

İN UTERO METİLKOLANTREN UYGULANAN FARELERDE OLUŞAN AKCİĞER ADENOMLARI ÜZERİNDE NEONATAL TIMEKTOMİNİN ETKİSİ

Dr. Attila TAÇOY*

ÖZET

Bu çalışma, gebeliklerinin 15 inci günü, sırt derilerinin altına 2 ve 4 mg MC/0.2 ml SY verilmiş iki karsinojen ve bunların sadece 0.2 ml taşıyıcı SY verilmiş ve hiçbir madde uygulanmamış kontrol gruplarını oluşturan annelerden doğan, neonatal timektomili, taklit timektomili ve hiç operasyon uygulanmamış farelerde yapılmıştır.

Tüm gruplarda farelerin 1/3 kısmı 2 nci ayın sonunda, geri kalanları da deney sonu olan 4 üncü ayın sonunda öldürülüp akciğer adenomları yönünden incelenmişlerdir.

İkinci ayın sonunda öldürülen farelerin in utero MC almış gruplarının sadece neonatal timektomili subgruplarında (A₁ ve B₁) akciğer adenomlarının olduğu gözlenmiştir. İn utero 2 mg MC/0.2 ml SY almış neonatal timektomili subgrupta adenomlu hayvan yüzdesi 6.0, buna karşılık 4 mg MC/0.2 ml SY almış neonatal timektomili subgrupta ise 56'dır. Kontrol gruplarında adenom bulunmamıştır.

SUMMARY

This study was carried out on the neonatal thymectomized mice born from the mothers which received MC (Methylcholanthrene), a potent carcinogen, on the 15th day of pregnancy at the dose level of 2 and 4 mg in 0.2 ml sesame oil injected subcutaneously on the dorsal part of the skin. Controls received sesame oil in the same time. Sham thymectomized and intact mice were also selected as two other control groups.

One third of the mice were sacrificed at the end of the 2nd month, the others at the end of the 4th month and their lungs were studied for lung adenomas.

The lung adenomas were found in 6% of the neonatal thymectomized mice sacrificed at the end of the 2nd month born from the mothers treated with 2 mg MC. It was 56% in the mice born from 4 mg MC treated mothers.

In the thymectomized offsprings of the mothers who received 2 mg MC, lung adenomas developed in

* A. Ü. Tıp Fakültesi Patoloji Kürsüsü Öğretim Üyesi,

Deney sonunda, in utero 2 ve 4 mg MC almış grupların tüm subgruplarında akciğer adenomlarının olduğu gözlenmiştir. Sonuçlar 2 mg MC almış A grubuna (Timektomililerde %66.6, taklit timektomililerde %22, operasyonsuzlarda %25) oranla, 4 mg MC almış B grubunda (timektomililerde %84, taklit timektomililerde %44, operasyonsuzlarda %87.5) daha belirgindir.

Deney sonunda aşağıdaki sonuçlara varılmıştır :

1) Gebe farelere verilen MC plasental yolla yavru'ara geçmekte ve bunlarda akciğer adenomları oluşmaktadır.

2) MC'nin yüksek dozuyla daha fazla sayıda akciğer adenomu oluşmaktadır.

3) İn utero MC almış fare'erde neonatal timektomi, akciğer adenomlarının oluşma zamanını kısaltmakta ve sıklığını artırmaktadır.

66.6%, 22% in sham-operated offsprings and 25% in absolute control group.

In the 4 mg MC groups lung adenomas were found in 84% in thymectomized offsprings, 44% in sham-operated animals and 87.5% in absolute controls.

The following results came out at the end of the experiment :

1) MC, when injected to the pregnant mice may cross placenta and causes the development of adenomas in the lungs of the offsprings.

2) The lung adenomas induced by MC was found to be dose-dependent.

3) Neonatal thymectomy may shorten the latency but may increase the number of adenomas in the lung.

Yıllar önce, gebeliğin ikinci yarısında embryoların deri, mide, akciğer ve over gibi dokuları, dimetilbenzantrazen (DMBA), benzapiren (BP) ve üretan gibi karsinojenlerle işleme tabi tutularak erişkin hayvanlara transplante edilmiş, bu hayvanlarda tümörler ve tümörlere benzer yapılar gelişmiştir.⁶² Bu çalışmalar, genç dokuların karsinojenik etkilere daha duyar olduğunu göstermiş ve deneysel çalışmalarda neonatlar, hatta in utero uygulamalar sonucu embryolar, fötuslar kullanılmaya başlanmıştır.

Gerek neonatlara, gerekse erişiknlere çok çeşitli yollardan değişen dozlarda DMBA^{9, 20, 53, 77, 88} BP^{25, 28, 78, 83} dibenzantrazen (DBA)^{33, 36, 51} dimetilnitrosamin⁷² ve özellikle metilkolantren (MC) ve üretan^{3, 6, 19, 21, 33, 61, 68, 86} uygulanmasıyla, lenfomalar, akciğer tümörleri, sarkomlar oluşturulmuştur.

Ayrıca, üretan^{34, 35, 85} BP ve DMBA^{4, 12, 13, 50, 73, 74} MC^{66, 70, 71, 76} nitrosamin^{42, 49, 75} gibi kimyasal karsinojenlerin deney hayvanlarına gebelikleri sırasında verilmesiyle de gerek kendilerinde, gerekse plasenta ve süt yoluyla geçerek^{70, 71} yavrularında akciğer adenom-

ları, deri papillomları ve lenfomaların oluştuğunu kapsayan çalışmalar az fakat ilgi çekicidir. Son yıllarda Shabad ve arkadaşlarının farelere gebeliklerinin 15 inci günü BP verip, 19 ve 20 günlük fötusların akciğerlerini alıp organ kültürlerinde akciğer adenomlarının oluşmasını inceleyen çalışmaları da ilginçtir.⁵⁸

Kimyasal karsinojenlerin ya kendileri, ya da metabolitleri inisiyator olarak etki yaptıkları hücrelerde uzun süren ve taşınabilen mutasyonel değişikliklere neden olurlar. Bu değişiklikler gen ekspresyonunda dengesizlik şeklindedir ve bu tür genlerin de-represyonu, baskılanmaması, premalign olarak kabul edilen fenotipik değişikliklere yol açar. Bu değişiklikler çok kere irreversible ve hücrenin birkaç jenerasyonunda bile devam eder ve uzun sürer. İnisiyatorlar yalnız başlarına genellikle karsinojenik değildirler. Karsinojenezis için promotörlerin ve karsinojenlerin işe karışması gerekmektedir. Promotörlerin en önemli etkisi hücre proliferasyonudur. Hücre bölünmesi sırasında gen ekspresyonundaki daha önceden varolan dengesizlik artar, böylece malign gelişme ortaya çıkar. Promotörler de tek başına uygulandıklarında karsinojenik değildirler. Croton yağı veya aktif parçaları, forbol esterleri, Tween - 60 promotördürler. İki ajanın kombine uygulanması, tümörlerin erken oluşmasına ve sıklığının artmasına neden olur. Promotörler inisiyatorlardan önce verildiğinde etkili değildir.^{27, 43, 57}

