

Farelerde 3-Metilkolantrenle İndüklenen Fibrosarkoma Üzerine Sisteamin, Putresin ve Sisteamin-Putresin Kombinasyonunun Etkileri

Abdullah DOĞAN¹  Pınar AKSU¹ Dinçer ERDAĞ² Kadir ÖZCAN³ Ertan DOĞAN⁴

¹ Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, TR-36100 Kars - TÜRKİYE

² Batman Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, TR-72060 Batman - TÜRKİYE

³ Uşak Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Patoloji Anabilim Dalı, TR-64100 Uşak - TÜRKİYE

⁴ Göle İlçe Tarım Müdürlüğü, TR-75700 Göle, Ardahan - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2013-9329

Özet

Bu çalışmada farelerde 3-metilkolantren (3-MC) ile indüklenen fibrosarkoma üzerine sisteamin, putresin ve sisteamin-putresin kombinasyonunun etkileri araştırıldı. Araştırmada *Mus musculus albino* ırkı, 2-3 aylık ve 20 ± 2.0 g ağırlığında olan toplam 135 adet erkek fare kullanıldı. Fareler her grupta 15 adet olacak şekilde 9 gruba ayrıldı. Fareler standart diyet ve su ile *ad libitum* olarak beslendi. Birinci grup negatif kontrol grubu olarak tutuldu. İkinci gruba deri altı yolla 0.2 ml susam yağı, üçüncü gruba deri altı yolla 3-MC enjekte edildi. Dördüncü gruba içme suyuyla %0.1 oranında sisteamin, beşinci gruba %0.1 oranında putresin, altıncı gruba %0.1 oranında sisteamin ve %0.1 oranında putresin karışımı *ad libitum* olarak verildi. Yedinci gruba deri altı yolla 0.2 ml 3-MC çözeltisi (1 mg 3-MC/0.2 ml susam yağı) ve bir ay sonra içme suyuyla %0.1 oranında sisteamin, sekizinci gruba deri altı yolla 0.2 ml 3-MC çözeltisi ve bir ay sonra içme suyuyla %0.1 oranında putresin, dokuzuncu gruba deri altı yolla 0.2 ml 3-MC çözeltisi ve bir ay sonra içme suyuyla %0.1 oranında sisteamin + %0.1 oranında putresin karışımı *ad libitum* olarak verildi. Bir yılın sonunda farelerin dokuları morfolojik ve histopatolojik olarak değerlendirildi. Araştırma sonucunda 3-MC ile indüklenen fibrosarkomaya karşı çoktan aza doğru putresin, sisteamin+putresin ve sisteaminin koruyucu etki gösterdiği belirlendi.

Anahtar sözcükler: *Fibrosarkoma, 3-Metilkolantren, Sisteamin, Putresin*

Effects of Cysteamine, Putrescine and Cysteamine-Putrescine Combination on 3-Methylcholanthrene-Induced Fibrosarcoma in Mice

Summary

In this study the effects of cysteamine, putrescine and the combination of cysteamine and putrescine were investigated in mice with 3-Methylcholanthrene (3-MC) induced on fibrosarcoma. A total of 135 adult male Mouse (*Mus musculus*) albino, 2-3 months old and weighting 20 ± 2.0 g was used in this study. Mice in each group were divided 15 consisting of 9 individual. The first group was kept as a negative control group. The second group received subcutaneous injection of 0.2 ml sesame oil, and the third group was given subcutaneously 3-MC (1 mg/0.2 ml sesame oil). The 4th, 5th and 6th groups received 0.1% cysteamine, 0.1% putrescine and 0.1% cysteamine + 0.1% putrescine mix with drinking water *ad libitum* respectively. The 7th, 8th and 9th groups were injected with 0.2 ml of 3-MC solution. After 1 month 0.1% cysteamine, 0.1% putrescine and 0.1% cysteamine + 0.1% putrescine combinations were administrated in drinking water to 7th, 8th and 9th groups respectively. After 1 year of all experiments mice tissues were evaluated morphologic and histopathologically. As a result were respectively demonstrated protective effect of putrescine, cysteamine+putrescine and cysteamine against 3-MC induced fibrosarcoma.

Keywords: *Fibrosarcoma, 3-Methylcholanthrene, Cysteamine, Putrescine*

GİRİŞ

Kanser tedavisinde toksisitesi düşük, ancak etkinliği yüksek ilaç geliştirme çalışmaları spesifik ve başarılı

bir farmakoterapi için büyük önem arz etmektedir ^[1,2]. Aflatoksinler, nitrozo bileşikler, aromatik aminler ve doyma-



İletişim (Correspondence)



