

## LEVAMİSOL'ÜN 20 mg/kg DOZUNUN İSVİÇRE TÜRÜ ALBİNO FARELERDE KİMYASAL KARSİNOJENEZE ETKİSİ\*

Günay GİRİŞKEN

*İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,  
Patoloji Kürsüsü.*

### Ö Z E T

Bir antihelmintik ilaç olarak bilinen levamisol'ün, son zamanlarda yapılan çalışmalarla, 20 - 25 mg/kg dozunun farelerde geç aşırı duyarlılığı güçlendirdiği, greft reddini hızlandırdığı, belirli tümör transplantatlı bazı deney hayvanı türlerinde yüksek dozda levamisol'ün yaşam süresini uzattığı ve bu ilacın kimyasal karsinojenezdeki etkisinin yeterince araştırılmadığı dikkatimizi çektiğinden; İsviçre türü albino farelerde 20 mg/kg levamisol'ün kimyasal karsinojeneze etkisi gözlenmek üzere bu çalışma yapıldı.

### Deney Grupları :

- I. Grup :* Ense derisi altına 0.2 ml susam yağında erimiş 4 mg metilkolantren verilmiş 30 fare.
- II. Grup :* Ense derisi altına 0.2 ml susam yağında erimiş 4 mg metilkolantren ve ilki karsinogenin verildiği gün olmak üzere 30 günde bir intraperitoneal 20 mg/kg levamisol verilmiş 30 fare.
- III. Grup :* Ense derisi altına 0.2 ml susam yağı verilmiş 15 fare.
- IV. Grup :* İlki II. grupla aynı günde olmak üzere 30 günde bir intraperitoneal 20 mg/kg levamisol verilmiş 15 fare.
- V. Grup :* Saf kontrol olarak ayrılan 15 fare.

Belli sürelerde grupların kontrolü yapıldı. Gelişen tümörlerin sayısı, büyüklük ve büyüme hızları gözlemlendi.

Deney süresi sonunda bütün gruplardaki farelere geç aşırı duyarlılığı ölçmede yararlanılan «Pençe şişme testi» uygulandı.

\* Bu çalışma, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Kürsüsünde yapılmıştır.

Bulgular istatistiksel değerlendirilmeye de tâbi tutularak 20 mg/kg levamisol'ün kimyasal karsinogenезin latent süresini kısalttığı ve tümörün büyüme hızını arttırdığı, «Penceşişme testi» nin karsinogen almış farelerde geç aşırı duyarlılığı saptamada geçerli bir yöntem olmadığı kanısına varıldı. Levamisol'ün aynı zamanda ko-karsinogen etkisinin olabileceği fikri üzerinde de duruldu.

## GİRİŞ

Karsinogenез (kansereleşme), birbirini izleyen bir takım olay zincirlerinin sonucu olarak kabul edilir. Kansereleşmenin aşamalı bir olay olduğu *Core ve ark.*'lerinin, *Werner ve ark.*'lerinin deneyleri ile kesinleşmiştir. Bu deneylerde, karsinogen maddenin ancak bir hücre değişikliği yaptığı, asıl tümörün meydana gelmesi için ise başka faktörlerin etkisinin gerektiği gösterilmiştir<sup>15,37</sup>.

Karsinogenез olayının aşamaları sırasıyla şunlardır :

1 — *Dönüşme (Initiation) aşaması* : Bu aşamada karsinogen, hücrenin genomunda ve mitokondrialarında kimyasal bir değişiklik meydana getirir. Bu değişikliklerle işleyen enzimler işlemez hale gelir. Genlerin değişmesi «*metasyon*» denilen olaydır. Hücrenin genomunda meydana gelen bu değişiklik onu, üremeyi kontrol eden etkenlerden bağımsız kılar<sup>23,32,38</sup>.

Üremeyi denetleyen etkenler yönünden bağımsız hale gelen hücre hemen üremez. Bu hücrenin sonu şöyle olabilir :

a — Organizma tarafından yok edilir. Hücreyi yokeden etkenlerden birinin, immun sistem olduğunu biliyoruz. Bundan başka normalden sapmış hücrenin dejenerasyonu ya da nekrozu ile sonlanan iltihap ve ağır dejeneratif olaylar da bu hücreyi ortadan kaldırabilir.

b — Kimyasal yapı değişikliği gösteren bu hücre olduğu gibi kalabilir. Hücre bu sessizlik «*latent*» halinde uzun bir süre, hattâ hayatın sonuna dek üremeyebilir. Üremesi için bir uyarı gereklidir<sup>2,3</sup>.

2 — *Üreme (Promotion) aşaması* : Bu aşamada hücre üremeye başlamıştır. Üreme, bir taraftan sessizlik devresinde etkisini sürdüren baskı etkenlerinin ortadan kalkmasına, diğer taraftan «*Promotör*» denilen ve DNA sentezini arttıran bir etkiye bağlıdır<sup>12</sup>.

3 — *İlerleme (Progression) aşaması* : Bu aşama, tümöre özgü özelliklerde bir ilerlemedir. Hücrenin zarında, mitokondrialarında, endoplazmik

retikulumunda, çekirdek zarında, çekirdek kromozom içeriğinde ve boyanmasında değişiklikler görülür. Hücrelerin şekli de değişir. Hücrelerdeki bu şekil, büyüklük ve boyama değişikliğine «*Pleomorfizm*» denir. Bundan sonra oluşan mutasyonlar hücrenin polarite yeteneğini, yani kendi cinsinden hücre ile birleşerek o organ ve doku için özel olan sıra, asinüs, kitle, trabekül gibi yapı topluluklarını yapma yeteneğini ve «*koordinasyon yeteneğini*» yeni bir hücrenin kendi cinsinden olmayan en az bir tür hücre ile beraber üreme yeteneğini de ortadan kaldırır. Böylece, üreme alanında ya tek bir tip hücre ya da iki tip hücre oransız bir şekilde üremiş olarak görülür<sup>33</sup>.

4 — *Şarta bağlı (Conditional) aşama* : Tümör hücresinin üremesi, önceden kendisini meydana getiren anormal şartlara bağlıdır. Örneğin, böyle bir tümörü oluştuğu organizmadan alırsak, ancak kendi genomunu taşıyan organizmalarda, yani genomu eşitleştirilmiş saf hayvan sülâlerinde, ya da bu tümörün kendilinden oluştuğu hayvanlarda, ya da aynı hormonal dengesizliği gösteren hayvanlarda ürediğini görürüz<sup>18</sup>.

5 — *Tam Otonomi (absolute autonomy) aşaması* : Bu aşamada tümör, kendisinin gelişmesine neden olan bütün koşullardan bağımsız bir hale gelir. Bu, organizmadan tam olarak uzaklaştırılmamış olan bütün tümörlerin kaçınılmaz son dönemidir.

Canlılar yaşamları boyunca, sürekli olarak, çevrelerindeki onkogenik etkilere (yiyecekler, hava, güneş ışınları ve ionize edici radyasyon gibi) maruz kalırlar. Bu etkenler organizmada, günde oluşan yaklaşık  $10^{12}$  mitoz olayında etkilidirler ve hücrelerde mutasyonlara neden olurlar. Mutasyona uğrayan hücreler malign potansiyel kazanır ve zaman zaman bu yönde gelişme gösterirler<sup>1,5</sup>.

Bu gün yaygın olan kaniya göre, tümöral değişikliğe uğrayan hücreler konak için yabancı olan, yeni antijenler kazanırlar (*Tumor-specific antigens*)<sup>10,19</sup>.