Kimyasal karsinojenler, hücrel immüniteyi baskılamaları yanında humoral immüniteyi de baskılar.^{54, 65} Örneğin MC anti-kor yapan dalak hücrelerini inhibe eder ve MC ile oluşturulmuş sarkomlardan yapılan greftlerin tutmalarını sağlar,⁶⁵ bazı fare türlerinde sarkom oluşma sıklığını artırır.⁶⁷

Hem MC, hem DMBA hücrel immüniteyi baskılar, fakat sadece DMBA şiddetli immün bozukluklar oluşturur, humoral ve selüler immünite sonunda baskılanabilir.^{8, 45, 56, 65} Yasuhira, MC'nin immün mekanizmayı baskılıyarak tıpkı neonatal timektomili hayvanlardaki gibi Wasting Sendromu oluşturmasını karşısında «Kimyasal Timektomi» terimini kullanma gereğini duymuştur.⁸⁹ Ayrıca üretan ve nitroso bileşikleri, dimetilaminoazobenzen ve derivelerinin de lökomojenik ve karsinojenik etkilerinin yanında immünosupresif etkileri de vardır.⁴¹

Timus bilindiği gibi, tümüyle hücrel, kısmen de humoral immüniteden sorumludur. Bu görevlerini de lenfoid dokuya etkili yayılabilen, geçebilen ve timozin adını alan bir madde sal-

gılayarak yapar.²³ Bu maddenin çeşitli fraksiyonları saflaştırılmışsa da sentetik olarak elde edilememiştir. Bu nedenle timusun immüno-supresyon ve karsinojenezisteki etkinliğini araştırmada tutulacak yol organın çıkarılmasına dayanacaktır. O halde timusun karsinojenezisteki rolü immün mekanizma aracılığıyla olmaktadır.

İnsan ve deney hayvanlarının, hücresele ve kısmen hümoreal sistemlerle tümör antijenlerine karşı cevap oluşturdukları, bu cevapta timusa bağımlı T - lenfositlerle sağlanan hücresele immünitenin daha etken rol oynadığı kanıtlanmıştır. Dolayısıyla bu sistemle bağıntılı defektler ve işlemler immün baskılanmayı doğuracaklardır. Bu baskılanmada T - lenfosit cevabını ortadan kaldıran timektominin yanı sıra, kullanılan kimyasal ve viral ajanların da büyük rolü vardır. Her iki sistem de büyük ölçüde immüno-supresyon yapar.^{7, 9, 16, 29, 46, 59, 81, 82, 84, 87}

Deney hayvanlarına uygulanan timektomi insanlarda çeşitli timik yetmezlik hastalığı modellerine benzeyen durumlar oluşturur. Eğer timus kimyasal ve immünolojik olarak baskılanır, ya da doğumda cerrahi yoldan çıkarılırsa, spontan tümör oluşması, transplanta olan direnç azalması, viral ve kimyasal yolla tümör oluşturulma sıklığında artma ile karakterli bir kompleks immünolojik yetmezlik hastalığı ortaya çıkar.^{15, 47} Neonatal timektomiden sonra tümör gelişmesindeki artmaya ters düşen bir durum, lösemi sıklığı yüksek AKR fare türünde timektomi ile sıklığın düşmesidir.^{40, 44} Timektomi ayrıca ışınlanmış C57B1 ve DBA farelerde MC oluşturulmuş lösemilerde sıklığı azaltır.^{32, 39} Bu birkaç istisna yanında BP ve MC, neonatal timektomize farelerin sırtlarına sürülerek uygulandığında, kontrollere oranla daha kısa sürede ve çok sayıda papillom oluşmuş, kontrollerdekiler zamanla gerilediği halde, timektomililerdekiler kanserleşmeye kadar gitmiştir.^{26, 48} Üçüncü günde timektomi yapılmış farelerin dışillerinin göğüs duvarına DMBA, erkeklerine de DBA uygulanmış, deney sonunda dışilerde meme kanseri, erkeklerde deri papillomları oluşmuştur.³¹ Ülkemizde yaptığımız deneylerde, gerek in utero, gerekse doğumdan sonra BP ve DMBA uygulanmış, neonatal timektomize farelere bir aylık olunca, sırtlarına croton yağı damlatılması sonucu, kontrollere oranla kısa sürede ve çok sayıda papillom, akciğerlerinde de yine fazla sayıda adenom oluştuğunu saptadık.^{11, 69}

Timektominin deneysel sarkomların oluşmasında ise çelişkili etkilerinin olduğu görülmektedir. Bazı deneylerde sarkomlar oluşmuş,²¹ bazılarında timektomililerde sayıca azalmış,²² bazılarında kontrollere oranla fark bulunmamıştır.^{5, 10, 24, 37, 38, 34}

Erişkin hayvanlarda da timektominin etkileri incelenmiş, bazı deneylerde etkili olmasına karşın, bazılarında olmadığı görülmüştür.^{2, 17} Biz bir aylık farelerde timektomi yapıp, iki gün sonra cilt altına BP ve DMBA vererek yaptığımız çalışmada, BP grubunda daha fazla sarkom oluştuğunu, DMBA grubunda ise fark olmadığını gördük.²⁰

Son yıllarda insanların enfeksiyöz hastalıklarında kullanılan, sıçanlarda değişik organ tümörlerine yol açan, farelerde lösemi yapan, N-(4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl) acetamid, bir aylıkken timektomize farelere diyetek ek olarak verildiğinde lösemi oluşma sıklığı azalmıştır. Timusu çıkarılmıyan grupta %100'e yakın lösemi oluşmuştur.¹⁴ Buna göre neonatal timektomi, fareleri, virus, radyasyon ve diğer kimyasal karsinojenlerle oluşan lenfositik lösemi ve lenfosarkomlardan korumaktadır.

Yukarıda kısa kısa vermeye çalıştığımız çalışmalardan çıkan sonuçlara göre, kimyasal karsinojenler de timektomiyle birlikte immün kompetansın baskılanmasına neden olmaktadır. Böylece bütün etkin faktörlerin bir arada toplanmasıyla programlanacak bir deneyde tümör oluşma süresinin azalacağı sıklığının artacağı sonucuna varmak olasıdır. Bütün bu deneylerin ışığı altında çalışmamızın amacı; MC verilmiş gebe farelerin (in utero karsinogene maruz bırakılmış) yavrularında yapılan neonatal timektominin, tümör oluşmasındaki latent period ve insidans üzerindeki etkisini incelemektir.

MATERYEL VE METOD

Bu çalışma, 300 dişi, 75 erkek, ağırlığı 25 - 30 gr arasında değişen erişkin ve bunlardan doğan 1147 yavru, toplam 1472 İsçiye türü Albino farede yapılmıştır.