+90 474 2251150/5128



adogankars@hotmail.com

miş polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH; benzantrisen, fenantren vb) tümöre neden olan kimyasal maddeler arasında bulunmaktadır. PAH'lar kuvvetli karsinojenik etkilere sahiptirler. Deneysel çalışmalarda 3-metilkolantren (3-MC) tümör indüksiyonu amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır [1-9]. Yapılan araştırmalarla 3-MC'nin immünotoksik, mutajenik, genotoksik ve karsinojenik etkileri ortaya konmuş ve farelerde 3-MC'nin mikronükleus testiyle mutajenik, deri testiyle de kanserojenik etkileri gösterilmiştir [9]. Deneysel hayvanlarına 3-MC haftada bir kez 200 mg/kg dozda oral yolla verildiğinde kansere ve genotoksik etkilere neden olmaktadır [10]. Organizmaya giren 3-MC'nin genetik yapılarla birleşmesi kansere neden olmaktadır [1,7,8,11]. Vücuda alınan 3-MC'nin epoksit, dihidroksile ve metile gibi metabolitleri kanserojenik etkiyi başlatırlar [1,3,12]. Zarar gören DNA tümör başlatıcısı olarak görev yapar. Oluşan tümör hücreleri immün sistem tarafından kontrol altına alınamazsa gelişerek tümörü oluşturur. 3-MC'nin etkileri arilhidrokarbon reseptörlerini indüklemesiyle de yakından ilişkilidir [13-15]. Flavin taşıyan monoksijenazlarda ortaya çıkan bu tip indüksiyon ilaç metabolizmasını doğrudan etkilemektedir [13]. Karsinojen maddelerin etki şiddeti maddelerin fiziksel-kimyasal özellikleri, vücudun metabolizma kapasitesi ve yollarıyla doğrudan ilişkilidir. Karsinojen maddenin enterohepatik dolaşıma girmesi, yağda çözünürlüğünün yüksek, metabolizma ve eliminasyon oranının ise düşük olması karsinojenik etkinliği şiddetlendirmektedir. Yağda çözünürlüğü yüksek olan 3-MC gibi kimyasal maddeler vücuttan daha yavaş ekskrate edilirler. 3-MC'nin metabolizmasında rol oynayan karaciğer ve böbreklerin sağlıklı olup olmadığı da toksisitesinin ortaya çıkmasında etkili olmaktadır. 3-MC Faz I reaksiyonları ile toksik reaktif ürünlere dönüştürüldükten sonra konjugasyonla detoksifiye ürünler halinde atılır. Atılım organlarında reaktif ürünler ve parçalanmış konjuge metabolitler olumsuz etkilere neden olabilmektedir [1,2,3,5,16]. Enzim indüktörleri biyotransformasyonu hızlandırarak etkin bileşiklerin karsinojenik etkilerini azaltmaktadır [16]. Bu nedenle karsinojen etkinlik maddelerin farmakokinetik özellikleriyle de ilişkilidir. Danovan ve ark.[9] PAH'ların transplasental kanserojen ve mutajen olduklarını bildirmektedir. Dolayısıyla PAH'lar gebe hayvanlar tarafından alındıklarında fetüsta da kanser ve teratojenik bozukluklar yapabilirler. Bazı kanserlerin beslenmeyle doğrudan ilişkili olduğu ortaya konmuştur [16]. Karsinojen maddelerin gıdalardaki düzeylerinde sifir tolerans kuralı uygulanmaktadır [3,5].

Sisteamin sisteminin dekarboksilasyonu ile oluşan bir biyojenamindir. Sistein taşıyan glutatyon toksik maddelerle konjuge olarak idrarla atılmalarına, detoksifiye edilmelerine neden olur. Sistein sisteamin halinde koenzim A (CoA)'nın yapısına (sisteamin + beta-alanin + pantoin asit + adenozin) iştirak ettiğinden enerji metabolizmasında görev alır [1,17,18]. CoA aynı zamanda bir tampon görevi üstlenerek asetik asitin taşınmasına katkı yapmaktadır. Sisteamin sistinozisin tedavisinde 15 mg/kg dozda kullanılır [19-21]. Vecsei ve ark.[18] ve Wilmer ve ark.[21] sisteminin

somatostatininin sentezini azalttığını bildirmektedirler. Bu nedenle büyüme teşvik etmede kullanılma potansiyeli taşımaktadır. Doğan ve ark.[1] sisteaminin farelerde 3-MC ile indüklenen fibrosarkoma riskini düşürdüğünü tespit etmişlerdir.

Putresin ornitin dekarboksilasyonu ile oluşan bir biyojenamindir. Bayat et ürünleri, balık konserveleri ve kavrularda bakteriler tarafından oluşturulması nedeniyle kavrularda alkaloidi veya ptomain olarak da adlandırılır [1-3,5]. Putresin ve türevlerinden olan spermin ile spermidinin hücrelerin büyüme, gelişme ve farklılaşmasında rolleri olduğu bilinmektedir [22,23]. Poliaminlerin gençlerde büyüme açısından önemli olduğu düşünülmektedir. Poliamin sentezinde rol oynayan ornitin dekarboksilaz enzim inhibitörlerinin kolon kanseri riskini azalttığı bildirilmektedir [21]. Bazı araştırmacılar putresinin bitkilerde de bulunduğunu ve bazı analoglarının apoptozu indüklediğini ve oksidatif sistemle alakalı olarak antiproliferatif etki gösterdiğini bildirmiştir [24].

Sisteaminin hücre metabolizmasında rol oynadığı bilinmektedir. Putresin ve sisteaminin taşıdığı amin grupları ile hücre içinde tampon görevi üstlendiği tahmin edilmektedir. Bu bileşiklerin taşıdıkları fonksiyonel gruplarla hücrelerin enerji metabolizması ve proliferasyonunu baskılayacağı düşünülmektedir. Sisteaminin immün sistemi desteklediği de bilinmektedir. Bu araştırmada sisteamin, putresin ve sisteamin-putresin kombinasyonunun farelerde 3-MC ile indüklenen fibrosarkoma üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

