiler (yapışıklıklar) görüldü. Üç ay DES alan grupta servikte kuvvetli goblet hücre hiperplazisi saptandı. Buna ilave olarak iki ay ve üç ay ilaç verilen grupta anafaz köprüsü ve mikroçekirdek bulgusu dikkat çekti.

ANAHTAR KELİMELEER: Dietilstilbestrol, kromozom, fare, genital organ.

SUMMARY: EXAMINATION OF THE CHROMOSOMAL ABERRATIONS AND GENITAL ORGAN HISTOPATHOLOGY IN MICE AFFECTED BY DIETHYLSTILBESTROL.

In the present study, histopathology of the genital organs and the chromosomes in the bone marrow of the mice that were subjected to the doses of 6µg/day/ mouse of DES for 1, 2 and 3 months periods were examined. A significant increase in the number of chromosomes and structural anomalies have been observed statistically in mice subjected to DES directly ($p<0,05$). The findings showed histologically, adenosquamous metaplasia in addition to inflammation, endometrial hyperplasia ranged from mild to severe and adhesions in the endometrial cavity in all the groups; severe hyperplasia of goblet cells was found in the group which was exposed to DES for 3 months. In addition, in the groups directly affected by the drug, for 1 and 2 month period the increase in the number of the micronuclei and the anaphase-bridge attracted attention.

KEY WORDS: Diethylstilbestrol, chromosome, mouse, genital organ.

GİRİŞ

DES steroid yapıda olmayan bir sentetik östrojendir ve östrojenlerin etkisini taklit eder. İlk sentetize edildiğinden beri hayvancılık ve klinik alanda geniş kullanım sahası bulmuştur (1). Bazı araştırmalarda DES ile etkilenen kadınların kız çocuklarında genç kızlık döneminde veya daha sonra vagina ve servikte adenozis görüldüğü gibi, berrak hücreli adenokarsinom riskinin normal popülasyona göre fazla olduğu bulunmuştur (1-8). Bir araştırmada ise üçüncü jenerasyonda bile etkili olabileceği söylenmektedir (9). Fetal dönemde DES'e maruz kalan erkek çocuklarda ise azoospermi ve kısırlık rapor edilmiştir (10). Gebelikte DES alan kadınlarda meme kanseri riskinin arttığı iddiası halen tartışmalıdır (11,12). Ayrıca kromozomlarda aneuploidiye neden olduğu bildirilmiştir (13).

Hayvan organizmasında azot retansiyonunu artırıcı maddeler olarak tanımlanan anabolizanlar, et ve et ürünlerinde yapısal değişiklikler oluşturur ve kalıntı bırakabilirler (1). DES 1947 yılında kanatlılarda, 1954'de siğirilerde anabolizan olarak kullanılmaya başlanmış, ancak 1974 yılında hormonal etkilerinin dışında kanserojen etkilerinin tesbit edilmesinden dolayı yasaklanmıştır (14,15). Avrupa Topluluğu ülkelerinde hormonlu etlerin ithali ve kasaplık hayvanlarda anabolizan kullanımı durdurulmuş, etlerde kalıntı düzeyleri Radio Immuno Assay (RIA), ince tabaka kromatografisi (Thin Layer Chromatography) (TLC) gibi hassas yöntemlerle ölçülerek kontrol altına alınmıştır (14). Türkiye'de ise anabolizan kontrolü ithal edilen etlerde yapılırken, yurt içindeki besi çiftliklerinde tam olarak yapılmamaktadır. 1734 sayılı Yem Yönetmeliğine göre yemlere anabolizan ilavesi yasaktır. Buna rağmen bazı yemlerde DES varlığı saptanmıştır (15).