Gebe farelere, mukus plağın tespit tarihine dayanarak saptanan doğum günlerine göre, gebeliklerinin 15 inci günü karsinojen olarak 20 - methylcholanthrene (MC) susam yağında eritilerek, sırt derilerinin altına verilmiş, yavrular doğar doğmaz timektomi yapılmış, annelerinden birinci ayın sonunda erkek ve

dişi olarak ayrılmışlardır. Tüm fareler yem sanayiinden sağlanan fare peletleri ile beslenmişler, içme suyu olarak da şehir suyu kullanılmıştır.

Gebe farenin tolere edebileceği en yüksek karsinojen değerini bularak deney dozunu saptamak amacıyla 75 fare üzerinde çeşitli dozlarda MC uygulanarak toksisite çalışması yapılmış, izlenen farelerin durumlarına göre, doz farklılıklarının da sebep olabileceği sonuçları gözlemek amacıyla 2 mg MC/0.2 ml SY ve 4 mg MC/0.2 ml SY (% 1'lik ve % 2'lik) deney dozları olarak saptanmıştır.

deney grubu	anneye verilen madde	yavruya uygulanan operasyon	başlangıçtaki hayvan sayısı			2.ayın sonunda incelenen hayvan sayısı			deney sonu incelenen hayvan sayısı		
			♂	♀	toplam	♂	♀	toplam	♂	♀	toplam
A ₁	15.gün SC 2mg.MC/0.2ml.SY.	N.Timx	45	37	82	20	13	33	19	11	30
A ₂	" "	N.S.Timx	8	19	27	2	7	9	6	12	18
A ₃	" "	—	12	30	42	4	10	14	8	20	28
B ₁	15.gün SC 4mg.MC/0.2ml.SY.	N.Timx	38	36	74	12	13	25	18	20	38
B ₂	" "	N.S.Timx	25	19	44	6	5	11	19	13	32
B ₃	" "	—	19	12	31	4	3	7	10	9	24
C ₁	15.gün SC 0.2 ml.SY.	N.Timx	12	19	31	4	3	7	7	14	21
C ₂	" "	N.S.Timx	37	26	63	8	7	15	29	19	48
C ₃	" "	—	24	18	42	6	6	12	18	12	30
D ₁	salt kontrol	N.Timx	23	21	44	9	7	16	8	8	16
D ₂	" "	N.S.Timx	24	27	51	11	10	21	12	16	28
D ₃	" "	—	14	15	29	6	6	12	8	8	16
toplam	—	—	281	279	560	92	90	182	167	162	329

TABLO. 1 DENEY GRUPLARI

N.Timx : neonatal timektomi
 N.S.Timx : " taklit "
 SC : subkutan
 MC : methyicholanthrene
 S.Y. : susam yağı

Deney gruplarını gösteren Tablo : I'den anlaşılacağı gibi, her grubun 1 inci subgruplarında (A₁, B₁, C₁, D₁) yeni doğanların, ilk 24 saat içinde stereomikroskop altında timusları çıkarılmıştır (neonatal timektomi). A₂, B₂, C₂, D₂ subgruplarında da taklit timektomi yapılarak yavrular timektomililerle aynı stres altında bırakılmışlardır. Timektomi, Sjodin ve arkadaşlarının uyguladıkları teknikle,⁶⁰ fakat bazı komplikasyonları önlemek bakımından tarafımızdan kısmen değiştirilerek yapılmıştır.

Tablo : I'de görüleceği üzere A grubu deneyler 2 mg MC'nin, B grubu deneyler 4 mg MC'nin neonatal timektomili, taklit timektomili ve timektomisiz fareler üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla düzenlenmiş üç subgruptan oluşmaktadır. C grubu deneyler ise MC'nin eriticisi olan Susam yağının (SY) in utero uygulanmasının yine timektomili, taklit timektomili ve timektomisiz fareler üzerinde etkisinin olup olmadığını araştırmak amacıyla, taşıyıcı kontrol grubu, D grubu deneyler ise, MC ve SY gruplarını kontrol amacıyla düzenlenmiş olup, annelerine gebelikleri süresince hiçbir madde uygulanmamış, yine aynı esaslar içinde üç subgruptan oluşan salt kontrol grubu olarak düzenlenmiştir.

İkinci ayın sonunda tüm gruplardan %30 - 40 oranında, deney sonunda da geri kalanlar eterle öldürülerek tüm organları incelenmiştir. Tümör şüphesi veren organlar ve tamamının akciğerleri alınmış, formalin tespitinden sonra stereomikroskop altında yeniden incelenmişlerdir. Akciğerlerin 5 lobu ayrılmış teker teker gözden geçirilip adenomların sayıları ve büyüklük'eri kaydedilmiştir. Timektomili gruplarda özellikle ilk bir ay içinde Wasting Sendromuna bağlı ölümler olmuş, bunların otopsileri yapılmışsa da ilk etapta ölenler deney dışı tutulmuşlardır.

Deney grupları, her grup içerisindeki subgruplar kendi aralarında ve kontrollere göre istatistiksel olarak student (T) testine göre değerlendirilmiş olup $P > 0.05$ anlamsız kabul edilmiştir.

BULGULAR

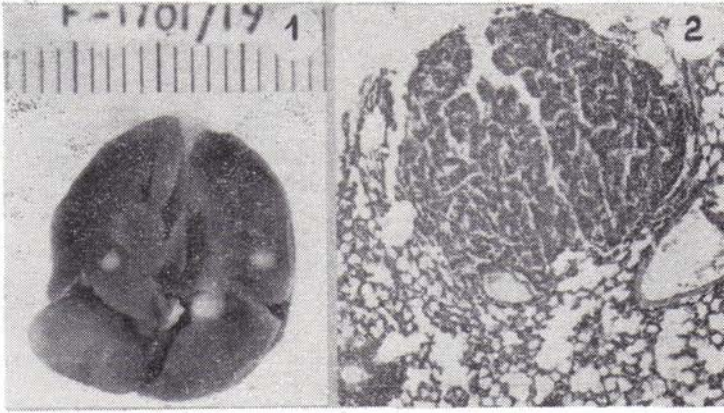
Tablo : II, tüm gruplarda başlangıç, ikinci ayın sonu ve deney sonundaki hayvan sayılarını ve bunlarda oluşan akciğer adenomlarının subgruplardaki dağılımını göstermektedir.