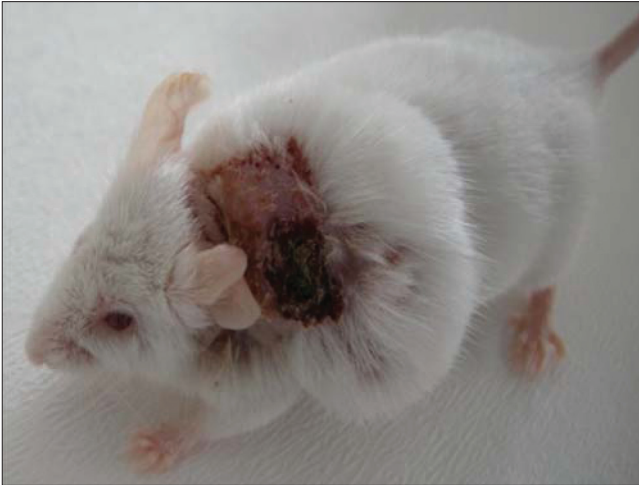
Bu araştırma Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneysel Yeri Etik Kurulu'ndan izin alınarak yapılmıştır (KAÜ-HADYEK 26.11.2010/50). Araştırmada *Mus musculus albino* ırkına ait, 2-3 aylık ve 20±2.0 g ağırlığında olan toplam 135 adet erkek fare kullanıldı. Fareler her grupta 15 adet olacak şekilde 9 gruba ayrıldı. Bütün gruplar standart diyet ve su ile *ad libitum* olarak beslendi. Yem Erzurum Bayramoğlu Yem Fabrikasından, kimyasal maddelerden sisteamin (CAS:156-57-0) Fluka, putresin (P7505) Sigma, 3-MC (CAS: 56-49-5) ise Supelco firmasından temin edildi. 3-MC'nin 1 mg/0.2 ml susam yağı çözeltisi, sisteamin ve putresinin ayrı ayrı %0.1'lik içme suyu ile çözeltileri en fazla üç günlük olarak hazırlandı. Sisteamin ve putresin çözeltileri farelere içme suyuyla *ad libitum* olarak verildi

1. Grup negatif kontrol grubu olarak tutuldu. 2. Gruba deri altı yolla (toraks bölgesinin dorsalinden) 0.2 ml susam yağı, 3. gruba toraks bölgesinden deri altı yolla 0.2 ml 3-MC çözeltisi enjekte edildi. 4. Gruba sisteamin, 5. gruba putresin, 6. gruba sisteamin ve putresin çözeltilerinin eşit oranda karışımları *ad libitum* olarak içme suyu ile verildi. 7. Gruba toraks bölgesinden deri altı yolla 0.2 ml 3-MC çözeltisi enjeksiyonundan bir ay sonra sisteamin, 8. gruba toraks bölgesinden deri altı yolla 0.2 ml 3-MC çözeltisi

enjeksiyonundan bir ay sonra putresin, 9. gruba toraks bölgesinden deri altı yolla 0.2 ml 3-MC çözeltisi enjeksiyonundan bir ay sonra sisteamin ve putresin çözeltileri karışımı *ad libitum* olarak verildi. İlaç uygulamaları bütün gruplarda aynı zamana denk getirildi. Hayvanlar bir yıl süreyle her 12 saatte en az bir kere olmak üzere takip edildi. Bu süre sonunda yaşayan hayvanlar servikal dislokasyonla ötanazi edildi. Kendiliğinden ölen ve ötanazi edilen hayvanlar tartıldı ve dokuları morfolojik ve histopatolojik olarak araştırıldı [25]. Tümöral oluşumların boyutları ve ağırlıkları ölçüldü. Doku ve fibrosarkomalardan alınan örnekler formol-alkol solüsyonunda tespit edilip parafinde bloklandıktan sonra 6 mikrometre kalınlığında kesitler alındı. Hemotoksilen ve eozin ile boyanarak incelendi. Tümör sayılarının değerlendirilmesinde Minitab Realese 12.1 istatistik programı kullanıldı [26].

BULGULAR

Morfolojik muayenede grup 3, 7, 8 ve 9'da 3-MC'nin



Şekil 1. Grup 3'e ait fibrosarkomalı bir fare
Fig 1. A mouse fibrosarcoma of Group 3

injeksiyon yerlerinde kıl dökülmesi, dermateit ve iritasyon belirtileri tespit edildi. Bir yıl sonra grup 1'de 12, grup 2'de 11, grup 4'te 10, grup 5'te 11, grup 6'da 10 adet farenin yaşadığı tespit edildi. Grup 8'de 12 ay sonra sonra 3, grup 7 ve grup 9'da onbir ay sonra sırasıyla 3 ve 4 adet farenin tümör taşımadan yaşadığı belirlendi. Kontrol amacıyla 3-MC enjekte edilen farelerin hiç birinin 10 aydan daha uzun süre yaşamadığı tespit edildi. Makroskopik ve mikroskopik araştırmalarda grup 1, 2, 4, 5, 6'da hiç tümör gözlenmezken, grup 3'te 11 (%73.3), grup 7'de 8 (%53.3), grup 8'de 6 (% 40) ve grup 9'da 7 (%46.6) adet tümörlü fareye rastlandı. Grup 3'e ait tümörlü bir fare **Şekil 1**'de görülmektedir. Fibrosarkomal mikroskopik olarak doğrulandı. Tümörlü fareye (grup 3) ait mikroskopik bulgular **Şekil 2** ve **Şekil 3**'te sunulmuştur. Grup 3'e ait bir farenin böbreğinde mononükleer hücrelerin baskın olduğu kronik miyelonefrit tespit edildi. Yine aynı gruptaki bir farede akciğerlerde yangı belirtileri gözlemlendi.