Gerek ilaçla, gerek et ve et ürünleri ile organizmayı doğrudan veya dolaylı yolla etkileyen DES, karsinojenik ve teratojenik özellikleri ile toplum sağlığını ciddi olarak tehdit etmek-

tedir. Hayvan deneyleri ile de doğrulanan bu etkilerinin mekanizmalarının en yeni yöntemlerle açıklanması problem sorumuzu teşkil etmektedir. Araştırmamızda DES'in belirli dozda ve farklı sürelerle uygulanmasının, kromozomlara ve genital organ histopatolojisine etkilerini araştırmayı amaçladık.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada dört haftalık ortalama 25 gr ağırlığında (Mus musculus var. albino) 42 fare kullanıldı. Onar farelik üç deney ve oniki farelik bir kontrol olmak üzere dört grup hazırlandı, 6 µg/gün/ fare dozunda DES mısır yağında çözülüp ve 1, 2, 3 aylık sürelerle deneklere oral gavaj yolu ile verildi. Kontrol grubundaki hayvanlara ise çözücü olarak kullanılan mısır yağı aynı yolla uygulandı. Periyotların sonunda farelere 0,1 ml kolşisin (4 µg/gr) intraperitoneal injekte edildi ve 2 saat sonra servikal dislokasyonla öldürüldü. Kemik ilikleri fetal dana serumuna alınıp 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Pelet 15 dakika hipotonikte 37°C'de bekletildi. Bu süre sonunda aynı rpm de santrifüj edildi. Elde edilen pelet üç kez fiksatif ile yıkandı (metanol/glasial asetik asit; 3/1). Kalan hücre süspansiyonu lama yayıldı ve Giemsa yöntemi ile boyandı. Ayrıca preparatlar G bant tekniği ile bantlandı (16). Her fare için 100 metafaz sahası değerlendirildi.

Test bileşiği uygulanan farelerden elde edilenler ile kontrol grubu farelerden elde edilen metafaz örneklerinde kromozom anomalileri incelendi. Veriler "iki yüzde arasındaki farkın önemlilik testi" ile değerlendirildi (17).

Mitotik indeks, sayılan 1000 hücre içinde metafaza girenlerin tespiti ile saptandı.

Histopatolojik inceleme rutin yöntemlerle yapıldı. Alınan doku örnekleri rutin H.E. yöntemi ile boyanıp ışık mikroskopi ile incelendi.

BULGULAR

I-Bir, iki ve üç ay DES uygulanan gruplarda görülen sayısal ve yapısal anomali bulguları Tablo 1' ve 2'de verilmiştir. Buna göre:

* Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu
** Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı
*** Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

TABLO 1: SAYISAL KROMOZOM ANOMALİSİ VERİLERİ

Gruplar	Sayılan Metafaz	Hipodiploidi (%)	Hiperdiploidi (%)	Poliploidi (%)	Toplam Anöploidi (%)
1 ay DES n=10	100	11.6	7.0	—	18.6
2 ay DES n=10	100	12.6	8.0	1	21.6
3 ay DES n=10	100	14.8	7.8	2	24.6
Kontrol n=12	100	8.4	5.0	-	13.4
		$t=[\bar{X}_2-\bar{X}_k]=2,11$ $t=[\bar{X}_3-\bar{X}_k]=3,36$ $p<0,05$	$t=[\bar{X}_2-\bar{X}_k]=2$ $t=[\bar{X}_3-\bar{X}_k]=2$ $p<0,05$	-	$t=[\bar{X}_1-\bar{X}_3]=2$ $t=[\bar{X}_1-\bar{X}_k]=2,26$ $t=[\bar{X}_2-\bar{X}_k]=3,04$ $t=[\bar{X}_3-\bar{X}_k]=4,16$ $p<0,05$