Görüldüğü gibi, ikinci ayın sonunda in utero 2 mg MC almış A grubunda, sadece neonatal timektomili A₁ sub grubunda ancak 2 farede ikişerden 4 adet adenom gözlenmiş, diğer subgruplarda rastlanmamıştır. Buna karşılık 4 mg MC almış B grubunun neonatal timektomili B₁ sub grubunda 14 farede toplam 122 akciğer adenomu gözlenmiş, diğer subgruplarda yine rastlanmamıştır. Yine bu zaman bölümünde C taşıyıcı, D salt kontrol gruplarında

deney gurubu	deneye verilen madde	yavruların uygulanan operasyon	BAŞLANGIÇTA		2. AYIN SONUNDA						DENEY SONUNDA						
			♂	♀	toplam	bu süre için de kendiliğinden ölen hayvan sayı	incelenen hayvan sayısı	adenomlu hayvan sayısı	adenomlu hayvan %	günbun toplam adenom sayısı	bir hayvana düşen adenom sa.	2. ay-4 ay arasında kendiliğinden ölen hay. sa.	incelenen hayvan sayısı	adenomlu hayvan sayısı	adenomlu hayvan %	günbun toplam adenom sayısı	bir hayvana düşen adenom sa.
A1	15 gün SC 2mg MC/0.2ml SY	N.Tmx	45	37	82	17	33	2	6.0	4	0.1	2	30	20	66.6	107	3.5
A2	" "	N.S.Tmx	8	19	27	-	9	-	-	-	-	-	18	4	22.2	15	0.8
A3	" "	-	12	30	42	-	14	-	-	-	-	-	28	7	25.0	8	0.3
B1	15 gün SC 4mg MC/0.2ml SY	N.Tmx	33	36	74	8	25	14	56.0	122	4.9	3	38	32	84.2	888	23.4
B2	" "	N.S.Tmx	25	19	44	1	11	-	-	-	-	-	32	14	43.7	121	3.7
B3	" "	-	19	12	31	-	7	-	-	-	-	-	24	21	87.5	95	3.9
C1	15 gün SC 0.2 ml SY	N.Tmx	12	19	31	2	7	-	-	-	-	1	21	-	-	-	-
C2	" "	N.S.Tmx	37	26	63	-	15	-	-	-	-	-	49	-	-	-	-
C3	" "	-	24	18	42	-	12	-	-	-	-	-	30	-	-	-	-
D1	solt kontrol	N.Tmx	23	21	44	12	16	-	-	-	-	-	16	-	-	-	-
D2	" "	N.S.Tmx	24	27	51	2	21	-	-	-	-	-	28	-	-	-	-
D3	" "	-	14	15	29	1	12	-	-	-	-	-	16	-	-	-	-
toplam			281	279	560	43	182	-	-	-	-	6	329	-	-	-	-

TABLO 2. IN UTERO UYGULANAN 2mg ve 4mg METİLKLANTRENLE OLUSAN AKCİĞER ADENOMLARI ÜZERİNDE NEONATAL TIMEKTOMİNİN ETKİLERİ

N.Tmx : neonatal timektomi
N.S.Tmx : " toklit "
MC : methylcholanthrene
S.Y. : susam yağı

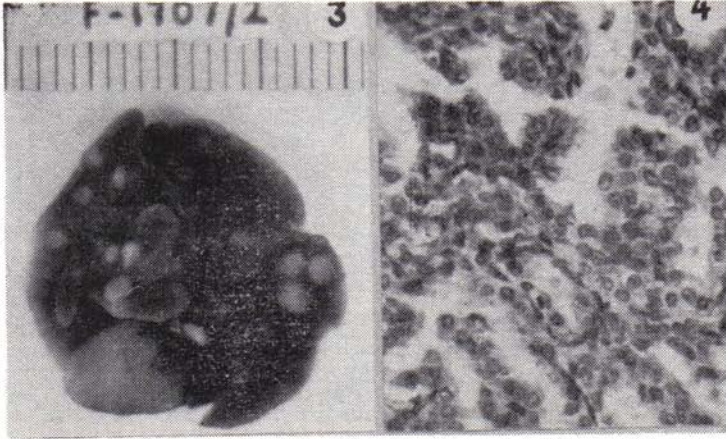


Şekil : 1 — Prot. Nu. : F-1701/19, İn utero 2 mg MC almış neonatal timektomili farede (A₁) ikinci ayın sonunda oluşmuş akciğer adenomlarının makroskopik görünümü.

Şekil : 2 — Prot. Nu. : F-1505. İn utero 2 mg MC almış neonatal timektomili farede (A₁) ikinci ayın sonunda oluşan akciğer adenomunun mikroskopik yapısı. H. E. 30 X

da adenom görülmemiştir. Ayrıca bu zaman bölümünde tüm gruplarda başka organ tümörlerine de rastlanmamıştır. Şekil : 1 ve Şekil : 2 bu zaman bölümünde izlenen adenomların makroskopik ve mikroskopik görünümünü vermektedir.

Deney sonunda geriye kalan fareler öldürülüp incelendiğinde; timektomili A₁ sub grubunda 20 farede toplam 107 adet akciğer adenomu izlenmiş olup, bir hayvana düşen adenom sayısı 3.5 bulunmuştur. Buna karşılık aynı dozda MC almış A₂ taklit timektomili ve A₃ timektomisiz sub gruplarda bu oranlar 0.8 ve 0.3'tür. İn utero 4 mg MC almış B₁ sub grubunda 32 farede toplam 888 adet akciğer adenomu izlenmiş olup, bir hayvana düşen adenom sayısı ise 23.4 bulunmuştur. Yine bu grubun B₂ taklit timektomili ve B₃ timektomisiz sub gruplarda bu oranlar 3.7 ve 3.9'dur. Şekil : 3 ve 4 bunların makroskopik ve mikroskopik görünümünü vermektedir.



Şekil : 3 — Prot. Nu. : F-1707/2. İn utero 4 mg MC almış neonatal timektomili farede (B_1) deney sonunda oluşmuş akciğer adenomları görülmektedir.

Şekil : 4 — Prot. Nu. : F-1713/12. İn utero 4 mg MC almış neonatal timektomili farede (B_1) deney sonunda oluşmuş akciğer adenomunun büyütülmüş yapısı görülmektedir. H. E. 180 X

Taşıyıcı SY ve salt kontrol gruplarında deney sonunda hiçbir hayvanda akciğer adenomu izlenmemiştir. Gerek ikinci ayın, gerekse deney sonunda kontrol gruplarında hiçbir adenoma rastlanmaması, kullanılan hayvan türünün spontan adenom sıklığı göstermeyen bir tür olduğunu ortaya koymaktadır.

Tablo : III deney gruplarındaki akciğer adenomu sayılarının student (T) testine göre değerlendirilmesi ve anlamlılık derecesini içermektedir. Tümörlerin oluştuğu karsinojen subgrupları birbirleriyle karşılaştırıldığında, uygulanan timektominin ve MC'nin doz farkının anlamlı sonuçlar ortaya koyduğu görülmektedir.