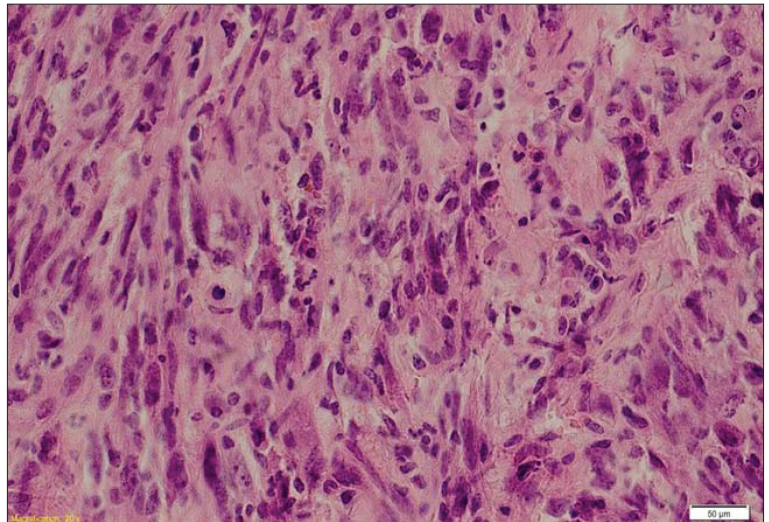
Farelerin ortalama ağırlıkları grup 1'de 27.2, grup 2'de 27.3, grup 4'te 26.2, grup 5'te 25.8, grup 6'da 26.9 olarak bulundu. Grup 3, 7, 8, 9'daki farelerin ağırlıkları, gözlenen tümörlerin sayısı, ağırlık ve boyutları ölçülerek **Tablo 1**'de sunulmuştur. Hayvan ağırlığı ölen ve ötanazi edilen hayvanların tartılması ile elde edilmiştir. Sonuçlar istatistik açıdan ki kare testiyle değerlendirildiğinde grup 3 ve 5'te bulunan farelerin ağırlığı arasındaki fark diğer grupların aksine önemli bulundu ($P \leq 0.05$). Tümör ağırlık farkları ise bütün gruplarda önemsiz bulundu ($P \leq 0.05$). Oluşan tümör sayıları arasındaki fark kontrol grubu ile grup 3 arasında önemli ($P \leq 0.001$), grup 3, grup 7, 8 ve 9 arasında ise önemsiz bulundu ($P \leq 0.05$).

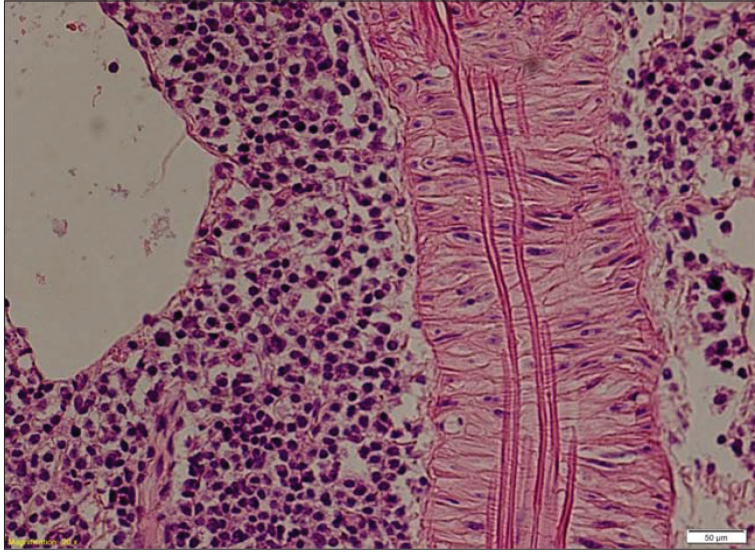
TARTIŞMA ve SONUÇ

Deney hayvanlarında yapılan kanser çalışmalarında mutajen ve karsinojen etkinliği bilinen 3-MC yaygın kullanılmaktadır [1,2,7,8,10,11]. Periton içi ve oral yolla 40-200 mg/kg dozda deney hayvanlarına verilen 3-MC kansere neden

Şekil 2. Grup 3'e ait bir fareden rezekte edilen fibrosarkoma'nın mikroskopik görünümü x200

Fig 2. Microscopic view of the resected from a mouse fibrosarcoma of Group 3 x200





Şekil 3. Grup 3'e ait bir farenin böbreğinde tespit edilen kronik nefritis x 200

Fig 3. Identified a mouse kidney chronic nephritis of Group 3 x200

Tablo 1. Hayvanların ağırlıkları, tümörlerin gruplara göre sayı, ağırlık ve boyutları (G: Grup, HA: Hayvan ağırlığı, TA: Tümör ağırlığı, TB: Tümör boyutları, ağırlıklar gram, boyutlar cm olarak verilmiştir)

Table 1. Weights of the animals, according to the groups of tumors number, weight and size (G: Group, HA: Animal weight, TA: Tumor weight, TB: Tumor sizes, weights, grams, dimensions are given in cm)

Fare No	G 3			G 7			G 8			G 9		
	HA	TA	TB	HA	TA	TB	HA	TA	TB	HA	TA	TB
1	28.4	-	-	29.5	8	2x3x2	27	-	-	27.7	-	-
2	32.3	5	2x2x2	30.5	7	2x2x2	36.4	8.4	2x3x2	25	-	-
3	34.5	7	2.5x2x2	28.3	8	3x2.5x2	27.5	-	-	26.9	-	-
4	25.9	-	-	25.6	-	-	38.1	5.4	2x2x2	29.8	6.4	2x2x2
5	30.1	-	-	28.1	-	-	25.3	-	-	40.6	6	2x2x2
6	28.2	7.5	3x2x2	25	-	-	28.2	6.5	2x2x2	24	-	-
7	25.6	6.2	2x2x2	35.6	4	3x2x1	29.5	5.1	2x2x2	26.3	5	2x2x2
8	26.8	5.1	2x3x1	32.1	-	-	25.4	-	-	31.3	3	2x1x1
9	28.4	-	-	29.8	5	3x2x1	30.1	-	-	36.1	8	2x2x3
10	32.5	4.8	2x3x1	24.3	-	-	30	-	-	24.5	-	-
11	34.5	7.4	2x3x2	28	-	-	32.3	6	2x2x2	25.6	-	-
12	29.7	3.5	2x1.5x1	33.7	6	2x2x2	25	6.1	2x2x2	34.2	5	2x2x2
13	29.6	9	2x3x2	26.1	-	-	30.6	-	-	31.3	5.4	2x2x2
14	25.3	8.1	2x3x2	24.1	6.4	2x2x2	28	-	-	27.8	-	-
15	27.6	7.3	2x2.5x2	31.3	7	2x2.5x2	29	-	-	23.6	-	-
Ortalama	29.3	6.4		28.8	6.4		29.5	6.3		29	5.5	