TABLO 2: YAPISAL KROMOZOM ANOMALİSİ VERİLERİ

Gruplar	Sayılan Metafaz	ring (%)	Telom. bağ. (%)	Sent. Bağ (%)	Top. Aneoploidi (%)
1 ay DES n=10	100	2.0	2.4	4.2	8.6
2 ay DES n=10	100	3.1	4.8	6.4	14.3
3 ay DES n=10	100	2.2	6.0	8.2	16.4
Kontrol n=12	100	2.0	1.8	1.4	5.2
			$t=[\bar{X}_1-\bar{X}_2]=2.33$ $t=[\bar{X}_2-\bar{X}_3]=2.67$ $t=[\bar{X}_2-\bar{X}_k]=3.45$ $t=[\bar{X}_3-\bar{X}_k]=3.5$ $p<0,05$	$t=[\bar{X}_1-\bar{X}_3]=2.85$ $t=[\bar{X}_1-\bar{X}_k]=2.8$ $t=[\bar{X}_2-\bar{X}_k]=4.16$ $t=[\bar{X}_3-\bar{X}_k]=5.2$ $p<0,05$	$t=[\bar{X}_1-\bar{X}_2]=3.1$ $t=[\bar{X}_1-\bar{X}_3]=3.52$ $t=[\bar{X}_1-\bar{X}_k]=2.37$ $t=[\bar{X}_2-\bar{X}_k]=5.29$ $t=[\bar{X}_3-\bar{X}_k]=5.78$ $p<0,05$

TABLO 3: MİTOTİK İNDEKS DEĞERLERİ

Gruplar	Sayılan hücre	Mitotik indeks	%	Karar
1 ay DES n=10	1000	56	5.6	$t=0.627, p>0.05$
2 ay DES n=10	1000	58	5.8	$t=0.744, p>0.05$
3 ay DES n=10	1000	60	6.0	$t=1.334, p>0.05$
Kontrol	1000	51	5.1	

I-A) Sayısal anomali değerlendirmesinde hipodiploidi ve hiperdiploidi yönünden gruplar incelendiğinde, iki ay ve üç ay ilaç verilen gruplarla kontrol grubu arası fark istatistiksel olarak "anlamlı" bulundu ($p<0,05^*$).

Poliploidi ise sadece iki ve üç ay DES alan grupta gözlemlendi ve gruplar arası fark "anlamsız" bulundu ($p>0,05$). (Resim 1).

Toplam anöploidi incelemesinde 1,2 ve 3 ay süre ile ilaç uygulanan grupların tümü kontrol grubu ile karşılaştırılınca fark "anlamlı" olarak bulundu ($p<0,05^*$). Ayrıca 1 ay ve 3 ay ilaç verilen grupta da gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05^*$).

I-B) Yapısal anomali incelemesi ise G bant uygulanan kromozomlardaki yapısal farklılaşmanın izlenmesi ile yapılmıştır.

Ring yapı tüm gruplarda anlamsız olarak bulundu ($p>0,05$).

Telomerden tek kromatid birleşmesi bir ve iki ay; bir ve üç ay; iki ay ve kontrol; üç ay ve kontrol gruplarında anlamlı bulundu ($p<0,05$).

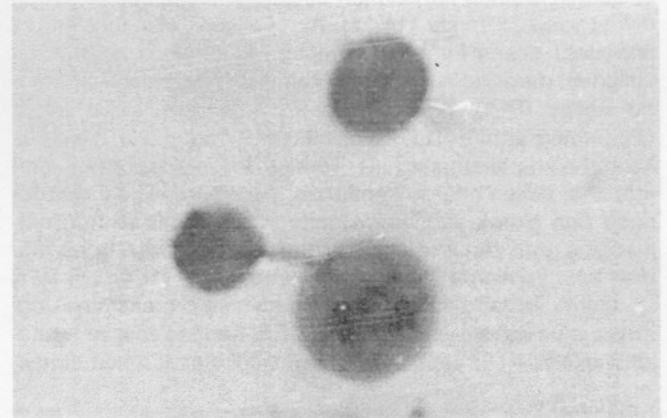
Sentromerden birleşme değerleri incelendiğinde; bir ve üç ay; bir ay ve kontrol; iki ay ile kontrol ve üç ay ile kontrol grupları arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05^*$).

Toplam yapısal anomali değerlendirmesinde bir ve iki ay; bir ve üç ay; 1 ay, 2 ay ve üç ay ilaç verilen gruplarla kontrol grupları arasındaki fark anlamlı bulundu ($p<0,05^*$).

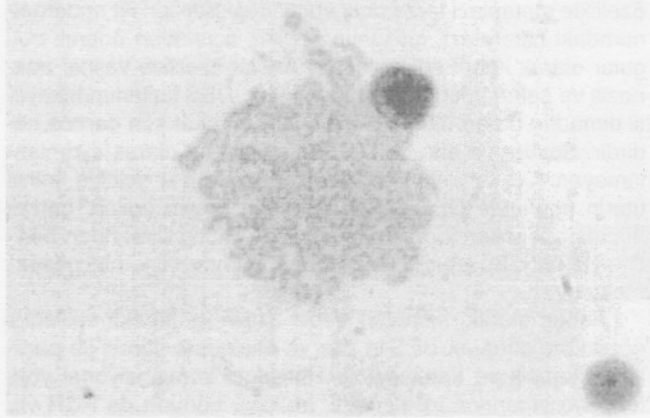
II- Kontrol gruplarında hiç görülmeyen anafaz köprüsü ve mikroçekirdek bulgusu tüm gruplarda dikkat çekti. Bir ay DES verilen grupta daha az rastlanırken iki ve üç aylık gruplarda çok sık rastlandı. (Resim 2).

III- Mitotik indeks tesbiti için her grupta bulunan deneklerden 1000 hücre sayıldı. Sonuçlar tüm gruplarda anlamsız bulundu ($p>0,05$) (Tablo 3).

IV- Histopatolojik incelemede; 1 ay DES verilen grupta genital sistemde en çok dikkati çeken değişiklikler, serviks, epitelinde papillomatöz kalınlaşma, kuvvetli goblet hücre hiperplazisi (Resim 3A), endoservikal bezlerde hiperplazi, endometrial bezlerde kistik değişiklikler ile birlikte hiperplazi

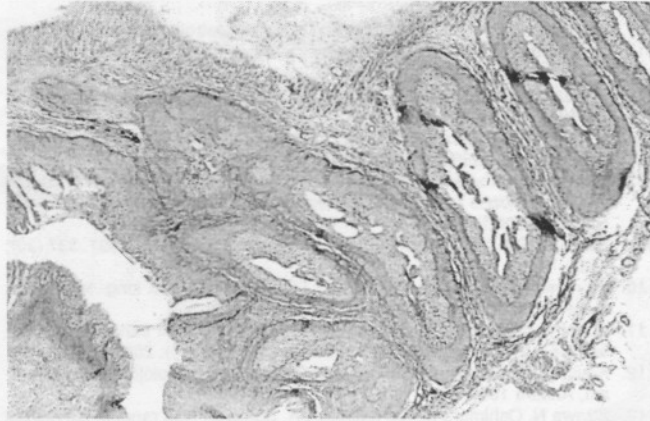


Resim 1: DES etkisi ile haploid kromozom sayılarının katları kadar artarak oluşturdıkları Poliploidi anomali gösteren metafaz sahası (Giemsa x750)

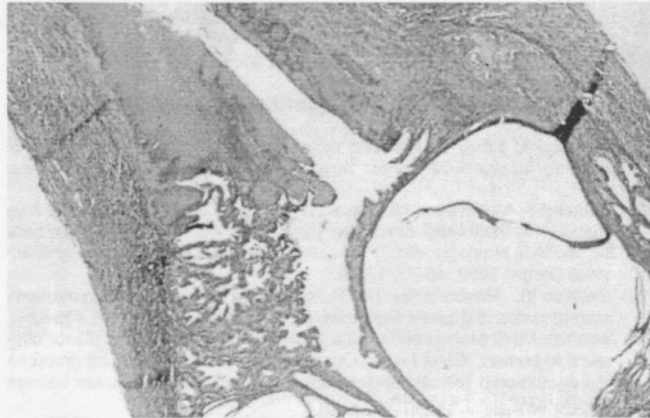


Resim 2: Anafaz sırasında tam bölünememe sonucu oluşan anafaz köprüsü (Giemsa x750).