Yukarıda bildirilen sonuçlara göre, in utero MC verilmiş A ve B gruplarının neonatal timektomili subgruplarında ikinci ayın sonunda akciğer adenomları oluşmuştur. MC'nin 4 mg verildiği B_1 sub grubunda karsinojenin yüksek dozunun etkisi, A_1 sub grubuna oranla daha belirgindir. Keza her iki grupta da kontrollere oranla neonatal timektominin etkili olduğu gözlenmiştir. Deney sonunda A_1 ve B_1 subgruplarında bu etkinlik çok daha belirginleşmiş ve büyük anlam kazanmıştır. Bunlara ek olarak A ve B gruplarının taklit timektomili ve timektomisiz A_2 , A_3 ve B_2 , B_3

deney gurubu	anneye verilen madde	yavruya uygulanan operasyon	akciğer adenomu sayısı (ortalama \pm S.H.)	
			2. ay sonu	deney sonu (4. ay sonu)
A ₁	15. gün S.C. 2mg MC / 0.2 ml S.Y.	N. Timx.	4 (33)	3.57 \pm 0.72 (30)
A ₂	" "	N. S. Timx.	0 (9)	0.80 \pm 0.45 (18)
A ₃	" "	—	0 (14)	0.30 \pm 0.10 (28)
B ₁	15. gün S.C. 4mg MC / 0.2 ml S.Y.	N. Timx.	4.90 \pm 1.36 (25)	23.40 \pm 4.76 (38)
B ₂	" "	N. S. Timx.	0 (11)	3.70 \pm 0.80 (32)
B ₃	" "	—	0 (7)	3.90 \pm 1.0 (24)
C ₁	15. gün S.C. 0.2 ml S.Y.	N. Timx.	0 (7)	0 (21)
C ₂	" "	N. S. Timx.	0 (15)	0 (48)
C ₃	" "	—	0 (12)	0 (30)
D ₁	salt kontrol	N. Timx.	0 (16)	0 (16)
D ₂	" "	N. S. Timx	0 (21)	0 (28)
D ₃	" "	—	0 (12)	0 (16)

TABLO 3. DENEY GURUPLARINDA AKCİĞER ADENOMLARININ İSTATİSTİKİ YÖNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ

N. Timx	: neonatal timektomi	A ₁ -A ₂	istatistikî olarak anlamlı (P < 0.001)
N. S. Timx	: " taklif "	A ₁ -A ₃	" " (P < 0.001)
SC	: subkutan	A ₂ -A ₃	" " anlamsız (P > 0.1)
MC	: methylcholanthrene	B ₁ -B ₂	" " anlamlı (P < 0.001)
S.Y.	: susam yağı	B ₁ -B ₃	" " (P < 0.001)
S.H.	: standart hata	B ₂ -B ₃	" " anlamsız (P > 0.5)
		A ₁ -B ₁	" " anlamlı (P < 0.001)
		A ₂ -B ₂	" " (P < 0.001)
		A ₃ -B ₃	" " P < 0.001)

subgruplarında akciğer adenomlarının ancak deney sonunda oluştuğunun görülmesi, neonatal timektominin tümör oluşma süresini kısalttığı görüşünü desteklemektedir.

TARTIŞMA

Deney sonuçları, polisiklik hidrokarbon yapısında potent bir karsinojen olan MC kullanıldığında, hatta madde doğrudan kendilerine değil de, gebeliklerinin belirli günlerinde annelerine verilerek, yavrular in utero karsinojene maruz bırakıldıklarında yapılan neonatal timektominin, kontrollere oranla tümör oluşma süresini kısalttığını ve sıklığını artırdığını ortaya koymuştur. Bu durum MC'nin 2 mg'a oranla 4 mg verildiği gruplarda daha belirgindir.

İmmün sistemde ortaya çıkan defektlerin tümörlere yol açması olasıdır. Daha önce de değinildiği gibi deney hayvanlarında immün mekanizmanın kırılmasında, hem uygulanan kimyasal karsinogenler, hem de neonatal timektomi rol oynamaktadır.^{9, 15, 47, 55, 63, 64, 89}

Daha önce de örneklerini verdiğimiz birçok çalışmalarla, MC ile neonatal timektominin immün mekanizmayı kırarak tümörlere yol açtığı ortaya konmuştur. Bu deneylerden ortaya çıkan sonuçlar şunlardır :

1) Neonatal timektomize hayvanlarda, tümör oluşma süresi kısalmaktadır.^{16, 24, 30, 48}

2) Hayvanlar karsinojenin tekrarlanan ve yüksek verilen dozları ile başlangıçta sahip oldukları immün yeterliliği kaybederler.⁴⁸

3) Tümör oluşma sıklığı, karsinojen uygulanmış gruplarda kontrollere oranla artmaktadır.^{16, 48} Bu özellikle akciğer adenomlarında görülmektedir.⁸²

Yukarıda verilen örnekler ve deneyimizin sonuçları, tümörlerin karsinojenin dozu artırıldığında ve neonatal timektomi yapılarak immün yetmezlik oluşturulmuş hayvanlarda, daha az karsinojen verilen ve immün yeteneği tam gelişmiş hayvanlara oranla daha kısa sürede ve çok daha fazla sayıda oluştuğunu göstermiştir.

Bütün bunların yanında, karsinojenlerin gebe farelere verilip, yavrularında tümör oluşmasını içeren çalışmalarda, Larsen³⁵ ve Klein³⁴ üretanı gebe hayvanlara vererek plasental geçişle yavrularında akciğer adenomu, Strong ve Hollander MC'ni gebe hayvanların periton içi ve deri altlarına vererek, meme ve akciğer tümörleri, lokal fibrosarkomlar oluşturmuşlardır.⁶⁶ Karsinojen deri altına verildiğinde diğer yollarla verilmesinden çok daha çabuk absorbe olmakta^{66, 70, 71} ayrıca erken doğum, düşük, gelişmemiş yavrunun doğumu gibi yan etkileri görülmemektedir. DMBA ve BP'ni gebe farelerin peritonları içine vererek yaptığımız çalışmalarda, bu yan etkilere ek olarak annenin 7 - 10 gün içinde ölmesine neden olan toksik peritonit tablosu gözledik.¹¹ Bu nedenle de çalışmamızda MC gebe farelerin sırt derileri altına zerkedilerek verilmiştir.

Vesselinovitch ve arkadaşları, gebe farelere gebeliklerinin 7 nci ve 11 inci günlerinde üretan vererek yaptıkları çalışma-

da,⁸⁵ yavrularında hepatoma, over tümörü, akciğer adenomlarının oluştuğunu gözlemişlerdir. Üretan gebeliğin ilk yarısında organogenez fazı olan embryonal safhada verilirse teratojenik, ikinci yarısında fetal safhada verilirse karsinojenik etki yapar. Bu diğer karsinojenler için de böyledir.¹⁸

Bulay ve Wattenberg^{12,13} gebe farelere BP ve DMBA, Tomatis ve arkadaşları^{73,74,76} MC vererek yaptıkları araştırmalarda yavrularında akciğer adenomları, lenfomalar, deri papillomları oluşturmuşlardır.