olmaktadır. Farelere deri altı yolla 1 mg dozda verilen 3-MC ile bir ay içerisinde tümör oluştuğu gözlenmiştir [1,7,11]. Bu çalışmada aynı dozda kullanılan 3-MC ile farelerde %73.3 oranında fibrosarkoma oluştuğu tespit edilmiştir. 3-MC'nin deri altı yolla enjekte edilmesiyle 3 ay içerisinde akciğer ve karaciğerde metastaza rastlanılmıştır [1,11]. Bu çalışmada metastaz görülmemiştir. Fibrosarkomaların fazla metastaz yapmadığı bilinmektedir [7,8]. Keshava [11] 3-MC ile yaptığı tümör indüksiyonunda akciğerde kanama odaklarına rastlanmıştır. Bu çalışmada da 3-MC verilen grupların alveollerinde kanama ve eksudat birikimi göz-

lenmiştir. Bu bulgular ile araştırma sonuçları bir paralellik göstermektedir.

Yapılan çalışmalarda sisteaminin antitümör etkili olduğu bildirilmektedir [1,27]. Sisteamin 3-MC'nin oluşturduğu kanser oranını düşürdüğü tespit edilmiştir [1]. Bu çalışmada 3-MC verilmeyen kontrol gruplarında kanser gözlenmezken, 3-MC verilen grupta %73.3, 3-MC ve sisteamin verilen grupta ise %53.3 oranında tümöre rastlanmıştır. Bu sonuçlar Doğan ve ark.[1] yaptığı araştırma sonuçlarını desteklemektedir. N-asetilsistein gibi sistein bileşiklerinin

3-MC'nin meydana getirdiği hücre proliferasyonunu engellediği bildirilmektedir [28]. Serbest sisteaminin hidroksile bazlarla birleşerek genetik toksisiteyi azalttığı tespit edilmiştir [27]. CoA vücutta bir çeşit sisteamin deposu olarak görev yapmaktadır. Panteteinaz AsetilCoA'yı hidrolize ederek pantetonik asit ve serbest sisteamin açığa çıkarılmaktadır. Serbestleşen sisteaminin glutathiona dönüşüp hücre savunma sistemini güçlendirdiği bilinmektedir [29]. Panteteinaz enzimi inhibitörleri iodoasetat ve iodoasetamid gibi alkile ajanlar genotoksik etkiye neden olmaktadır [30]. Sisteamin daha çok CoA'nın sentezini doğurarak serbet asetik asiti bağlar. Sonuçta enerji metabolizması bloke olur. Bu durumda normal hücrelere göre hızlı çoğalan tümör hücrelerinin daha fazla etkilendiği düşünülmektedir. Sisteamin CoA'nın yapısında adenoziyi bağlayarak aynı zamanda serbest adenoziyi düzeyini düşürür ve genetik yapı ile enerjideki diğer adenoziyi yapıların (NAD, FAD) sentezini azaltır. Bu durumun hücre proliferasyonunun önlenmesinde görev üstlendiği düşünülmektedir. Willmer ve ark.[21] yaptıkları çalışmada sistinoziste enzimlerin inhibe olması sonucu ATP düzeyinin azaldığını ifade etmektedirler. Sisteaminin intrasellüler sistein, N-asetilsistein, ornitin ve glutatyon düzeyini yükselttiğini belirlemişlerdir.

Nükleofilik antimitojenler bleomisin gibi elektrofilik maddelerin etkilerini azaltabilmektedir [31]. Sisteaminin eritroblastik lösemide stokrom oksidazdaki nitöz oksitle kompleks yaparak apoptozu indüklediği de bilinmektedir [32]. Gebhard [33] 3-MC'nin klastojenik etkinlikte olduğunu tespit etmiştir. Sisteamin, sistein gibi maddeler mutajenik maddelerin hücre içi dağılımını değiştirdikleri ya da doğrudan klastojenlerle birleşerek etkili oldukları ileri sürülmektedir. Antimitojenik özelliğinin kanser oluşumunu engellemede etkili olabileceği düşünülmektedir. Gebhard [33] sisteaminin antiproliferatif etkinlikte olduğunu bildirmektedir. Bu sonuçlar araştırma bulgularını destekler niteliktedir.

Bu çalışmada 3-MC verilen gruba göre 3-MC ile birlikte putresin verilen grupta (Grup 8) tümör gelişiminin daha az olduğu belirlenmiştir. Grup 8'de %40 oranında tümör tespit edilmiş olup, bu sonuç Grup 7'den daha azdır. Putresinin hücrelerin büyümesi, olgunlaşması ve farklılaşmasında rolü olduğu bilinmektedir [22,23,34,35]. Ruiz-Cano ve ark.[22] poliaminlerin bebeklerin gelişiminde rol oynayabileceklerini ileri sürmektedir. Putresinin kolon kanserinde tümör miktarını artırdığı bildirilmektedir [36]. Kanser hastalarında putresin miktarının yüksek, radyoterapi alanlarda ise düzeylerinin azaldığı belirlenmiştir [37]. Bu durum tümörlerin erken teşhisinde ve tedavinin izlenmesinde kullanılabilir. Tümörlü hastalarda miktarlarının artması putresinin hücreler tarafından bir savunma mekanizması olarak mı yoksa tümör hücrelerinin gelişmesini teşvik etmek için mi ortaya çıktığı tam olarak açık değildir. Vargas ve ark.[23] yaptıkları çalışmada kolon adenokarsinom riski ornitin dekarboksilaz enzim inhibitörleri ile düşürüldüğünü belirlemişlerdir. Takao ve ark.[35] yaptıkları çalışmada poliaminlerin sentezinde rol oynayan ornitin