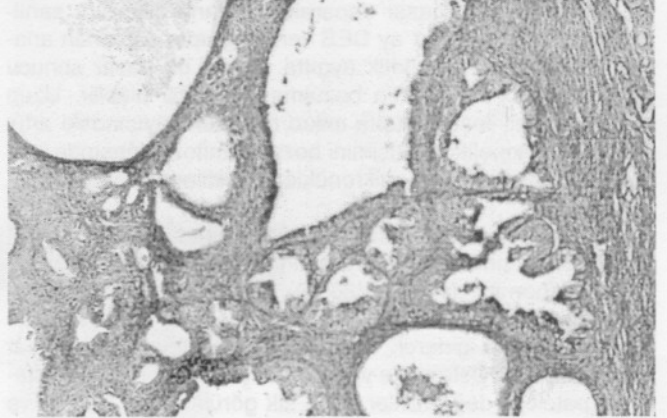
(Resim 3B) olarak görüldü. İki ay DES verilenlerde ise endoservikal ve endometrial bezlerde kistik hiperplazi ve sineşi, bez epitellerinde oldukça kuvvetli proliferasyon gözlemlendi (Resim 4). Üç ay DES alanlarda deneklerin hemen hepsinde servikal kanal epitelinde kuvvetli papillomatöz epitel proliferasyonu, yer yer müsinöz epitel çoğalması, intraepidermal diskaratotik hücreler ile birlikte flegmon tarzında olmak üzere kuvvetli iltihap görüldü (Resim 5).



Resim 3A: 1 ay DES verilen grupta endoserviksde skuamöz metaplazi ve kuvvetli goblet hücre hiperplazisi (H.E x75).



Resim 3B: Aynı grupta bir başka denekte endoservikal bezlerde hiperplazi, endometrial bezlerde kistik değişiklikler, serviks epitelinde papillomatöz kalınlaşma (H.E x75)



Resim 4: 2 ay DES alan grupta endoservikal kanal bezlerinde epitel proliferasyonları ve hiperplastik değişiklikler (H.E x75)



Resim 5: 3 ay DES alan grupta serviks epitelinde kuvvetli papillomatöz proliferasyon, epitel içinde çok sayıda diskaratotik hücreler ve subepitelyal alanda ödem ve iltihabi filtrasyon (H.E x150)

TARTIŞMA

Kimyasal mutajenez ve karsinogenez deneylerinden elde edilen sonuçlar pek çok karsinojen ve mutajenin aynı zamanda anöploidi indükleyicisi olduğunu göstermektedir (18-20). Anöploidi oluşturan kimyasalların risk düzeylerinin belirlenmesinde sitogenetik yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü IARC Çalışma Grubunun (World Health Organisation International Agency for Research on Cancer Working Group) insanlarda karsinojenik maddelerin risk değerlendirmesine ait raporunda DES için "20-30 yaş arası kadınlarda hamilelik süresince DES kullanımı vajina ve servikal berrak hücreli adenokarsinoma riskini artır" denmektedir (21). Günümüzde bunu destekler nitelikte çalışmalar vardır (3-6,8). DES ile yapılan çeşitli araştırmalarda kromozomlarda çeşitli bozukluklara neden olduğu iddia edilmektedir (13,19-25). Ekmekçi ve arkadaşları farelere 10, 20 ve 100 mg/lık tek dozlarda DES uygulamış ve 100 mg tek doz DES verilen farelerin kromozomlarında ring kromozom şeklinde yapısal ve anöploidi tarzında sayısal anomaliler saptamışlardır (19). Çalışmada 6 µg günlük doz 1,2 ve 3 aylık sürelerle farelere verilmiş ve DES ile etkileşim süresinin kromozomal anomaliler üzerine etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, diğer araştırmalar ile paralellik taşımaktadır. DES ile uzun süre etkilenen gruplarda görülen anomali fazlalığı dikkat çekicidir. DES'in anöploidi frekansında artışa yol açtığı, bunu

da mitotik aygıtta hasar yaparak meydana çıkardığı sanılmaktadır (25). İki ve 3 ay DES verilen grupta saptanan anafaz köprüsü artışı, mitotik aygıtta oluşan bir hasar sonucu mikrotübül topluluklarının bozulmasına bağlı olabilir. Uzun süre ilaçla etkileşen grupta mikro çekirdek sayısındaki artış ise, DES'in kinetikor iletişimini bozarak mitoz esnasında kromatin elementlerinden mikronükleus şekillendiğini düşündürbilir.

Östrojen ve benzerlerinin endometriumda önce hiperplazi, sonra karsinom meydana getirebileceği 60'lı yıllardan itibaren bilinen bir gerçektir (26-29). Bugüne kadar bu görüşü destekleyen bir çok çalışma yapılmıştır (30,31). Ülkemizde de son yıllarda giderek artan benzeri deneysel çalışmalar vardır (32-34). Östrojenle yapılan çalışmalarda serviks epitelinde patolojik değişiklikler daha sık görülmüştür. Fareler ve maymunlar üzerinde yapılan çalışmalarda servikste karsinoma kadar varan değişiklikler ispatlanmış, farelerde vajina, serviks, uterus, meme bezleri ve testisin, hamsterlerde bunların dışında böbrek ve karaciğerin hedef organ olduğu saptanmıştır (30,31,35). Klinik araştırmalarda da DES ile ilişkili vaginal adenozis ve şeffaf hücreli adenokarsinom vak'aları bildirilmiştir (35). Östrojen daha az oranda endometriumda da değişikliklere yol açabilmektedir. Bu değişiklikler sıçan ve maymun deneyleri ile incelenmiştir. İlk kez Greenblat ve arkadaşlarının yaptığı deneylerle uterusu makroskopik olarak hipertrofi, mikroskopik olarak yassı epitel metaplazisi ve "anaplastik" olarak tanımladıkları değişiklikler tesbit etmişlerdir (31). İplikçi de endometriumdaki değişimleri görebilmek amacı ile sıçanlara kısa süreli östrojen tatbik etmiş glandüler hiperplazi ile birlikte premalign değişiklikler (anaplastik değişimler) olarak tanımladığı tüm lezyonların ortaya çıkabilmesi için 10 mg/lık total östrojenin günaşırı olmak üzere eşit dozlar halinde 40 gün tatbik edilmesi gerektiğini ortaya koymuştur (32). İplikçi bu değişiklikleri "yassı epitel metaplazisi dışında kalan psödostratifikasyon, epitel hücrelerinin çekirdeklerinde hiperkromatik görünüm ve mitotik figürler ile hücre dejenerasyonunun göstergesi olan sitoplazmik vakuollerin artışı" olarak tanımlamaktadır. Yine İplikçi bu çalışmada, deney hayvanlarının endometrialarında çoğu adenomatöz tipte olmak üzere endometrial hiperplaziler de tespit etmiştir (32). Aker-Güneş ve Bulay da clomiphene citrate'in dişi sıçanların genital sistemleri üzerindeki etkilerini sitolojik ve histopatolojik yöntemlerle incelemişlerdir. Kontrol grubunda overlerde korpus luteumların meydana geldiğini, buna karşılık folikül kistlerinin bulunmadığını tespit etmişler, bu duruma ayrıca uterusu atrofi, lumen genişlemesi, endometrit veya piyometra, dozla paralel olmak üzere epitel değişiklikleri, adnekslerde ooforit, periooforit, salpenjit gibi iltihabi değişikliklerin eşlik ettiğini görmüşler, vajende iltihabi değişiklikler (kolpitis) ve epitelde vakuoler dejenerasyonu gözlemişlerdir (33). Saygılı ve ark. da fare uterus ve overlerine prenatal etinil estriol tedavisinin etkilerini araştırmışlar endometriumda epidermidizasyon ve kistik glandüler hiperplazi gelişiminin yanısıra 10-14 haftalar arası overlerde sekonder folikül gelişimini etkilediğini göstermişlerdir (34).