Andrianova'nın çalışmaları ise in utero karsinogenezise farklı yöntemler getirmiştir.⁴ Araştırmacı, gebe farelerin sırt derilerine gebelikleri süresince MC ve BP sürmüş, yavrularında neonatal timektomi yapmış ve yavrular iki aylık olunca da başlamak üzere, tümörler ortaya çıkıncaya dek yine MC ve BP damlatmıştır. Transplasental olarak duyar kılınmış ve neonatal timektomi yapılmış gruplarda, kontrollere oranla, deri papillomları ve kanserlerinin oluşmasında hızlanma görülmüştür. Daha sonra timektomi yapılmış hayvanlarda ise herhangi bir hızlanma görülmemiştir. Sonuçlar in utero ve postnatal karsinogenezise eklenen timektominin etkisini belirgin şekilde ortaya koyması bakımından ilginçtir.

SONUÇ

Bugüne değin literatür, deney hayvanlarında, ya sadece in utero karsinogenezise maruz bırakılarak, ya da doğduklarında veya erişkinken timektomi yapıp, daha sonraki yaşamlarında karsinogen verilerek tümör oluşmasını inceleyen araştırmaları içermektedir.

Daha önceki çalışmalarımızda BP ve DMBA ve bu deneyimizde ise sadece annelerine gebeliklerinin 15 nci günü MC zerki ile in utero karsinogenezise maruz bırakılmış farelerde uygulanan neonatal timektominin, kendilerine daha sonraki yaşamlarında hiçbir madde verilmeden de akciğer adenomlarının oluşmasında etkin rol oynayacağı gösterilmeye çalışılmış olup, aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır :

1) Gebe farelere gebeliklerinin 15 inci günü sırt derilerinin altına verilen, MC, plasental yolla yavrulara geçmekte ve bunlarda akciğer adenomları oluşturmaktadır.

2) Karsinojenin dozunun yükselmesine paralel olarak MC'nin 4 mg verildiği grupta, 2 mg verildiği gruba oranla daha fazla sayıda akciğer adenomu oluşmuştur.

3) İn utero MC'ne maruz kalmış farelerde immün mekanizmayı kırmak amacıyla uygulanan neonatal timektomi, kontrollere oranla akciğer adenomlarının oluşma zamanını kısaltmış, sıklığını artırmıştır.

KAYNAKLAR

- 1 — Akamatsu, Y. and Barton, B. P. : Neoplasm and amyloidosis in strains of mice treated with 3-MC. J. Natl. Cancer Inst., 52 : 377, 1974.
- 2 — Anderson, L. C., Hayry, P. and Bach, M. A. : Differences in the effects of adult thymectomy on T-cell mediated responses in vitro. Nature, 252 : 252, 1974.
- 3 — Andrews, E. J. : Methylcholanthrene carcinogenesis in the North American opossum. J. Natl. Cancer Inst., 51 : 1271, 1973.
- 4 — Andrianova, M. M. : Effect of thymectomy on transplacental sensitization by 3-methylcholanthrene and benz (a) pyrene. Vopr. Onkol., 17 : 63, 1971.
- 5 — Allison, A. C. and Taylor, B. : Observation on thymectomy and carcinogenesis. Cancer Res., 27 : 703, 1967.
- 6 — Baker, D. G. and Yaffe, A. H. : The influence of thyroid stimulation on the incidence of 3-MC-induced tumors. Cancer Res., 35 : 528, 1975.
- 7 — Baldwin, R. W. : Immunological aspects of chemical carcinogenesis. Adv. Cancer Res., 18 : 1, 1973.
- 8 — Ball, J. K. : Immunosuppression and carcinogenesis : Contrasting affects with DMBA, BP, MC. J. Natl. Cancer Inst., 44 : 1, 1971.
- 9 — Ball, J. K., Sinclair, N. R. and McCarter, J. A. : Prolonged immunosuppression and tumor induction by chemical carcinogen injected at birth. Science, 152 : 650, 1966.
- 10 — Balner, H. and Dersjant, H. : Neonatal thymectomy and tumor induction with methylcholanthrene in mice. J. Natl. Cancer Inst., 36 : 513, 1966.
- 11 — Bulay, O. M. ve Taçoş, A. : Karsinojenlerle in utero muamele edilen hayvanlarda neonatal timektominin akciğer adenomları ve deri papillomları oluşmasına etkileri. T.B.T.A.K. IV. Bilim Kongresi Tebliği, 1973.
- 12 — Bulay, O. M. and Wattenberg, L. W. : Carcinogenic effects of subcutaneous administration benzo (a) pyrene during pregnancy on the progeny. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 135 : 84, 1970.

- 13 — Bulay, O. M. and Wattenberg, L. W.: Carcinogenic effects of polycyclic hydrocarbon carcinogen administration to mice during pregnancy on the progeny. *J. Natl. Cancer Inst.*, 46 : 379, 1971.
- 14 — Cohen, S. M., Headley, D. B. and Bryan, G. T.: The effect of adult thymectomy and adult splenectomy on the production of leukemia and stomach neoplasms in mice by N-(4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl) acetamide. *Cancer Res.*, 33 : 637, 1973.
- 15 — Dalmaso, A. P., Martinez, C. and Good, R. A.: Further studies of suppression of the homograft reaction by thymectomy in mice. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 111 : 143, 1962.
- 16 — Defendi, V. and Roosa, R. A.: The role of thymus in carcinogenesis. In 'The Thymus'. ED. (Defendi, V. and Metcalf, D.) Wister Inst. Press, Philadelphia, 1964, pp. 121.
- 17 — Del'a-Porta, G., Colnaghi, M. and Parmi, L.: Influenza della timectomia, della splenectomia e del cortisone sulla cancerogenesi. *Tumori*. 56 : 121, 1970.
- 18 — Di Paolo, J. A. and Kotin, P.: Teratogenesis-Oncogenesis: A study of possible relationships. *Arch. Pathol.*, 81 : 3, 1966.
- 19 — Doel, R. G., Devaux St. Cyr, C. and Grabar, P.: Immune reactivity prior to development of thymic lymphoma in C57Bl mice. *Int. J. Cancer*, 2 : 103, 1967.
- 20 — Flaks, A.: The effect of 9, 10-dimethyl-1, 2-benzanthracene on young mice of low and high cancer strain. *Brit. J. Cancer*, 19 : 547, 1965.
- 21 — Franks, L. M. and Carbonell, A. W.: Effects of age on tumor induction in C57Bl mice. *J. Natl. Cancer Inst.*, 52 : 565, 1974.
- 22 — Fumarola, D. and Giardono, D.: Influenza della timectomia e della ipertimizzazione sulla sviluppo del sarcoma 3, 4-benzopirene nel ratto. *Tumori*, 48 : 5, 1962.
- 23 — Goldstein, A. L., Slater, F. D. and White, A.: Preparation, assay and partial purification of a thymic lymphopoietic factor (Thymosin). *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 56 : 1010, 1966.
- 24 — Grant, G. A. and Miller, J. F. A. P.: Effect of neonatal thymectomy on the induction of sarcomata in C57Bl mice. *Nature*, 205 : 1124, 1965.
- 25 — Grant, G. A. and Roe, F. J. C.: The effect of phenanthrene on tumor induction by 3,4-benzopyrene administered to newly born mice. *Brit. J. Cancer*, 17 : 261, 1963.
- 26 — Grant, G. A., Roe, F. J. and Pike, M. C.: Effect of neonatal thymectomy on the induction of papillomata and sarcomata by 3,4-BP. *Nature*, 210 : 603, 1966.
- 27 — Heideberg, C.: Current trends in chemical carcinogenesis. *Feder. Proc.*, 32 : 2154, 1973.