dekarboksilaz enzim inhibitörlerinin (diflorometilornitin) hücrelerin büyümesini azalttığı, ancak artan putresin konsantrasyonunun apoptozu indüklediği ve proliferasyonu azalttığını bildirmektedir. Putresinin hücrelerin üremesi için gerekli olduğu ancak hücre ölümü de yaptığı ifade edilmektedir [38]. Putresin ve analoglarının apoptozu indüklediği bilinmektedir [24,34,35]. Russo ve ark.[24] yaptıkları çalışmada putresinin etkilerini NO ile ilişkilendirmişlerdir. Putresinin reaktif oksijen (ROS) düzeyinde artış yaparak tümör hücrelerinde nekroza neden olduğunu bildirmektedir. Blachier ve ark.[39] yaptıkları çalışmada sodyum nitropurissidin hücre proliferasyonunu ve putresin sentezini inhibe ettiğini açıklamaktadır. Putresin redoks reaksiyonlarını engellemektedir [40]. Ayrıca asetik asit konjugatları halinde atılması asetik asit düzeyini azaltarak enerji metabolizmasının bloke olmasına katkı yapmaktadır. Putresinin doğrudan kanserojen maddelerle bağlanarak da etkili olduğu düşünülmektedir. Peterson ve ark.[41] yaptıkları çalışmada putresin ve spermidinin furanın toksik metabolitleriyle reaksiyona girerek henüz mekanizması tam olarak açıklanmamış karsinojenik etkinliği bastırdığı ifade edilmektedir.

Bu çalışmada sisteamin ile putresinin birlikte verildiği grupta 3-MC ile indüklenen fibrosarkoma oranı %46.6 olarak bulunmuştur. Bu oran grup 7'den düşük ama grup 8'den daha yüksektir. Tümör hücreleri daha hızlı ürediğinden daha fazla enerji ile enerji üretimi ve genetik sentezde kullanılan materyale (NAD, FAD, Adenoziyi) ihtiyaç duymaktadır. Enerji ve üreme ilişkisinin aşağıdaki gibi olduğu düşünülmektedir.

Adenoziyi ↔ ATP ↔ NAD ↔ FAD ↔ CoA ↔ Genetik bazlar

Adenoziyi'nin CoA halinde bağlanması ise diğer yapılara ihtiyacı artıracaktır. Sisteamin adenoziyi'nin CoA halinde bağladığından ATP üretimi için gereken baz, NAD ve FAD düzeyleri azalır. Sonuçta tümör hücreleri NAD kazanmak için glukozu laktik aside kadar yıkımlamaktadır. Glukozun anaerop şartlarda parçalanmasıyla ortaya çıkan asitler CoA ile taşınır. AsetilCoA asetik asiti serbestleştirerek hücrelerin enerji kazanmasına neden olur. Sisteamin AsetilCoA düzeyini artırmak ve doğrudan asetik asiti bağlayarak enerjide kullanılmasını sınırlayabilir. Bu durum, glutatyon sentezindeki artış ve taşıdığı SH gruplarının doğrudan ksenobiotikleri bağladığı ile bir arada düşünüldüğünde sisteaminin antiproliferatif etkinliğini açıklamada kullanılabilir. Sisteamin şeker baz çiftlerini CoA şeklinde bağlayarak genetik yapının sentezinde baskılanmaya neden olur. Putresin de sisteamin gibi amin grubuyla CoA'ya bağlanır. Bağlanmanın putresin + beta-alanin + pantoin asit+adenoziyi ya da putresin + pantoin asit + adenoziyi şeklinde olduğu düşünülmektedir. Bu durumda CoA'nın aktif grubu SH yerine amin grubu olur. Bu bileşiğin iki molekül asetik asit bağladığından enerji üretimini azaltabileceği düşünülmektedir. Kuhuwan ve Qureshi [42] yaptıkları çalışmada putresinin asetik asit ile konjuge olduğunu bildirmektedir. Araştırmasında kanser hastalarında asetil

konjugasyonun arttığı, tedavi edildiğinde ise azaldığı ifade edilmektedir. Alifatik aminlerin vücutta asetil konjugasyona girdikleri bilinmektedir [2,3,42]. Bu veriler ileri sürülen hipotezi destekler niteliktedir. Putresinden dolayı CoA'nın sentezinin artışı ATP ve NAD düzeylerini azaltarak enerji üretimini baskınlır. Bu etkiler hücrelerin proliferasyonunu zayıflatır. Putresin CoA'ya karşı sisteamin ile yarıştığı düşünülmektedir. Serbest kalan sisteamin sistein üzerin-den glutatyon sentezinde kullanılır. Bu hipotez araştırmada tespit edilen putresinin antiproliferatif etkisinin sisteamininden daha kuvvetli olmasını açıklamaktadır. Nagele [43] yaptığı araştırmada bakır-putresin-piridin bileşiğinin NADH oranında artış yaptığını ifade etmektedir. Aynı araştırmada ADP-ribolizasyonun inhibe olduğu, piridin dinükleotid ve adenilat miktarlarının etkilenmediği, hücrelerde subletal hasarların görüldüğü bildirilmektedir. Bu veriler putresinin enerji ve genetik materyal sentezini engellediği şekilde ileri sürdüğümüz hipotezi kısmen destekler niteliktedir. Ornitinin de putresin gibi karsinogenik furan metabolitleriyle çapraz bağlantılar yaptığı bildirilmektedir [41]. Antitümöral ilaç olarak putresin ve analoglarının kullanımı üzerinde benzer çalışmalar yapılmaktadır [44]. Bu araştırma sonucu ile elde elden veriler oldukça dikkat çekici olup, yeni tip antitümöral ilaçların geliştirilmesine farklı bir bakış açısı getirebileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, 3-MC injeksiyonundan bir ay sonra verilen putresin, putresin-sisteamin kombinasyonu ve sisteaminin 3-MC ile indüklenen fibrosarkomaya karşı farelerde kısmen de olsa koruyucu etki gösterdiği söylenebilir. İleri sürülen hipotezin ve araştırma sonuçlarının doğrulanabilmesi için daha geniş çaplı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Doğan A, Aksu P, Erdağ D, Bayezit M, Doğan E, Özcan K:** Farelerde 3-metilcholantren ile indüklenen fibrosarkoma üzerine sisteaminin etkileri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 19 (1): 7-12, 2013, DOI: 10.9775/kvfd.2012.6952
- Doğan A:** Veteriner Hekimler İçin Farmakoloji I, II Ders Notları. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Kars, 2012.
- Doğan A:** Toksikoloji Ders Notları. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Kars, 2012.
- Traş B:** Genetik Toksikoloji. In, Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A (Eds): Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. 2. Baskı. s.647-670. Medisan Yayınları No: 53. Ankara, 2002.
- Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A:** Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. 2. Baskı. Medisan Yayınları No: 53. Ankara, 2002.
- Ünsal A, Kaya S:** İlaçların istenmeyen etkileri. In, Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A (Eds): Veteriner Uygulamalı Farmakoloji. Cilt 1, 2. Baskı. s.163-173, Medisan Yayınları. No: 41. Ankara, 2000.
- Sozmen M, Tunca R, Erginsoy SD:** Cyclin a expression in associated with apoptosis and mitosis in murine 3-methylcholanthrene-induced fibrosarcomas. *Exper Tox Pathol*, 61, 41-49, 2009.
- Sacu D, Bildik A:** Deneysel olarak fibrosarkom oluşturulan ratların interlökin 6 (IL-6) ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF alfa) düzeylerinin belirlenmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15 (5): 681-686, 2009.
- Donovan PJ, Smith GT, Nardone R:** The mutagenic effect of 7,12-dimethylbenz (a)anthracene, 3-methylcholanthrene and benzo(a)pyrene to the devaloping syrian hamster fetus measured by an *in vivo/in vitro* mutation assay. *Mut Res*, 554, 111-117, 2004.
- Lutz CT, Browne G, Petzold CR:** Methycolantrene causes increased thymocyte apoptosis. *Toxicology*, 128, 151-167, 1998.
- Keshava N:** Tumorigenicity of morphologically distinct transformed foci induced by 3-methylcholantrene in BALB/c 3-T3 cells. *Mut Res*, 447, 281-286, 2000.
- Forth W, Henschler D, Rummel W:** Pharmakologie und Toxikologie. 4. Völlig Neu Bearbeitete Auflage. Bibliographisches Institut. Mannheim, 1983.
- Celius T, Pansoy A, Mathews J, Okey AB, Henderson MC, Krueger HS, Williams DE:** Flavin-Containing Monooxygenase-3: Induction by 3-methylcholanthrene and complex regulation by xenobiotic chemicals in hepatome cells and mause liver. *Tox Appl Pharm*, 247, 60-69, 2010.
- Kuroda M, Oikawa K, Yoshida K, Takeuchi A, Takeuchi M, Usui M, Umezawa A, Mukai K:** Effects of 3-methylcholanthrene on the transcriptional activity and mRNA accumulation of the oncogene hWAPL. *Cancer Letters*, 221, 21-28, 2005.
- Lemaire B, Beck M, Jaspert M, Debier C, Calderon PB, Thome JB, Rees JF:** Precision-Cut liver slices salmo salar as a tool to investigate the oxidative of CYP 1A-mediated PCP 126 and 3-methylcholanthrene metabolism. *Toxicol in Vitro*, 25, 335-342, 2011.
- Baijal PK, Fitzpatrick DW, Bird RP:** Phenobarbital and 3-methylcholanthrene treatment alters phase I and phase II enzymes and sensitivity of the rat colon to the carcinogenic activity of azoxymethane. *Food Chem Toxicol*, 35, 789-798. 1997.
- Anon:** From reaktive C2 unitsto acetyl coenzyme A: A long trail with an acetyl phoshate detour. *TIBS*, S. 302-304, 2000.
- Vecsei L, Ekman R, Alling C, Widerlöv E:** Influence of cysteamine and cysteine on open-field behaviour, and on brain concentration of catecholamine, somatostatin, neuropeptide Y and corticotropin releasing hormone in the heart. *J Neurol Transm*, 78, 209-220, 1989.
- Basouw M, Levchenko E:** Pharmacokinetics of cysteamine in cystinosis patient treated with hemodialysis. *Pediatr Nephrol*, 26, 639-640, 2011.
- Miller SL, Schlesinger G:** Prebiotic syntheses of vitamin coenzymes: I. Cysteamine and 2-mercaptoethanesulphonic acid (Coenzym M). *J Mol Evol*, 36, 302-307, 1993.
- Wilmer M J, Kluijtmans LAJ, Van Der Welden TJ, Willems PH, Scheffer PG, Masereeuw M, Monnens LA, Van Den Hauvel LP, Leftchenko EN:** Cysteamine restores glutathione redox status in cultured cystinotic proximal tubular epithelial cells. *Biochim Biophys Acta*, 1812, 643-651, 2011.
- Ruiz-Cano D, Perez-Liamas F, Zamora S:** Polyamines, implications for infant health. *Arch Argentinos De Pedietria*, 110 (3): 244-250, 2012.
- Vargas AJ, Wertheim BC, Gerner EW, Thornson CA, Rock C, Thompson PA:** Dieterly polyamine intake and risk of colorectal adenomatous polyps. *Am J Clin Nut*, 96 (1): 133-141, 2012.
- Russo A, Piovano M, Clercuzio M, Lombardo L, Tabasso S, Chamy MC, Vidari G, Cardile V, Vita-Finzi P, GArbarino JA:** Putrescin-1,4-dicinnamide from *Pholiota spumosa* (Blasidomycetes) inhibits cell growth of human prostate cancer cells. *Phytomedicine*, 14 (2-3): 185-191, 2007.
- Luna LG:** Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. Third ed., Mc Graw-Hill Book Comp. 1968.
- Minitab Realese 12.1:** Minitab for Windows Inc, 1998.
- Grachev SA, Kropachev EV, Litvyakova GI:** Synthesis of 5-S-cysteamine-6-hydroxytymine and evidence of its formation in the gama radiolysis of aqueous solutions of tyamine and cysteamine. *UDC*, 541 (15): 1595-1599, 1984.
- Juan SH, Lee JL, Ho PY, Lee YH, Lee WS:** Antiproliferative and antiangiogenic effects of 3-methylcholantrene an aryl-hydrocarbon reseptor agonist in human umbilical vascular endothelial cells. *Europ J Pharm*, 530, 1-8, 2006.
- Kaskow BJ, Proffitt JM, Blangero J, Moses EK, Abraham LJ:** Diverse biological activities of the vasculer non-inflammatory molecules. The

vanin pantetheinases. *BiochemBiophys Res Commun*, 417 (2): 653-658, 2012.

- 30. Pitari G, Malergue F, Martin F, Philippe JM, Massucci MT, Chabret C, Maras B, Dupre S, Naquet P, Galland F:** Panteteinase activity of membrane-bound vanilin 1: Lack of free cysteamine in tissues of vanilin 1 deficient mice. *FEBS Letters*, 483, 149-154, 2000.
- 31. Hoffman GR, Shorter RA, Quaranta RL, McMaster PD:** Two mechanisms of antimutagenicity the aminothiols cysteamine and WR 1065 in *Saccharomyces cerevisiae*. *Toxicol in Vitro*, 13, 1-9, 1999.
- 32. Sanina NA, Syrtsova LA, Psikha BL, Shkondina NI, Rudneva TV, Kotelnikov AI, Aldoshim SM:** Ferrocycytochrome c and deoxyhemoglobin in the reaktion with the iron cysteamine nitrosyl complex. *Rus Chem Bullet, Intel Eds*, 59 (10): 1944-1948, 2010.
- 33. Gebhard H:** The Anticlastogenic effect of various combinations of cysteamine, AET, HCT and amino acids on chromosome damage by trenimon and bleomycin in human lymphocytes *in vitro*. *Hum Genet*, 43, 185-203, 1978.
- 34. El-Salahy EM:** Correlation between polyamines and apoptosis among egyptian breast. *Clin Biochem*, 35 (7): 555-560, 2002.
- 35. Takao K, Rickhag M, Hegardt C, Oredsson S, Persson L:** Induction of apoptotic cell deat by putrescine. *Inter J Biochem Cell Biol*, 38, 621-628, 2006.
- 36. Milovica V, Turchanowa L, Khomutov AL, Khomutow RM, Caspary WF, Stein J:** Hydroxylamine-containing inhibitors of polyamine biosynthesis and impairment of colon cancer cell growth. *Biochem Pharm*, 61 (2): 199-206, 2001.
- 37. Khuhawa MY, Memon AA, Jaipal PD, Bahanger MI:** Capillary gas chromatographic determination of putrescine and cadaverine in serum of cancer patients using trifluoroacetylacetone as derivatizing reagent. *J Chrom B: Biomed Sci Appl*, 723 (1-2): 17-24, 1999.
- 38. Blachier F, Davila AM, Banamouzig R, Tome D:** Channelling of arginine in NO and polyamine pathways in colonocytes and consequences. *Front Bioscience-Landmark*, 16, 1331-1343, 2011.
- 39. Blachier F, Robert V, Setamnia M, Mayeur C, Duee PH:** Sodium nitroprusside inhibits proliferation and putrescine synthesis in human colon carcinoma cells. *FEBS Letters*, 396 (2-3): 316-318, 1996.
- 40. Rodriguez-Caso L, Sanchez-Jimenez F, Medina MA:** Putrescine and chlorpheniramine inhibit ehrlich ascites tumor cell plasma membrane ferricyanide reductase activity. *Cancer Letters*, 132 (1-2): 165-168, 1998.
- 41. Peterson LA, Phillips MB, Lu D, Sullivan MM:** Polyamines are traps for reactive intermediates in furan metabolism. *Chem Res Toxicol*, 24 (11): 1924-1936, 2011.
- 42. Khuhawan MY, Qureshis GA:** Polyamines as cancer markers: Applicable separation methods. *J Chrom B*, 764, 385-407, 2001.
- 43. Nagele A:** Unimpaired metabolism of pyridine dinucleotides and adenylates in chinese hamster ovary cells during oxidative stress elicited by cytotoxic doses of copper-putrescine-pyridine. *Biochem Pharmacol*, 49 (2): 147-155, 1995.
- 44. Nicolaus S:** Pharmacological aspects of cytotoxic polyamine analogs and derivatives for cancer therapy. *Pharmacol Ther*, 107 (1): 99-119, 2006.