Bu araştırmada, histopatolojik incelemede bulunan genital organ değişiklikleri genellikle literatür bulguları ile uyumludur (26-34). Ancak nisbeten eski literatürde terminoloji farklılıkları gözlenmektedir (31,32). Son çalışmalarda bulgularımızla paralellik gösteren daha detaylı incelemeler vardır. Özellikle epitel hücrelerindeki vakuoler dejenerasyon, yassı epitel metaplazisi, epidermidizasyon veya yassı epitel metaplazisi dışında kalan psödostratifikasyon, piyometraya kadar varan iltihabi değişiklikler, salpenjit, ooforit, periooforit, endometriumda kistik hiperplazi ortak bulgulardır. Bunlardan

özellikle metaplazi tarzındaki epitel değişiklikleri ile endometriumdaki hiperplazi, maligniteye gidiş açısından önemli bulgular olarak kabul edilmektedir. Ancak özellikle vajinal adenozis ve şeffaf hücreli adenokarsinom, DES kullanım hikayesi olmadan da görülebilen lezyonlardır; fakat son derece nadirdir. Soyuer ve ark. da DES hikayesi tam olarak aydınlatılmayan 4 vaka yayınlamışlardır (36). Benzer şekilde, intrauterin dönemde DES ilişkisi olmadığı beyan edilen, berrak hücreli adenokarsinomali kadınlar da Reich tarafından bildirilmiştir (37). Bu ise bilinçsiz ilaç kullanımının önemini göstermektedir.

Sonuç olarak, insanları besin zinciri ile sürekli etkilediği gözönüne alınarak DES'in doz ve etkilenme süresi ile paralel mutajenik ve karsinojenik etkilerinin konvansiyonel yöntemlerle yeterince incelendiği, artık bu konuda da PCR vb. yeni yöntemlerle çalışarak etki mekanizmasının ortaya konmasının insan sağlığı açısından daha faydalı olacağı inanındayız.

KAYNAKLAR

- Şener S: Hayvansal ürünlerde kalıntı, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, Veteriner ve Hayvancılık Özel İhtisas Komisyonu Raporu Ankara, 1994.
- Ergun H : Hormon ve hormon benzeri anabolik ajanlar, A.Ü Veteriner. Fakültesi Dergisi 1988. 35 (2,3): 353-363.
- Takamatsu Y, Iguchi T, Takasugi N: Effects of neonatal exposure to DES on protein expression by vagina and uterus in mice. In vivo 1992 Jan-Feb; 6(1): 1-8.
- Wilkinson EJ: Pathology of the vagina. Curr Opin Obstet Gynecol. 1991. Aug; 3(4): 553-60.
- Waggoner SE: Influence of in utero Diethylstilbestrol exposure on prognosis and biologic behavior of vaginal clear-cell adenocarcinoma. Gynecol Oncol 1994 Nov; 55(2): 238-44.
- Matias Guix X: Clear cell tumors of female genital tract. Semin Diagn Pathol 1997 nov; 14 (4): 233-9.
- McLachlan JA: Are estrogens carcinogenic during development of the testes? VAPMIS 1998 Jan; 106(1): 240-2. Review.
- Herbst AL: Behavior of estrogen-associated female genital tract cancer and its relation to neoplasia following intrauterine exposure to DES. Gynecol Oncol 2000. Feb; 76 (2): 147-56.
- Brahams SD: DES; Third-generation injury claims, Lancet 1991. 337 (30): 785.
- Wortsman J, Hamidina A, Winters, SS: Hypogonadism long-term treatment with DES, Am J Med Sci 1989.297 (6): 365-368.
- Colton T, Greenberg R, Noller K, Resseguie L: Breast cancer in prescribed DES in pregnancy, JAMA 1993 April 28, 296 (16): 2096-2099.
- Kayaalp, O: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Ulucan matbaası, Ankara 1990.
- Ozawa N, Oshimura M, McLachlan, JA, Burrett C: Non random karyotypic change immortal and tumorigenic Syrian hamster induced by DES, Cancer Genet Cytogenet 1989. 38(2): 271-282.
- Bozkurt M: Hayvan ürünlerinde anabolik (hormon) rezüleri ve ulusal yasal düzenlemeler, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 1988. 45(2): 260-287.
- Ersay E, Ağte O, Ergun ŞH, Üresin T: Etlik piliçlerde DES yönünden ön çalışmalar, A.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi 1988. 35 (2,3): 1-20.
- Lüleci G, Başaran S, Bağcı G, Keser İ: Sitogenetik Uygulama Yöntemleri. Meteksan Matbaası, Ankara. 1990.
- Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V: Biyoistatistik. Özdemir Yayıncılık, Ankara.1993.
- Ekmekeçi A, Erbaş D: Kanserin moleküler mekanizması. Onkogenler ve büyüme faktörleri 72-Tekser, Dizgi, Fotokopi, Ofset Tesisleri. Ankara, 1991.
- Ekmekeçi A, Menevşe A, Menevşe S: Fare kemik iliği hücrelerinde DES ve Vinblastinin indüklediği sayısal ve yapısal kromozom anomalileri ve bunlar üzerinde prostoglandin E1'in azaltıcı etkisi, Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 1989. 46 (1): 17-28.
- Dellarco VL, Mavourin KH, Tice R: Aneuploidy and health risk assesment: current status and future directions, Environ Mutagen, 1985. 7: 405-424.
- Anonim: IARC Monograph on the evaluation of carcinogenic risk of chemical to human, World Health Organization, Ed; IARC Working group on the evaluation of the carcinogenic risk of chemical to humans: sex hormone (II) 21, 1971.
- Sakakibara Y, Saito I, Ichinoseki, K, Oda, T, Kaneko M: Effect of DES and its methyl ethers on aneuploidy induction and microtubule distribution in Chinese hamster V79 cells. Mutat Res 1991. 263: 269-276.
- Mailhes J B, Preston R J, Yuan Z P, Payne H S: Analysis of mouse me-

32. İplikçi A: Östrojen etkisinin glandüler hiperplazi ve korpus karsinomuyla ilişkisinin histopatolojik yönden araştırılması. Yayınlanmamış doçentlik tezi İstanbul 1973.
33. Aker Güneş H, Bulay O M: Clomiphene citate'nin dişi sıçanların genital sistemleri üzerine etkisinin sitolojik ve histopatolojik yöntemlerle incelenmesi. T J Res Med Sci 1987. 5; 455-466.
34. Saygılı H, Yıldırım A, Bilir A: Fare uterus ve overlerine prenatal etinil estadiol tedavisinin etkisi. Türk Patoloji Dergisi 1993. 9-1:47-49.
35. Marsellos M, Tomatis, L: Diethylstilbestrol: II, pharmacology, toxicology and carcinogenicity in experimental animals. Eur J Cancer 1992. 29A (1), p 149-155.
36. Soyuer I, Ökten T, Öztürk F, Markoç F, Kafadar H: Nadir görülmesi nedeniyle sunulan vajinal adenoziste skuamöz metaplazi ve vajende adenokarsinom vak'aları. Ankara Patoloji Bülteni 1997; 14(2): 69-71.
37. Reich O: Clear cell carcinoma of the uterine cervix: pathology in surgical treated stage IB-IIb disease in women not exposed in utero to DES. Gynecol Oncol 2000 Mar; 76(3): 331-5.