- 28 — Henry, M. C., Port, C. D., Bates, R. R. and Kaufman, D. G.: Respiratory tract tumors in hamsters induced by benzopyrene. *Cancer Res.*, 33: 1585, 1973.
- 29 — Herberman, R. B.: Cell-mediated immunity to tumor cells. *Adv. Cancer Res.*, 19: 207, 1974.
- 30 — Johnson, S.: Effect of thymectomy and the dose of 3-MC on the induction and antigenic properties of sarcomas in C57Bl mice. *Grit. J. Cancer*, 22: 93, 1968.
- 31 — Johnson, S.: Effect of the thymectomy inductions of skin tumors by dibenzanthracene and of breast tumors by dimethylbenzanthracene in mice of the IF strains. *Brit. J. Cancer*, 22: 755, 1968.
- 32 — Kaplan, H. S.: Influence of thymectomy, splenectomy and gonadectomy on incidence of radiation induced lymphoid tumor in strain C57Bl mice. *Natl. Cancer Inst.*, 11: 83, 1950.
- 33 — Kel'y, M. G. and O'Gara, R. W.: Induction of tumors in newborn mice with dibenz (a. b) anthracene and 3-methylcholanthrene. *J. Natl. Cancer Inst.*, 26: 651, 1961.
- 34 — Klein, M.: Induction of lung adenomas following exposure of pregnant, newborn and immature male mice to urethan. *Cancer Res.*, 14: 438, 1954.
- 35 — Larsen, C. D.: Pulmonary tumor induction by transplacental exposure to urethan. *J. Natl. Cancer Inst.*, 8: 63, 1947.
- 36 — Law, L. W.: The production of tumors by injection of a carcinogen into the amniotic fluid of mice. *Science*, 91: 96, 1940.
- 37 — Law, L. W.: Neoplasms in thymectomized mice following room infection with polyoma virus. *Nature*, 205: 672, 1965.
- 38 — Law, L. W.: Immunologic responsiveness and the induction of experimental neoplasms. *Cancer Res.*, 26: 1121, 1966.
- 39 — Law, L. W. and Miller, J. H.: The influence of thymectomy on the incidence of carcinogen induced leukemia in strain DBA mice. *J. Natl. Cancer Inst.*, 11: 425, 1950.
- 40 — Levinthal, J. P., Buffett, R. F. and Furth, J.: Prevention of viral lymphoid leukemia of mice by thymectomy. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 100: 610, 1959.
- 41 — Lozzio, B., Machoda, E. and Virgilio, L.: Red cell destruction in rats with RES hiperfunction induced by P-dimethylaminoazobenzene. *J. Reticuloendothel. Soc.*, 3: 149, 1966.
- 42 — Magee, P. N.: Transplacental carcinogenesis. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 68: 655, 1975.
- 43 — Maugh, T. H.: Chemical carcinogenesis: A long neglected field blossoms. *Science*, 183: 940, 1974.

- 44 — Mc Endy, D. P., Boon, M. C. and Furth, J.: On the role of the thymus, spleen and gonads in development of leukemia in high leukemia stock of mice. *Cancer Res.*, 4: 377, 1944.
- 45 — Medina, D., Stockman, G. and Griswold, D.: Significance of chemical carcinogen-induced immunosuppression in mammary tumorigenesis in Blb/C mice. *Cancer Res.*, 34: 2663, 1974.
- 46 — Metcalf, D.: The thymus and carcinogenesis. In 'The Thymus', Springer Verlag, Berlin, N. Y. Heidelberg, 1966, pp. 118-144.
- 47 — Miller, J. F. A. P.: Immunologic function of the thymus. *Lancet*, 2: 748, 1969.
- 48 — Miller, J. F. A. P., Grant, G. A. and Roe, F. J. C.: Effect of thymectomy on the induction of skin tumors by 3,4-benzopyrene. *Nature*, 199: 920, 1963.
- 49 — Mohr, U., Althoff, J. and Authaler, A.: Diaplacental effect of carcinogen diethylnitrosamine in the golden hamster. *Cancer Res.*, 26: 2349, 1966.
- 50 — Napalkov, N. P. and Alexandrov, V. A.: Neudotropic effect of 7,12-DMBA in transplacental carcinogenesis. *J. Natl. Cancer Inst.*, 52: 1365, 1974.
- 51 — O'Gara, R. W., Kelly, M. G., Brown, J. and Mantel, N.: Induction of tumors in mice given a minute single dose of dibenz (a,h) anthracene or 4-methylcholanthrene as newborns. *J. Natl. Cancer Res.*, 35: 1027, 1965.
- 52 — Parmiani, G., Colnaghi, M. I. and Della-Porta, G.: Immunodepression during urethan and N-nitrosamethylurea leukomogenesis in mice. *Br. J. Cancer*, 25: 354, 1971.
- 53 — Pietra, G., Rappaport, H. and Shubik, P.: The effects of carcinogen chemicals in newborn mice. *Cancer*, 14: 308, 1961.
- 54 — Prehn, R. T.: Function of depressed immunologic reactivity during carcinogenesis. *J. Natl. Cancer Inst.*, 31: 791, 1963.
- 55 — Prehn, R. T. and Main, J. M.: Immunity to MC-induced sarcomas. *J. Natl. Cancer Inst.*, 18: 769, 1957.
- 56 — Rees, J. A. and Symes, M. O.: Immunodepression carcinogenesis and subsequent tumor growth in mice. *Int. J. Cancer*, 11: 202, 1973.
- 57 — Ryser, H. J. P.: Chemical carcinogenesis. *N. Eng. J. Med.*, 285-72, 1971.
- 58 — Shabad, L. M., Kolesnichenko, T. S. and Nikonova, T. V.: Transplacental and direct action of benzo (a) pyrene studied in organ cultures of embryonic lung tissue. *Neoplasma*, 22: 113, 1975.
- 29 — Sinkovics, J. G.: Immunology of tumors in experimental animals. In 'The immunology of Malignant Disease', Ed. (Harris, J. E. and Sinkovics, J. G.), C. V. Mosby Comp., Saint Louis, 1976, pp. 93-283.