İmmun sistem, daha başlangıçta, bu antijenleri tanıır ve bu malign hücrelerin gelişmesini kısıtlamaya ya da tamamen ortadan kaldırmaya yönelik reaksiyonların ortaya çıkmasına neden olur<sup>26</sup>. İmmunolojik denetim adını alan bu fonksiyon bireylerin ömrü boyunca lenforetiküler sistem tarafından yönetilir.

Kanser gelişmesi immun denetimin en zayıf olduğu iki dönemde en çok görülür. Birinci dönem, immun sistemin henüz olgunlaşmadığı çocukluk çağı; ikinci dönem ise, immun sistemin gücünü yitirdiği yaşlılık çağıdır<sup>13</sup>.

Bütün hücreler yüzeylerinde bireysel özelliklerini yansıtan ve transplante edilmiş dokuların reddine sebep olan normal transplantasyon antijenlerine sahiptirler. Bununla birlikte, normal bir hücre malign karakter kazanmaya başlayınca bir takım biokimyasal değişiklikler geçirir ve yeni antijenler kazanır. Bu antijenler konakta bir immun cevabın başlamasına neden olur. Son yıllarda kimyasal maddeler ve viruslarla oluşan tümörlerin, kendi konak dokularınınkinden farklı antijenlere sahip oldukları saptanmıştır. İlk kez 1953 de *Foley*, metilkolantren (MC) ile oluşan tümör çıkarıldıktan sonra, konağın aynı tümöre maruz bırakılmasından sonra direncin oluştuğunu saptamıştır<sup>10</sup>. 1957 de *Prehn* ve daha sonra öteki bazı araştırmacılar aromatik hidrokarbonların etkisi ile oluşan tümörlerin izolog antijenlere sahip olduklarını ve bu antijenlerin spontan tümörlerde bulunmadığı gibi farelerin normal dokularında da bulunmadığı kanısına varmışlardır<sup>26</sup>. İmmunite, tümör için spesifik olup, kullanılan saf tür hayvanların genetik yapısı ile ilgili değildir<sup>17</sup>. Son yıllarda, *Forbes* ve *ark.*ları, çok sayıda singeneik tümörlerin hücre membranlarını eritmişlerdir; elde edilen antijenlerin bir kısmının, in vitro olarak lenfosit proliferasyonu yaptığını ve bu eriyen antijenlerin bazı tümörlere karşı direnç oluşturduğunu göstermişlerdir<sup>11</sup>.

Diğer taraftan, konağa az miktarda<sup>24</sup> ve ışınlanmış, fakat çoğalma yeteneği olmayan hücrelerin verilmesiyle de<sup>22</sup> deneysel tümörlerin antijenik özellikleri gösterilmiştir.

1966 da sentetik bir antihelmintik ilaç olarak *Thienpont* ve *ark.*ları tarafından oluşturulan *Levamisol*<sup>36</sup>, tetramisol'ün levoisomeridir.

*Renoux* ve *Renoux* 1971 de başlayan çalışmaları ile farelerde levamisol'ün *Brucella* aşısının koruyucu etkisini belirgin bir şekilde arttırdığını<sup>30</sup>, antikor yapan hücrelerin gelişmesini hızlandırdığını<sup>29</sup>, yaşlı farelerde bozulmuş immunolojik sistemi tamir ettiğini<sup>31</sup>, ana-babaya ait donör hücrelerin inokulasyonunu takiben F<sub>1</sub> melez alıcılarda graft versus horst reaksiyonunun şiddetini arttırdığını<sup>28</sup> ortaya koymuşlardır. *Fischer* ve *ark.*ları ise levamisol'ün «İmmunolojik olarak olgunlaşmamış» yeni doğmuş sıçanları piyojenik bakterilerin ya da herpes virusunun neden olduğu ilk enfeksiyona belirgin olarak daha dirençli kıldığını<sup>9</sup>, bununla beraber diğer bir çok çalışma, yetişkin hayvanların «immunolojik olarak olgun» levamisol verildikten sonra virulan bakterilerle, viruslarla, ya da protozoalarla bu tür enfeksiyona dahi dirençli olmadığını göstermiştir<sup>34</sup>.

Levamisol'ün malignite üzerine etkisi de hayvan deneyleri ile araştırılmıştır. Tümör hücrelerinin konağa transplantasyonu ile oluşan tümör trans-

plantatının ve onun metastazları ile ilgili çalışmalarda bir kısım araştırmacılar levamisol'ün tümör transplantatının gelişmesini ve metastazlarını engelleyici yönde etkisini ileri sürerken<sup>27</sup>, bir kısım araştırmacılar ise olumlu ya da olumsuz yönde etkisinin görülmediğini<sup>7</sup>, bir grup araştırmacı ise tümör transplantatının gelişmesini ve metastazlarını hızlandırdığını gösterdiler.

*Ibrahim* ve *ark.*larının yaptığı çalışmada, hamster ve sıçanlarda allojeneik hamster melanom hücrelerini ve singeneik sıçan hepatom hücrelerini kullanarak oluşturdukları tümör transplantatına ve metastazlarına çeşitli dozlarda levamisol'ün etkisi şöyle özetlenebilir: Melanom transplantatlı hamsterlere 2.5, 10 ve 50 mg/kg'lık levamisol dozları verilmiştir; yalnız su verilen kontrol hayvanlarının tamamı 9 hafta içinde ölürken her üç dozda da hayvanların bazıları 12 hafta süresince canlı kalmışlardır. Bu hayvanların otopsi-lerinde, her iki grup hayvanlarda da çeşitli organ metastazları saptanmıştır. Hepatom transplantatlı sıçanlara 1.25, 2.5 ve 5 mg/kg'lık levamisol dozları gün aşırı ya da haftada üç gün olmak üzere verildiğinde bunların levamisol verilmeyen tümörlü kontrol hayvanları ile hemen hemen aynı günlerde öldükleri gözlenmiştir. Hamsterlerde melanom transplantatı çıkarıldıktan sonra nüksler için 2.5, 10 ve 50 mg/kg'lık levamisol dozları haftada üç kez verilerek denendiğinde, 50 ve 10 mg/kg levamisol verilen gruplarda kontrol grubuna benzer bir davranış görülürken 2.5 mg/kg levamisol verilen grupta ümit verici bir durumun ortaya çıktığı gözlenmiştir. 17 hayvanı kapsayan bu grupta 5 hayvanda altı haftanın sonunda tümörün tam gerilemesi ve deney sonuna dek tümörsüz kaldıkları, 6 hayvanda dört ile altı haftada kontrol hayvanlarındakine eş bir tümör büyümesinin olduğu, fakat daha sonra deney sonunda tamamlanmayan geç bir gerilemenin başladığı gözlenmiştir. Bu 6 hayvandan 4'ü deney bitmeden metastazlarla ölmüş, 2'sinin deney süresi olan 15 hafta yaşamasına rağmen otopsi-lerde metastazlar saptanmıştır. Geri kalan 6 hayvanda yaşam süresinin çok az uzamasından başka levamisol'ün olumlu bir etkisi saptanmamıştır<sup>20</sup>.

Bu çalışmaların incelenmesinde normal hayvanlarda deneysel tümörlerin yayılmasında ve tümör hücresi inokulasyonu ile tümör transplantatı oluşmasında levamisol'ün sistemik belirgin bir etkisi olmadığını göstermiştir. Fakat tümör kitlesi spesifik tedavi ile azaltılırsa levamisol'ün sistematik olarak nüksleri önleyebildiği ve remisyonu uzattığı kanıtlanmıştır<sup>6</sup>.

Nükslerin önlenmesi ve remisyonun uzaması levamisol'ün tümörü giderici tedaviden sonra immun kapasitesinin süratle iyileşmesine neden olmasıyla açıklanmaktadır<sup>25</sup>.

*Eisenberg* ve *Shklar*'ın hamsterlerde yaptığı çalışmada levamisol'ün kimyasal karsinojeneze etkisi araştırılmıştır. Bir grup hamsterin ağız mukozasına haftada üç kez 9,10 dimetil - 1,2 benzantrazen (DMBA)'nin %0,5'lik solüsyonu sürülmüş; bir grup hamstere de hem bu solüsyondan sürülmüş, hem de her sürüşten sonra hayvan başına yaklaşık 0.7 mg levamisol ağız yoluyla verilmiştir. Deney sonunda kimyasal karsinojene maruz kalan ve levamisol alan grupta oluşan tümör sayısının kontrol grubuna oranla daha az sayıda ve daha küçük hacimde olduğu saptanmıştır<sup>8</sup>.

*Renoux* ve ark.'larının 1976 da levamisol'ün hücrel bağışıklığa etkisi üzerine yaptıkları çalışmada, fare türü kullanılmış ve hücrel bağışıklık, greft reddi ve geç aşırı duyarlık reaksiyonları ile araştırılmıştır. Bu çalışmada 2.5, 20, 25 mg/kg levamisol dozları kullanılmıştır. İntraperitoneal yoldan verilen tek doz 20, 25 mg/kg levamisol, greft konduğu gün ve greft konduktan 7 gün sonra verildiğinde greft reddini hızlandırdığı gözlenmiştir. Ayrıca farelerde 25 mg/kg levamisol verildiğinde düşük ve yüksek dozlardaki koyun alvularına karşı cevapta geç aşırı duyarlığın yüksek düzeylerde olduğu saptanmıştır. Gene yüksek levamisol dozlarının T-hücresi aktivitesinin erken immüno- lojik uyarımına neden olduğu ve geç aşırı duyarlık düzeyinin koyun alvularına karşı cevapta 20 gün süreyle sabit kaldığı gözlenmiştir<sup>27</sup>.

Kaynakların araştırılmasında 20-25 mg/kg levamisol'ün farelerde geç aşırı duyarlığı güçlendirdiği, greft reddini hızlandırdığı, belirli tümör transplan- tatlı bazı deney hayvanı türlerinde yüksek dozda levamisol'ün yaşam süresini uzattığı görülmüştür.

Gene kaynakların incelenmesinden görülmektedir ki, levamisol tümör antijeni organizmaya girdikten sonra denenmiştir. Karsinojenez esnasında, yani tümör antijenin yeni yeni oluşmakta olduğu bir organizmada yaptığı etkinin yeterince araştırılmadığı dikkati çekmektedir. Bu değişik koşul altında levamisol'ün tümör immunobiolojisine olan etki biçimi hakkında bazı ip uçları verebilir düşüncesi ile 20 mg/kg levamisol'ün İsviçre türü albino fare- lere kimyasal karsinojeneze etkisinin ne olabileceği üzerindeki araştırmamızı yaptık.

## YÖNTEM VE GEREÇLER

Deneyssel çalışmamızda 150 İsviçre türü albino fareden yararlanılmıştır.

Çalışmamızda kullanılan karsinojen, kullandığımız fare türünün oldukça duyar olduğu, Sigma Chemical Company, St. Louis U.S.A. firması yapımı

20-Methylcholanthrene'dir (MC). Eritici olarak, susam yağı (SY) kullanılmıştır. Karsinojen dozu, fare başına 0.2 ml susam yağında 4 mg MC olmak üzere hazırlanmıştır.

Baz levamisol (L) steril fizyolojik serumda eritilerek kullanılmıştır.

20 mg/kg levamisol, en ağır hayvana 1 ml de düşecek miktar olarak hesaplanıp eriyik hazırlanmıştır. Daha hafif farelere verilecek levamisol miktarı, 1 ml'lik, taksimatlı şırınga ile, ağırlıklarına göre düşecek hacim (ml) olarak tayin edilmiştir.

## Deney Grupları :

I. Grup : 30 farenin ense derisi altına 0.2 ml karsinojenli susam yağı verildi.

II. Grup : 30 farenin ense derisi altına 0.2 ml karsinojenli susam yağı verildi. Ayrıca, karsinojenin verildiği gün, kilo başına 20 mg düşecek şekilde hazırlanan levamisol intraperitoneal (i.p.) olarak verildi. Bu işlem, deney sonuna dek, her 30 günde bir hayvanların ağırlıkları kontrol edilerek tekrarlandı.

Ayrıca, 10 fareye de yalnız karsinojen verilip yedek olarak saklandı.

III. Grup : 15 fareye ilki II. grup ile aynı günde olmak üzere 20 mg/kg levamisol her 30 günde bir (i.p.) olarak verildi.

IV. Grup : 15 farenin ense derisi altına, yalnız 0.2 ml susam yağı verildi.

V. Grup : 15 fare saf kontrol olarak ayrıldı.

Karsinojen verilmiş ilk iki gruptaki fareler, MC'nin verilmesinden 99, 123, 140, ve 153 gün sonra olmak üzere kontrol edildi. Gelişen tümörler, uzun iki ekseninden ölçülerek cm<sup>2</sup> cinsinden büyüklükleri saptandı.

Yalnız MC verilen grupta ve MC ile levamisol verilen grupta gelişen tümörlerin büyüme hızı, iki kontrol tarihi arasında, tümörlerin kazandıkları cm<sup>2</sup> cinsinden farklar hesaplanarak saptandı.

Birinci kontrolden sonra, daha düşük dozlardaki levamisol'ün karsinoje- nezdeki etkisini gözlemek üzere 4-5 aylık 15 farelik üç grup daha alındı. Her gruba, karsinojen ile ilki karsinojenin verildiği gün olmak üzere, 30 günde bir sırayla 5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg olmak üzere levamisol (i.p.) olarak verildi. 99 gün sonra kontrol edildi.

Deney sonunda, grupların tümündeki farelere «Pençe şişme testi» uygulandı.

#### Pençe şişme testi (*Footpad swelling test*):

Geç aşırı duyarlılığı ölçmek için kullanılan bu yöntemde, farelere kuyruk veninden yaklaşık  $4 \times 10^5$  koyun alyuvuru (KA) verilmektedir. KA'na karşı duyarlı kılınan bu farelere, dört gün sonra geç aşırı duyarlılık reaksiyonu oluşturmak üzere, sağ arka ayak tabanı kaba kısım derisi altına yaklaşık  $10^8$  KA, sol arka ayak tabanı kaba kısım altına da fare türüne yabancı olan yaklaşık  $10^8$  kadar alyuvar kontrol olarak verilmektedir. Yirmidört saat sonra, farenin sağ ve sol arka ayak tabanlarının kalınlığı kompas ile ölçülür. Deney ayak tabanı ile kontrol ayak tabanı arasındaki kalınlık farkı hesaplanır<sup>16,21</sup>.

Deneyimizde kontrol olarak kullandığımız horoz alyuvarlarıdır (HA).

Deneyimizde, taban kalınlıkları kompas ile mm olarak ölçülmüş ve farklar mm olarak değerlendirilmiştir. Deney pençesi lehine olan fark (+), deney pençesi kalınlığı ile kontrol pençesinin eşitliği (0), kontrol pençesi lehine fark (—) olarak belirtilmiştir.

Tümör sayıları kritik orana, tümör büyüklükleri ve her gruptaki «Pençe şişme testi» değerleri de birbirleriyle istatistiksel olarak *Student* (+) testine göre değerlendirilmiş olup  $P > 0.05$  anlamsız olarak kabul edilmiştir.

## BULGULAR

### I. Grup (MC verilmiş fareler)

#### Tümör gelişmesi

Birinci kontrolde 2 farede tümör gelişti.  
İkinci kontrolde 7 farede daha tümör gelişti.  
Üçüncü kontrolde 9 farede daha tümör gelişti.  
Dördüncü kontrolde ise yalnız 1 farede daha tümör gelişti.

#### Tümör büyümesi

Birinci ve ikinci kontroller arasında iki tümörde 11 ve 13 cm<sup>2</sup>'lik bir büyüme izlendi.

İkinci ve üçüncü kontroller arasında en az büyüme 0.7 cm<sup>2</sup>, en fazla büyüme ise 16.5 cm<sup>2</sup> olarak izlendi.

Üçüncü ve dördüncü kontroller arasında da bazı tümörlerde büyüme izlenmedi. Bazılarında ise büyüme vardı ve en fazlası 2 cm<sup>2</sup> idi.

#### Pençe şişme testi

Dördüncü kontrolden sonra tümürlü ve tümörsüz farelerde «pençe şişme testi» uygulandı. Tümör gelişenlerde; 2 cm<sup>2</sup>'lik tümörlülerden bazıları + 0.2, bazıları — 0.3 idi. 9 cm<sup>2</sup> lik tümürlü bir farede 0.8 cm<sup>2</sup>'lik tümürlü bir farede ise + 0.1 idi. Tümör gelişmeyenlerde ise 0 ilâ + 0.3 arasında değişen değerler saptandı.

### II. Grup (MC + L verilmiş fareler) :

#### Tümör gelişmesi

Birinci kontrolde 10 farede tümör geliştiği saptandı.  
İkinci kontrolde 6 farede daha tümör geliştiği saptandı.  
Üçüncü kontrolde 4 farede daha tümör geliştiği saptandı.  
Dördüncü kontrolde ise 4 farede daha tümör geliştiği saptandı.

#### Tümör büyümesi

Birinci ve ikinci kontroller arasında tümörlerde 0.22 cm<sup>2</sup> ile 16.2 cm<sup>2</sup>'lik büyüme izlendi.

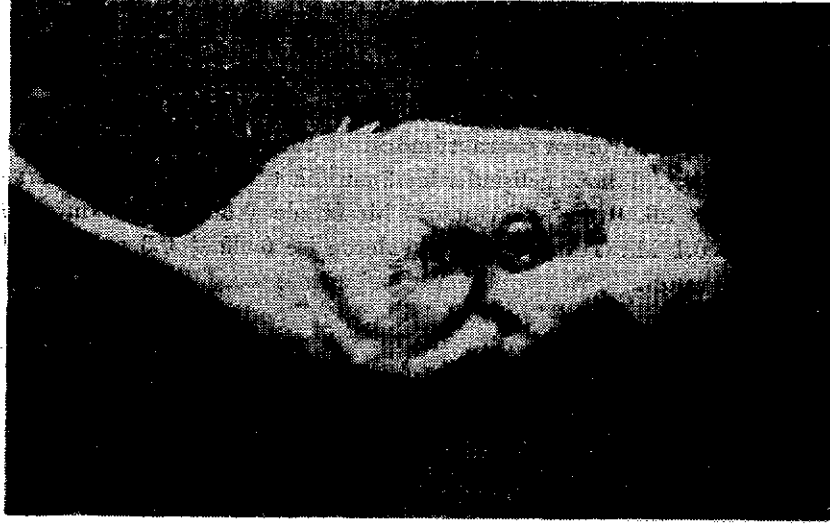
İkinci ve üçüncü kontroller arasında tümörlerde 0.2 cm<sup>2</sup> ile 16 cm<sup>2</sup> arasında değişen büyüme izlendi.

Üçüncü ve dördüncü kontroller arasında tümörlerde 0.8 cm<sup>2</sup> ile 6 cm<sup>2</sup> arasında değişen büyüme izlendi.

#### Pençe şişme testi

Dördüncü kontrolden sonra tümürlü ve tümörsüz farelere «Pençe şişme testi» uygulandı. Tümör gelişenlerden 1 cm<sup>2</sup>'lik bir tümörde + 0.1, 2 cm<sup>2</sup>'lik bir tümörde + 0.2 gibi değerler bulunurken 10 cm<sup>2</sup> lik bir tümörde 0, 25 cm<sup>2</sup> lik bir tümörde + 0.1, 4 cm<sup>2</sup>'lik bir tümörde de + 0.5 gibi değerler bulundu. Tümör gelişmeyenlerde ise + 0.1 ilâ + 0.9 arasında değişen değerler bulundu.

20 mg/kg levamisol verilmiş farelere uygulanan «Pençe şişme testi» değerleri + 0.1 ilâ + 0.9 arasında değişmektedir.

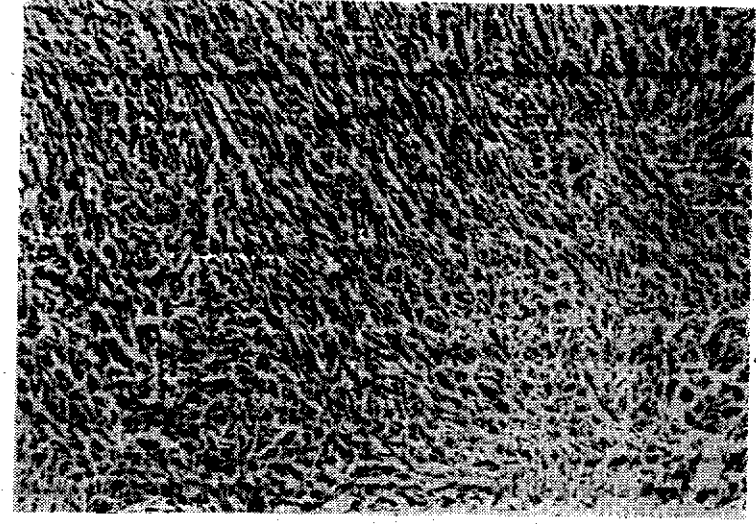


Resim 1 — Deri altında büyük kitle yapan tümör ve bunun yüzeyinde deri infiltrasyonu.



Resim 2 — Bir deney hayvanında sırttaki tümörün karni boşluğuna doğru ilerleyerek orada da kitle oluşturması.

Saf kontrollere uygulanan «Pençe şişme testi» değerleri 0 ilâ + 0.3 arasında değişmektedir.



Resim 3 — Tümörlerimizde rastlanan histolojik tablo. Atipik fusiform hücrelerin yaptığı düzensiz demetler (H + E x 80).

Susam yağı verilmiş farelere uygulanan «Pençe şişme testi» değerleri de 0 ilâ + 0.7 arasında değişmektedir.

Karsinogen verilmiş bu iki grupta gelişen tümörlerden makroskopik ve mikroskopik örnekler Resim : 1, 2, 3 te görülmektedir.

### İRDELEME VE SONUÇ

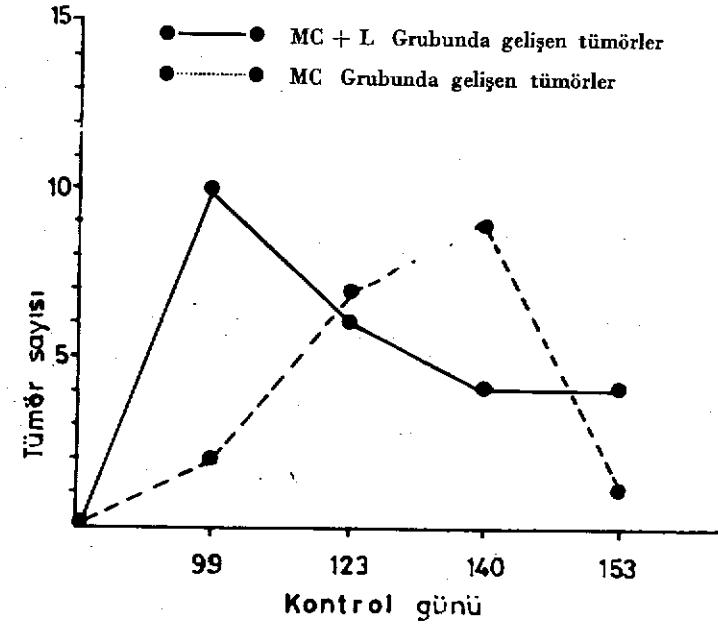
İmmun sistem, organizmada kanser gelişmesini önleyici bir etki göstermektedir. İmmun sistemin zayıf olduğu dönemlerde ve yıkıldığı durumlarda kanser insidensinin yüksek oluşu, bu görüşü kanıtlayıcı niteliktedir<sup>13,14</sup>.

İmmun sistemi güçlendirerek, kanser gelişmesinin ve nükslerin önlenmesine çalışılmaktadır. İmmun sistemi güçlendirecek uyarımı yapacak etkenler arasında levamisol'ün de sayılabileceği, bu ilaç hakkında son zamanlarda yapılan araştırmalarla ortaya konulmuştur<sup>9,28</sup>.

Levamisol'ün 20 - 25 mg/kg dozlarının bazı tümörlü deney hayvanlarının yaşam süresini uzatması ve farelerde hücresel bağışıklığı güçlendirmesi nedeniyle çalışmamızda da 20 mg/kg kullanılmıştır. Levamisol hayvanlara ağızdan, deri altına, ven içine ve periton içine (i.p.) olmak üzere dört yolla verilebilmektedir. Emilimin süratli ve doz kaybının yok denecek derecede az olacağı düşüncesiyle, biz, deney hayvanlarımızda (i.p.) yolu seçtik. 20 ve 25 mg/kg'ın her ikisinin de amacımıza uygun dozlar olmasına rağmen, (i.p.) olarak 22 mg/kg'ın fareler için öldürücü doz olması<sup>35</sup> nedeniyle 20 mg/kg çalışma dozumuz olarak alınmıştır. 20 mg/kg'lık dozun, organizmadaki etkinliğini ancak 20 gün süreyle yüksek düzeyde sabit tutması özelliğinden hareketle, ilâcın bu dozunu 30 günde bir tekrarlamak zorunda kaldık.

Tümör jenezinde latent süre, karsinojen verildikten sonra yapılan kontrollerde, tümör gelişmesinin ilk günü, hayvanlarda oluşan şüpheli lezyonların histolojik incelenmesi ile bu lezyonun tümör olduğu saptanarak belirlenmektedir. Bu durumda, oluşan lezyonun tamamının çıkarılması gerekmektedir. Eğer oluşan lezyon tümör ise, bunun tamamı çıkarıldığı için, daha sonraki gözlemleri yapma olanağı ortadan kalkmaktadır. Bu durum, deneyimiz için sakıncalı olduğundan, tümörün geliştiği ilk gün saptanamamıştır. Bizim için tümörlerin büyüme hızları da anlam taşıdığından, gelişen lezyonlar çıkarılmamıştır. Karsinojen verilmiş gruplarda, belirli bir süre sonra gelişen; gözle tümör olduğuna kesinlikle karar verilebilen oluşumların sayısı latent süre için işaret olarak kabul edilmiştir. Kaynakların araştırılması, levamisol'ün kimyasal karsinojeneze etkisi ile ilgili tek çalışma olarak rastladığımız Eisenberg ve Shklar'ın hamsterlerde yaptığı deneyde de deney sonunda gelişen lezyonların histolojik incelenmesi yapılarak tümör sayısı yönünden değerlendirilmeye gidilmiştir. Aynı çalışmanın sonunda levamisol verilmiş hayvanlarda kontrollere oranla latent sürenin uzadığı gözlenmiştir. Deneyimizde ise, karsinojen verildikten 99 gün sonra, yalnızca MC verilmiş grupta, MC ve 30 günde bir levamisol verilmiş grupta gelişen tümörlerin sayısı tesbit edilmiştir. Bu oluşumların tümör olduğu, hayvanların deney süresi içinde ölmesi ya da deney sonunda öldürülmesi neticesi yapılan histolojik incelemeyle de doğrulanmıştır. MC grubunda gelişen 2 tümöre karşın MC + L grubunda gelişen 10 tümör, %6.6 ile %33.3'lük bir oran ortaya çıkarmıştır ki, bu da istatistiksel yönden anlamlı bulunmuştur ( $\epsilon$  değeri = 2.588,  $P < 0.01$ ). Bu durum, levamisol'ün deneyimizde latent süreyi kısalttığını göstermektedir. Bu farkın rastlantıya bağlı olmadığı istatistiksel olarak kanıtlanıyorsa da bunun doğrudan doğruya

levamisol'ün etkisi ile açıklanması sakıncalı olabilir. Eğer levamisol'ün etkisine bağlanabilirse, karsinojenin dönüşme, ya da üreme dönemlerinden hangisinde etkili olduğunu söyleme olanağı yoktur. Ancak, kimyasal karsinojenlerin etki mekanizmasının, bir taraftan hücreyi kanser hücresi haline dönüştürmesiyle diğer taraftan da organizmanın immun sistemini yıkarak bu hücrelerin üremesine elverişli bir ortam oluşturmasıyla tümör geliştirdiği<sup>21</sup> hipotezinden hareket edilerek levamisol'ün, tahminlerin aksine, kimyasal karsinojenlerin etkisine paralel bir etki gösterdiği düşünülebilir.



GRAFİK I

MC ve MC + L Gruplarında Belirli Zamanlardaki Tümör Frekansı

Grafik I'de görüldüğü gibi MC ve MC + L verilmiş grupların 99. günde yapılan kontrolünde, MC grubunda tümör sayısı 2 iken, MC + L grubunda tümör sayısı bu grup için en yüksek düzey olan 10 olarak saptanmıştır. Üçüncü kontrole rastlayan 140. güne kadar, MC grubunda yeniden tümör gelişmesinin giderek arttığı tümörlerin 123. günde 7, 140. günde 9 tane olmasından anlaşılmaktadır. MC + L grubunda ise 99. günden sonra tümör sayısı 6'ya düşmüş, MC grubunun en yüksek düzeyi olan 9 sayısı-

na ulaştığı 130 günde ise MC + L grubunun en düşük sayısı olan 4'e düştüğü, MC grubunun en az tümör sayısı olan 1 e indiği 153. günde MC + L grubunun 4 sayısını koruduğu ve böylece 140. günden sonra tümör sayısının sabit kaldığı saptanmaktadır.

Grafik I de görülen iki eğrinin birbirinden belirgin şekilde farklı oluşu levamisol'ün etki durumu hakkında bazı fikirlerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır :

a) Levamisol'ün karsinogenezde immun sistem üzerine etkisi zamanla değişmektedir. MC + L grubunda latent sürenin kısılması ve bu süre içinde tümör sayısının en yüksek düzeye ulaşması levamisol'ün karsinogenezin dönüştürme ve üreme aşamasında immun sistemin etkinliğini zayıflattığı fikrini vermektedir. Bundan sonra levamisol grubunda tümör sayısının birden düşmesi üreme aşamasının uzadığını göstermektedir. Bu uzama, iki türlü mekanizma ile olabilir :

1 — 99. günden sonra levamisol'ün immun sisteme olan olumlu etkisinin birdenbire artması,

2 — Levamisol'ün zayıflatıcı etkisine karşı 99. günden sonra immun sistemin kompensasyon amacıyla hiperaktivite durumuna geçmesi. Levamisol grubunda 140. günden sonra yeni yeni tümörlerin oluşmakta devam etmesi ise ya levamisol'ün immun sistem üzerine olan baskı etkisinin tekrar artmasına ya da kompensasyon olayının zayıflamasına bağlanabilir.

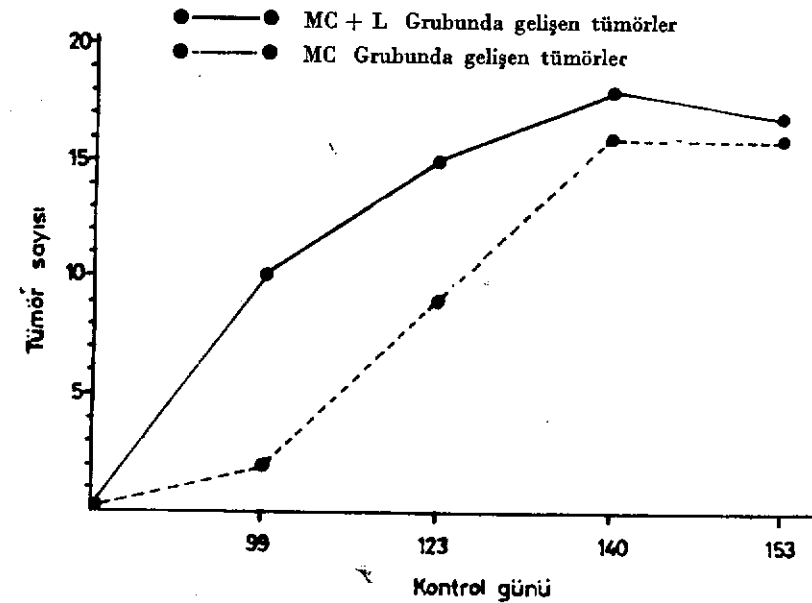
b) 140. günden sonra deneyin başında bir defa olmak üzere verilmiş olan MC'nin gittikçe atılımı nedeniyle vücutta konsantrasyonunu ve böylece de etkinliğini kaybetmesine karşın MC + L'li grupta yeni tümörlerin oluşmakta devam etmesi, diğer taraftan levamisol'ün bütün karakterlerinin yeterince işlenmemiş bir madde olması nedeniyle bu maddenin, immun mekanizmaya etkinliği yanında ko-karsinojen etkisinin de gözönüne alınması gerekmektedir. Böyle bir durum gerçekten mevcut ise bu iki etkinin zaman zaman birbirine paralel, zaman zaman ise zıt yönde işlediklerini kabul etmek zorunluğudur. Nitekim, 99. güne kadar olan sürede bu iki etki aynı yönde yani karsinogenez'i kolaylaştırıcı yönde işlemektedir. 99 - 140. günler arasında iki etki zıt yöndedir. Zira, yeni oluşan tümör miktarı hızla azalmaktadır. 140. günden sonra bu iki etki yine aynı yönde (karsinogenezis'i kolaylaştırıcı yönde) işlemektedir. Deneylerin çeşitli nedenler etkisiyle 153. günde kesilmesi zorunluğundan, dönüşen hücrelerin miktarı hakkında kesin fikir edinmek olanağı kalmamıştır. Yalnız, her iki grupta tüm olarak gelişen tümör sayıları

(MC grubu : 19, MC + L grubu : 24) arasındaki fark istatistiksel yönden anlamsız bulunmuştur ( $\epsilon$  değeri = 1.459,  $p = 0.14$ ).

Tümörlerin büyüklüklerini, iki uzun eksenin çarpımı sonucu çıkan rakam ( $\text{cm}^2$ ) olarak saptamıştık. Zira, tümörün derinliği diye kabul ettiğimiz üçüncü boyut yaklaşık olarak her tümörde eşit bulunduğundan kıyaslama yönünden büyük bir değer taşıyacaktı.

Gelişen tümörlerin büyüklükleri; kontrol dönemlerinde ve deney sonrasında karşılaştırıldığında levamisol'lü grupta bir üstünlük varmış gibi görünmekte isede bu durum istatistiksel yönden destek bulamamıştır ( $t = 0.42, 0.50 < P < 0.90$ ).

Tümör büyümesinde hız birimi olarak, kontrollerde elde ettiğimiz büyüklük farklarını oluşturan belli dönemleri aldık. Her iki karsinojenli grupta gelişen tümörlerin 24 günlük, 17 günlük, 13 günlük ve ilk kontrolle son kontrol arasına uyan 54 gün içindeki büyümeleri gözden geçirildiğinde 3. - 4. kontrol arasına uyan 13 günlük dönemdeki büyümede, büyüme hızının MC + L grubunda daha fazla olduğu görülmektedir. Bu durum, istatistiksel değerlendirmede de anlamlı bulunmuştur ( $t = 2.98, P < 0.01$ ). Bundan önce yapılan kontroller arasında büyüme hızı ve tüm büyümeleri ise anlamlı bulunmamıştır.



GRAFİK II

MC ve MC + L Gruplarında Belirli Zamanlarda Yaşayan Tümörlü Fare Sayısı



Bu durum büyük olasılıkla, hayvanların immun sistemlerinin tükendiğini; o sırada, yaşayan hayvanlarda levamisol'ün immun sistemi kuvvetlendirici etkisinin ortadan kalktığını göstermektedir.

Deney süremiz boyunca MC'li gruptan 19 tümörlü hayvandan 3'ü MC + L'li grupta 24 tümörlü hayvandan 7'si tümör kaşeksisine bağlı olarak ölmüşlerdir. Zira, otopsilerinde, ölüm nedenlerini açıklayacak başka bulgular saptanmamıştır. Grafik II de görüldüğü gibi, her iki grupta, kontrol dönemindeki yaşayan tümörlü hayvan sayıları bir fark göstermemektedir. Bu bulguda, çahşmamızda kullandığımız 20 mg/kg levamisol'ün yaşam süresi üzerine belirgin bir etkisi olmadığını göstermiştir.

Saf kontrol grubu farelerinden elde edilen Pençe şişme testi değerleri yalnız 20 mg/kg levamisol verilmiş farelerinkilerle karşılaştırıldığında levamisol'ü farelerde geç aşırı duyarlılığın şiddetinin arttığı yani hücresel bağışıklığın güçlendiği saptanmıştır ( $t = 3.91$ ,  $P < 0.001$ ). Bu bulgumuzu kaynaklar da desteklemektedir<sup>27</sup>. Fakat, saf kontrol grubundaki farelerin *Pençe şişme testi* değerleri yalnız susam yağı verilmiş farelerinkilerle karşılaştırıldığında, kontrol farelerine oranla susam yağı verilmişlerin geç aşırı duyarlılığının da güçlendiği saptanmıştır ( $t=3.02$ ,  $P < 0.01$ ). Bu bulgu susam yağının da geç aşırı duyarlılıkta levamisol'ün etkisine benzer bir etki yaptığını göstermektedir. Levamisol verilmiş farelerle susam yağı verilmiş farelerin *Pençe şişme testi* değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel sonuç anlamsız bulunmuştur ( $t = 1.33$ ,  $0.02 < P < 0.30$ ). Bu da levamisol'ün hücresel bağışıklık uyarmada bir özelliği olmadığı; herhangi bir uyarıcı gibi etki gösterdiğini izlenimini vermiştir.

Karsinojenli farelerin tümör gelişenlerinde levamisol verilmişlerle verilmemişler arasında, *Pençe şişme testi* değerlerinde istatistiksel yönden anlamlı bir sonuç alınmamıştır ( $t=0.38$ ,  $0.50 < P < 0.90$ ). Her iki grubun tümör gelişmeyen fareleri arasındaki *Pençe şişme testi* değerleri de anlamsız bulunmuştur ( $t = 2.54$ ,  $0.02 < P < 0.05$ ). MC verilmiş grupta tümör gelişenlerle, tümör gelişmeyenlerin değerleri de istatistiksel yönden anlamsızdır ( $t = 0.40$ ,  $0.50 < P < 0.90$ ). MC + L verilmiş farelerde, tümör gelişen ve gelişmeyenler arasındaki *Pençe şişme testi* değerleri de anlamsızdır ( $t = 1.40$ ,  $0.20 < P < 0.30$ ).

Ayrıca karsinojen verilmiş (MC ve MC + L) gruplarla, karsinojen verilmemiş (L ve SY) gruplarındaki *Pençe şişme testi* değerleri karşılaştırıldığında sonuç, karsinojen verilmemiş gruplar lehine anlamlı çıkmıştır ( $t = 2.80$ ,  $P < 0.01$ ). Bu durum, kaynaklarda da gördüğümüz kimyasal karsinojen verilmiş farelerin immun sistemlerinin yıkıldığını<sup>21</sup> *Pençe şişme testi* ile de saptadığımızın kanıtı olmuştur. Fakat gerek MC, gerekse, MC + L verilmiş grup-

larda gelişmiş tümörlerin büyüklükleri ile *Pençe şişme testi* değerlerine bakarak farelerin hücresel bağışıklık durumları arasında bir ilişki kurma olasılığı olmadığı gibi daha öncede belirttiğimiz üzere karsinojen verilmiş ya da karsinojen ve levamisol verilmiş de tümör gelişmemiş farelerin *Pençe şişme testi* değerlerinde de istatistiksel bir anlamlılık yoktur. Bu nedenlerle kimsayal, karsinojen verilmiş farelerde, geç aşırı duyarlılığın durumu hakkında bilgi edinebilmek için «*Pençe şişme testi*»nin geçerli bir yöntem olmadığı kanısına varılmıştır.

Deney sonunda aşağıdaki sonuçlara varılmıştır :

1 — MC verilmiş grup ile MC + L verilmiş grup arasında karsinojenin her aşamasında bir fark görülmüştür.

2 — Bu fark, latent sürenin kısalması ve üç ay içinde yeni gelişen tümör sayısının artmasında (karsinojenin dönüşme ve üreme aşamalarının kısalmasında) kendini göstermektedir.

3 — Deneyimiz, levamisol'ün karsinojeneze etkisinin mekanizması hakkında iki izah şekli vermektedir :

a) Levamisol immun sistemin karsinojeniz olayındaki etkisini zaman zaman kuvvetlendirmekte, zaman zaman azaltmaktadır. Ancak, burada konak organizmanın levamisol'ün immun sisteme olan baskı etkisine karşı gösterdiği kompensasyonu da göz önüne almak gerekir.

b) Levamisol'ün immun sisteme etkisi yanında ko - karsinojen etkisinin mevcut olması muhtemeldir. Bu iki etki bazen paralel, bazen zıt yönlerde işler.

4 — MC nin konak organizmada pek çok azaldığı zamanlara uyan 140. günden sonra da MC + L grubunda yeni tümör gelişmesinin devam etmekte oluşuna bir defa daha değiniyoruz. Bu olay nedeniyle deneyi daha uzun bir süreyle tekrarlamak ve tamamlayıcı diğer deneylerin de yapılmasıyla karsinojen varlığını incelemenin gerekli olduğu kanısındayız.

5 — MC ve MC + L gruplarında tümör gelişen ve gelişmeyenler arasındaki «*Pençe şişme testi*» değerlerinin anlamlı olmaması nedeniyle tümörlü ve tümörsüz, karsinojen verilmiş hayvanların immun sistemin durumunu ve tümör büyüklükleri ile konağın immun sistemi arasındaki ilişkiyi ortaya çıkaracak yeterli bir yöntem olmadığı sonucuna varılmıştır.

## SUMMARY

## THE EFFECT OF LEVAMISOLE 20 mg/kg ONTO CHEMICAL CARCINOGENESIS IN SWISS ALBINO MICE.

With lately studies, as it is observed; levamisole known as an antihelminthic drug with the dose of 20 - 25 mg/kg in mice, strengthen the late hypersensitivity, accelerates the graft-rejection. Levamisole called our attention to its effects of prolonging life span onto some species of animals, transplanted certain tumors. As the effect of this drug onto chemical carcinogenesis is not well enough investigated, this study is realized in order to observe the effect of levamisole onto chemical carcinogenesis with the dose of 20 mg/kg in Swiss albino mice.

## Experiment groups :

*Group I* : 4 mg methylcholanthrene dissolved in 0.2 ml sesame oil was given subcutaneously into the nape of 30 mice.

*Group II* : 4 mg methylcholanthrene dissolved in 0.2 ml sesame oil and 20 mg/kg intraperitoneally levamisole firstly given at the same day with carcinogen were given in periods of 30 days to mice.

*Group III* : 0.2 sesame oil was given subcutaneously into the nape of 15 mice.

*Group IV* : 20 mg/kg levamisole was intraperitoneally given to 15 mice in periods of 30 days.

*Group V* : 15 mice as the control group.

The Groups controled in certain periods. The number longness and the speed of growth of the tumor is observed. Foot-padswelling test applied to all mice of the groups as a measure of late-hypersensitivity.

The findings are appraised statistically. The dose of 20 mg/kg levamisole gives rise to the latent period of carcinogenesis and acceleration of the tumoral growth.

We have got the opinion that the footpad swelling test is not a valid method for measuring the late hypersensitivity in mice which taken the carsinogen. We considered that levamisole may also play role as co-carsinogen.

## KAYNAKLAR

1. ASHLEY, D.J.B.: *An introduction to the general pathology of tumors*. John Wright and Sons Ltd. Bristol, 1972.
2. BIELSCHOWSKY, F.: *Aspects of endocrine carcinogenesis*. Brit. Med. Bull., **14** : 106, 1958.
3. BISKIND, G.R., BISKIND, M.S.: *Experimental ovarian tumors in rats*. Am. J. Clin. Path., **19** : 501, 1949.
4. BURNET, F.M.: *Cancer - A biological approach*. Br. Med. J., **1** : 779, 1957.

5. BURNET, F.M.: *Immunological factors in the process of carcinogenesis*. Brit. Med. Bull., **20** : 154, 1964.
6. CHIRIGOS, M.A., FUHRMAN, F.S. and PRYOR, J.: *Prolongation of chemotherapeutically induced remission of a syngeneic murine leukemia by L - 2, 3, 5, 6 - tetra hydro - 6 - phenylimidazo (2, 1 - b) thiazole hydrochloride*. Cancer Res., **35**: 927, 1975.
7. CHIRIGOS, M.A., PEARSON, J.W. and PRYOR, J.: *Augementation of chemotherapeutically induced remission of a murine leukemia by a chemical immuno - adjuvant*. Cancer Res., **33** : 2615, 1973.
8. EISENBERG, E. and SHKLAR, G.: *Levamisole and hamster pouch cadcinogenesis*. Oral Surg., **43**(4) : 562, 1977.
9. FISCHER, G.W., OI, V.T., KELLEY, J.L., PODGORE, J.K., BASS, J.W., WAGNER, F.S. and GORDON, B.L.: *Enhancement of host defense mechanisms against gram-positive pyogenic coccal infections with levo-tetramisole (levamisole) in neonatal rats*. Ann. Allergy, **33** : 193, 1974.
10. FOLEY, E. J.: *Antigenic properties of methylcholanthrene inducet tumors in mice of the strain of origin*. Cancer Res., **13** : 835, 1953.
11. FORBES, J.T., NAKAO, Y. and SMITH, R.T.: *Tumor spesific immunity to chemically induced tumors*. J. Exp. Med., **141** : 1181, 1975.
12. FREI, J.Y., HARSONO, T.: *Increased susceptibility to low doses of a carcinogen of epidermal cells in stimulated DNA synthesis*. Cancer Res., **27** : 1482, 1967.
13. GATTI, R.A. and GOOD, R.A.: *A ging. Immunity and malignancy*. Geriatrics, **25** : 158, 1970.
14. GATTI, R.A. and GOOD, R.A.: *Occurence of malignancy in immunodeficiency disease. A literature review*. Cancer, **28** : 89, 1971.
15. GORE, H., HERTIG, A.T.: *Carcinoma in situ of the endometrium*. Am. J. Obst. Gyn. **94** : 134, 1966.
16. GREENE, H.S.: *A conception of tumor autonomy based on transplantation studies : A review*. Cancer Res., **11** : 899, 1951.
17. GROSS, L.: *Intradermal immunization of C<sub>3</sub>H mice against a sarcoma that originated is an animal of the same line*. Cancer Res., **3** : 326, 1953.
18. HALLIDAY, N.V. and WEBB, M.: *Delayed hypersensitivity to chemically induced tumors in mice and correlation with an in vivo test*. J. Nat. Cancer Invest., **43** : 141, 1969.
19. HUMPREY, L.J.: *Tumor Immunity*. J. Surg. Res., **10** : 493, 1970.
20. İBRAHİM, A.B., TRIGLIA, R., DAN, P.C. and SPITLER, L.E.: *Antitumor effects of levamisole on an allogeneic hamster melanoma and a syngeneic rat hepatoma. Control of neoplasia by modulation of the immune system. Progress in Cancer Research and Therapy*. Volume 2. Ed. by M.A. Chirigos. Raven Press, New York 1977.
21. JERNE, N.K. and NORDIN, A.A.: *Plaque formation in agar by single antibody-producing cells*. Science, **140** : 405, 1963.

22. KLEIN, G., SJÖGREN, H.O., KLEIN, E. and HELLSTRÖM, K.E.: *Demonstration of resistance against Methylcholanthrene induced sarcoma in the primary autochthonous host.* Cancer Res., **20** : 1561, 1960.
23. MILLER, J.A. MILLER, E.C.: *Natural and Synthetic chemical carcinogens in the etiology of cancer.* Cancer Res., **25** : 1292, 1965.
24. OLD, J.L., BOYSE, E.A., CLARKE, D.A. and CARCSWELL, E.A.: *Antigenic properties of chemically induced tumors.* Ann. N.Y. Acad. Sci., **101** : 80, 1962.
25. PERK, K., CHIRIGOS, M.A., FUHRMAN, F. and PERRIGREW, H.: *Some aspects of host response to levamisole after chemotherapy in a murine leukemia.* J. Nat. Cancer Inst., **54** : 253, 1974.
26. PREHN, R.T. and MAIN, J.M.: *Immunity to methylcholanthrene induced sarcomas.* J. Nat. Cancer Inst., **18** : 769, 1957.
27. RENOUX, G., KASSEL, R.L., RENOUX, M., FIORE, N.C., GUILLAUMIN, J.M. and PALAT, A.: *Immunomodulation by Levamisole in normal and leukemic mice. Evidences for a serum transfer.* In : *First International Conference on Modulation of Host Immune Resistance in the Prevention of Induced Neoplasias*, ed. by M.A. Chirigos, Fogarty International Center Proceedings, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C., Baskıda (*Control of Neoplasia by Modulation of the Immune system. Progress in Cancer Research and Therapy*, Volume 2, Ed. by M.A. Chirigos, Ph., D., Raven Press, New York 1977'den).
28. RENOUX, G. and RENOUX, M.: *Action du phenylimidothiazole (tétramisole) sur la réaction du Greffan contre l'hôte. Role des macrophages.* C.R. Acad. Sci. (D), **274** : 3320, 1972.
29. RENOUX, G. and RENOUX, M.: *Action immunostimulante de dérivés du phenylimidothiazole sur les cellules spléniques formatrices d'anticorps.* C.R. Acad. Sci. (D), **274** : 756, 1972.
30. RENOUX, G. and RENOUX, M.: *Effect immunostimulant d'un imidothiazole dans l'immunisation des souris contre l'infection par Brucella abortus.* C.R. Acad. Sci., **272** : 349, 1971.
31. RENOUX, G. and RENOUX, M.: *Restauration par le phenylimidothiazole de la réponse immunologique des souris âgées.* C.R. Acad. Sci. (D), **274** : 3034, 1972.
32. RANDONI, B., BRAETTI, G.: *SH Groups and Chemical carcinogenesis.* Abst. Exc. Med., **1** : 185, 1948.
33. SACCOMONO, G., ARCHER, V.E., AUERBACH, O., SAUNDERS, R.P., BRENNAN, L.M.: *Development of carcinoma of the lung as reflected in exfoliated cells.* Cancer, **33** : 256, 1974.
34. SYMOENS, J. and BRUGMANS, J.: *The effects of levamisole on host defense mechanisms. A review.* In : *First International Conference on Modulation of Host Immune Resistance in the Prevention or Treatment of Induced Neoplasias*, Ed. by M.A. Chirigos, Fogarty International Center Proceedings, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C., Baskıda (*Control of Neoplasia by Modulation*

- of the Immune System. Progress in Cancer Research and Therapy.* Volume 2. Ed. by M.A. Chirigos, Ph. D., Raven Press, New York 1977'den).
35. The Merck Index : 8. baskı, Merck and Co., Inc., Rahway, N.J., U.S.A. 1968.
  36. THIENPONT, D., VANPORIJS, O.F.J., RAEYMAEKERS, A.H.M., VANDENBERK, J., ALLEWIJN, F.T.N., MARSBOOM, R.P.H., NIEMEGEREERS, C.J.E., SCHELLEKENS, K.H.L. and JANSSEN, P.A.J.: *Tetra misole (R 8299), A new patent, broad spectrum anthelmintic.* Nature, **209** : 1084, 1966.
  37. WERNER, D., DAHM, K.: *New aspects of carcinogenesis in the resected stomach.* Abst. Ext. Med. **34** : 27, 1975.
  38. WILKIE, D., EGILSSON, V. and IVANS, I.H.: *Mitochondria in oncogenesis.* Lancet, **1** : 697, 1975.