- 60 — Sjodin, K., Dalmaso, A. P., Smith, J. M. and Martinez, C.: Thymectomy in newborn and adult mice. Transplantation, 1:521, 1963.
- 61 — Smith, W. E. and Rous, P.: The neoplastic potentialities of mouse embryo tissues. II. Contributory experiments: Results with skin of C3H and Webster-Swiss embryos. General considerations J. Exp. Med., 81:621, 1945.
- 62 — Smith, W. E. and Rous, P.: The neoplastic potentialities of mouse embryo tissues: IV. Lung adenomas in baby mice as result of prenatal exposure to urethan. J. Exp. Med., 88:529, 1948.
- 63 — Stjernsward, J.: Immunodepressive effect of 3-methylcholanthrene. Antibody formation at the cellular level and reaction against weak antigenic homografts. J. Natl. Cancer Inst., 36:885, 1965.
- 64 — Stjernsward, J.: Further immunological studies of chemical carcinogenesis. J. Natl. Cancer Inst., 38:515, 1967.
- 65 — Stjernsward, J.: Introduction: Modification of immunity and carcinogenesis. Natl. Cancer Inst. Monogr., 35:149, 1972.
- 66 — Strong, L. C. and Hollander, W. F.: Effects of methylcholanthrene in pregnant mice. J. Natl. Cancer Inst., 8:79, 1947.
- 67 — Stutman, O.: Carcinogen-induced immun depression. Absence in mice resistance to chemical oncogenesis. Science, 166:620, 1969.
- 68 — Suntzeff, V. Carruthers, C. and Cowdry, E. V.: The role of sebaceous glands and hair follicles in epidermal carcinogenesis. Cancer Res., 7:439, 1947.
- 69 — Taçoy, A. ve Bulay, O. M.: Karsinojenlerle doğumu takiben muamele edilen neonatlarda timektominin akciğer adenomları ve deri papillom'arı oluşmasına etkileri. T.B.T.A.K. IV. Bilim Kongresi Tebliği, 1973.
- 70 — Takahashi, G. and Yasuhira, K.: Chromatographic analyses of 3-MC, metabolism in adult and fetal mice and occurrence of conjugating enzymes in the fetus. Cancer Res., 35:613, 1975.
- 71 — Takahashi, G. and Yasuhira, K.: Macroautoradiographic and radiometric studies on disturbance of 3-MC in mice and their fetuses. Cancer Res., 33:23, 1973.
- 72 — Terracini, B., Palestro, G., Gigliardi, M. and Mantese, R.: Carcinogenicity of dimethylnitrosamine in Swiss mice. Brit. J. Cancer, 20:871, 1966.
- 73 — Tomatis, L.: Increased incidence of tumors in F₁ and F₂ generations from pregnant mice injected with a polycyclic hydrocarbon. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 119:743, 1965.
- 74 — Tomatis, L. and Goodal, C. M.: The occurrence of tumors in F₁, F₂ and F₃ descendants of pregnant mice injected with 7,12-dimethylbenz (a) anthracene. Int. J. Cancer, 4:219, 1969.

- 75 — Tomatis, L., Hilfrich, J. and Turusov, V.: The occurrence of tumors in F₁, F₂ and F₃ descendants of BD rats exposed to N-nitrosomethylurea during pregnancy. *Int. J. Cancer*, 15: 385, 1975.
- 76 — Tomatis, L., Turusov, V., Guibbert, D., Duperray, B., Malaveille, C. and Pacheco, H.: Transplacental carcinogenic effect of 3-MC in mice and its quantitation in fetal tissues. *J. Natl. Cancer Inst.*, 47: 645, 1971.
- 77 — Toth, B., Rappaport, H. and Shubik, P.: The influence of dose and age on the induction of malignant lymphomas and other tumors by 7,12-DMBA in Swiss mice. *J. Natl. Cancer Inst.*, 30: 723, 1963.
- 78 — Toth, B. and Shubik, P.: Carcinogenesis in AKR mice injected at birth with benzo (a) pyrene and dimethylnitrosamine. *Cancer Res.*, 27: 43, 1967.
- 79 — Trainin, N. and Linker-Israeli, M.: Increased incidence of urethan induced lung adenomas in neonatally thymectomized mice challenged with lymphoid cells. *Cancer Res.*, 29: 1840, 1969.
- 80 — Trainin, N. and Linker-Israeli, M.: Influence of immunosuppression and immunorestitution on the formation of urethan induced lung adenomas. *J. Natl. Cancer Inst.*, 44: 893, 1970.
- 81 — Trainin, N. and Linker-Israeli, M.: Increased incidence of spontaneous lung adenomas in mice following neonatal thymectomy. *Isr. J. Med. Sci.*, 7: 36, 1971.
- 82 — Trainin, N., Linker-Israeli, M., Small, M. and Boiato-Chen, L.: Enhancement of lung adenoma formation by neonatal thymectomy in mice treated with 7,12-dimethylbenzo (a) anthracene or urethan. *Int. J. Cancer*, 2: 326, 1967.
- 83 — Truhaut, R., Lesca, P., Dechambre, R. P. and Gerard-Marchant, P.: Sur les Modalités de Manifestation du Pouvoir Cancérogène du Benzo-3,4-Pyrénechez la Souris Nouvesu-néecou Traitée Immédiatement apres le Sevrage. *Pathol. Biol.*, 14: 955, 1966.
- 84 — Vandeputte, M.: Immunosuppression and Cancer. *Ann. Inst. Pasteur*, 122: 677, 1972.
- 85 — Vesselinovitch, S. D., Mihailovitch, N. and Pietra, G.: The prenatal exposure of mice to urethan and the consequent development of tumors in various tissues. *Cancer Res.*, 27: 2333, 1967.
- 86 — Walburg, H. E. Jr. and Gosgrove, G. E.: MC-induced neoplasms in germ-free RMF mice. *Int. J. Cancer*, 8: 338, 1971.
- 87 — Waldman, T., Strober, W. and Blaese, R. M.: Immunodeficiency disease and malignancy. *Ann. Int. Med.*, 77: 605, 1972.
- 88 — Walters, M. A. and Roe, F. J. C.: The induction of skin tumors in mice by neonatal injection of 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene (DMBA) followed by applications of croton oil to the skin. *Brit. J. Cancer*, 21: 358, 1967.

- 89 — Yasuhira, K. : Damage to the thymus and other lymphoid tissues from 3-MC and subsequent thymoma production in mice. *Cancer Res.*, 24 : 558, 1964.
- 90 — Yeğın, G., Bulay, O. M. ve Taçoı, A. : Adult hayvanlarda timektominin benzapiren ve dimetilbenzantrazen ile meydana gelen sarkomların oluşmasına etkisi. T.B.T.A.K IV. Bilim Kongresi Tebliğı, 1973: