مجله دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی
دوره ٦ شماره ١ بهار ١٣٨٧ , صفحات : ٥٥- ٤٧

اثرات اورتان و نیتریت سدیم بر بافتهای مختلف موش

دکتر فریبا کوهدانی : استادیار،گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران ایران
نویسنده رابط: fkoohdan@sina.tums.ac.ir
دکتر فرهنگ ساسانی : دانشیار، گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران, تهران ایران
دکتر کاظم محمد: استاد،گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران, تهران ایران
دکتر پروین مهدی پور : استاد، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران, تهران ایران

دریافت : ١٦٨٦/٧/٣ پذیرش : ١٣٨٦/٩/٦

چکیده

زمینه وهدف : برای تعیین حساسترین بافتها نسبت به اثرات سرطانزایی اورتان و تاثیرمصرف نیتریت سدیم بر آن بررسی هیستوپاتولوژیکی بر روی نوزده بافت موش انجام شد.

روش کار: مطالعه حاضر از نوع تجربی (Experimental) بر روی ٤٠ موش بالبسی ١١ـ٩ هفته که به طور تصادفی به ٤ گروه مساوی تقسیم شدند (٥موش نر و ٥ موش ماده)انجام شد. آنها را برای مدت ٢٠ هفته تحت مداخله قرار دادیم.گروه اول(NS+NaCl) در طی مداخله به جای آب آشامیدنی از سرم فیزیولوژی که ٥٠ mg/L نیتریت سدیم در آن حل شده بود استفاده نمودند. گروه دوم(U) به مدت سه روز پشت سر هم و هر روز یک باراورتان (٦٠٠ mg/kg)در داخل صفاق(IP) تزریق شد. گروه سوم (U+NS) نیز با همین روش اورتان دریافت نمودند و علاوه بر آن، در طی مداخله همراه آب آشامیدنی٥٠ mg/L نیتریت سدیم داده شد. در گروه چهارم(U) هیچ‌گونه مداخله‌ای انجام نشد. کلیه موشهای باقیمانده در هفته ٢٠ کشته و مورد بررسی قرار گرفت. بافتهای مغز ،چشم، قلب، ریه، معده، مری، دودنوم، ژوژنوم، کولون، سکوم، پانکراس، طحال، کبد، کلیه، مثانه، تخمدان، رحم، لوله های رحمی، بیضه، آنها جهت تغییرات هیستوپاتولوژیک مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج با استفاده از تست فیشر دقیق مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج : درکل موشهای مورد بررسی در گروه" U" نسبت به گروههای "C" و ""NS+NaCl " به ترتیب $p<$٠/٠٠٤ , $p<$٠/٠٢ ، و درگروه "U+NS" نسبت به گروههای" C" و "NS+NaCl " به ترتیب $p<$٠/٠٠٣ , $p<$٠/٠٢ تشکیل تومورهای ریوی افزایش معنی داری داشت. در موشهای ماده مورد بررسی، تومورهای ایجاد شده در بافت ریه در گروه "U" نسبت به هر دو گروه "C" و "NS+NaCl" ($p<$٠/٠٥) و همچنین در گروه "U+NS" نسبت به گروههای "C" و "NS+NaCl " ($p<$٠/٠٠٩) بیشتر بود. در کل موشهای تحت بررسی فراوانی تومورهای بدخیم، در گروه "U+NS" نسبت به هر دوگروه "C" و "NS+NaCl" (٠/٠٠٣) افزایش معنی دار داشت. در موشهای ماده مورد بررسی علاوه بر اینکه فراوانی تومورهای بدخیم در گروه "U+NS" نسبت به دوگروه "C" و "NS+NaCl" ($p<$٠/٠٠٩) بیشتر بود نسبت به گروه "U" نیز ($p<$٠/٠٥) افزایش معنی دار داشت. اختلاف بین فراوانی هیپرپلازی و متاپلازی در بافت معده گروههای مورد بررسی معنی دار نبود.درسایر بافتها ضایعه غیر طبیعی مشاهده نشد.

نتیجه گیری: ١ اورتان در بافت ریه اثرات تومور زایی داشت. ٢-مصرف توام نیتریت سدِیم با اورتان باعث تقویت اثرات تومور زایی اورتان در موشهای ماده وهمچنین ایجاد تومورهای بدخیم هم در موشهای ماده و هم در کل موشها نسبت به گروههای "کنترل" و "نیتریت و کلرید سدیم" شد. به طوری که در موشهای ماده این گروه علاوه بر گروههای "کنترل" و " نیتریت و کلرید سدیم" نسبت به گروه "اورتان" نیز تشکیل تومورهای بدخیم تفاوت آماری معنی دار داشت. تقویت اثرات بدخیمی اورتان بوسیله نیتریت سدیم برای اولین بار دراین مقاله گزارش شده است.

واژگان کلیدی: نیتریت سدیم، اورتان، سرطان, موش

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]

مقدمه

اورتان در رژیم غذایی روزمره، مصارف فراوانی دارد (Dennis et al. 1997; Schlatter et al. 1990). این ماده از تخمیر میکروبی مواد غذایی خصوصاً مشروبات الکلی به وجود می آید و یک ماده شناخته شده سرطانزا در حیوانات و احتمالاً در انسان است(Hoffler et al. 2003; Chan 1996; Azevedo et al. 2002 ; Mirvish 1968). این ماده توسط آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان به عنوان یک ماده سرطانزای احتمالی در انسان مطرح شده است (Chan 1996). نان محتوی ng/g ۱۵-۳ ، کنیاکهای حاصل از میوه‌های هسته‌دار ng/g ۲۰۰۰۰-۲۰۰ و حدود یک سوم از نمونه‌های شرابهای معمولی محتوی بیش ازng/g ۱۰ اورتان هستند(Schlatter et al. 1990). همچنین از بین مواد موجود در رژیم غذایی نقش احتمالی نیتراتها و نیتریتها در سرطانزایی گزارش شده است(Luca et al. 1987). در باره مصرف توأم مواد مذکور مطالعه Iinitskii و همکارانش نشان می‌دهد که مصرف طولانی نیتریت سدیم اثرات تومورزایی اورتان را تقویت می نماید (IInitskii et al. 2000). از آنجائی که در این مطالعه فقط به نقش اورتان در ایجاد تومور (اعم از خوش خیم و بدخیم) اشاره شده است تحقیق حاضر بر آن است تا نقش اورتان را در ایجاد تومورهای بدخیم نیز بررسی نماید. از سوی دیگر در بررسی قبلی نقش کمک سرطانزایی نیتریت درمراحل تشکیل و پیشرفت تومور در بافت ریه موشهای تحت مداخله با اورتان، دیده شد(کوهدانی ۱۳۸٤).

بنابراین هدف از انجام این بررسی تعیین حساسترین بافتها نسبت به اثرات سرطانزایی اورتان و نیتریت سدیم از طریق بررسی هیستوپاتولوژیکی بر روی نوزده بافت مختلف موش بود.

روش کار

مطالعه حاضر از نوع تجربی (Experimental) بر روی ٤٠ موش بالبسی ۱۱ـ۹ هفته که به طور تصادفی به ٤ گروه مساوی تقسیم شدند (۵موش نر و ۵ موش ماده)انجام شد. موشهای هر گروه بر اساس جنسیت در قفسهای مجزا، نگهداری شدند. موشهای ماده ۱۵ـ۱۲ گرم و موشهای نر ۲۰ـ۱۵ گرم وزن داشتند. در طی انجام مطالعه رطوبت، دما و نور محیطی تحت کنترل بود. همه موشها از بسته‌های غذایی آماده معمول به مقدار دلخواه تغذیه می‌شدند و ۱۵ـ۱۰ روز یکبار به آنها هویج تازه داده می‌شد. هیچ نوع آنتی‌بیوتیک، ویتامین یا داروی دیگری در طی مطالعه در هیچ یک از گروهها استفاده نشد.

اورتان (Urethane) با فرمول شیمیاییC3H7NO2، وزن مولکولی ۸۹/۰۹ و شماره کد LOT:125 H03/8 از شرکت سیگما تهیه شد. نیتریت سدیم(Sodium Nitrite) با فرمول شیمیایی NaNO2، وزن مولکولی ٦۹ gr/mol و شماره کد ۱/۰٦٥٤۹/۰۵۰۰ از شرکت مرک (Merck) آلمان تهیه شد. کلرید سدیم به صورت سرم فیزیولوژی ۰/۹٪ از داروخانه تهیه می‌شد.

موشهای مورد مطالعه را برای مدت ۲۰ هفته تحت مداخله قرار دادیم.

گروه اول (NS+NaCl): در این گروه از زمان شروع مطالعه به مدت ۲۰ هفته به جای آب آشامیدنی از سرم فیزیولوژی mg/L ۵۰ که نیتریت سدیم در آن حل شده بود استفاده شد.

گروه دوم (U): به این گروه در طی ٤٨ ساعت با فواصل مساوی، ۳ بار اورتان و در هر بار mg/kg ٦۰۰ ، در داخل صفاق[Intra peritoneal (IP)] تزریق شد.

گروه سوم(U+NS): مشابه گروه سوم به آنها اورتان تزریق شد. به این گروه همزمان با اولین تزریق اورتان تا پایان دوره ۲۰ هفته‌ای مداخله mg/L ۵۰ نیتریت سدیم همراه با آب آشامیدنی داده شد.

گروه چهارم (C): موشهای این گروه تحت هیچ‌گونه مداخله‌ای قرار نگرفتند.

از زمان شروع مطالعه تا هفته بیستم هر گاه موشی تلف شد سعی بر این بود که بلافاصله نمونه‌های بافتی آن تهیه

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]

شود. موشهای باقیمانده در پایان هفته ۲۰ ابتدا توسط ml ۱/۲ـ۰/۵ محلول ۱٪ اورتان در سرم فیزیولوژی به حالت بیهوشی عمیق رفته سپس انها را کشته و بافتهای مورد نظرخارج شد. هر بافت جهت بررسی هیستوپاتولوژیک در ظرف محتوی فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. بافت ارسالی به صورتی برش خورد که در صورت مشاهده ضایعه در آن قسمتی از بخش سالم در کنار ضایعه موجود باشد.

در آزمایشگاه آسیب شناسی ابتدا هر نمونه مورد بررسی مجدد قرار می‌گرفت و از آنها قطعاتی به ابعاد ۱۰ـ۵ میلی‌متر جدا و برای ادامه مراحل هیستولوژی در ظرف جداگانه‌ای با شماره‌گذاری یکسان قرار داده می‌شدند. مرحله آب‌گیری از بافتهایت انتخاب شده همزمان و بر روی تمام نمونه‌ها به صورت استاندارد انجام شد. مرحله غوطه‌ورسازی در پارافین نیز در مدت زمانی حدود ۱۲ ساعت صورت گرفت. آن گاه عمل قالب‌گیری با پارافین مذاب انجام و نمونه‌ها برای برش آماده شدند برشهای هیستولوژیک به کمک دستگاه میکروتوم مدل LICA با ضخامت ۵ میکرون تهیه شد.

سپس فیلمهای پارافین حاوی برشهای بافت پس از انتقال به حمام گرم بر روی لامهایی که از قبل تمیز و آغشته به چسب آلبومین بود منتقل شد، بعد از ثبوت سطحی تمام لامها پس از پارافین زدایی در محلول گزیلل، با روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند (بهادری ۱۳۶۹).

مطالعه میکروسکوپی تمام اسلایدها ابتدا با بزرگ‌نمایی حداقل و سپس برای رسیدن به تشخیص و تفسیر قطعی با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ ادامه یافت. لازم به ذکر است که پاتولوژیست و فرد آنالیز کننده آماری از تخصیص موشها در گروه های مورد نظر مطلع نبودند. به هنگام مطالعه میکروسکوپیک، از میدانهای دارای اهمیت تشخیصی عکسهایی تهیه شد. واکنشهای بافتی یکسان و طبیعی در کنار پدیده‌های پاتولوژیک خاص در مورد تمام نمونه‌ها مورد توجه قرار گرفت و ضایعات ریوی در سه گروه هیپرپلازی، آدنوم و کارسینوم آلوئول / برونشیول طبقه‌بندی شدند.

اطلاعات مربوط به شیوع ضایعات ریوی در هر یک از گروه ها نسبت به یکدیگر با استفاده از آزمون آماری فیشر تعیین شد.

نتایج

در گروه «U»: در بافت ریه هم آدنوم و هم کارسینوم دیده شد. تشکیل تومورهای ریوی در کل موشهای این گروه (جدول ۱) نسبت به گروههای «C» ($p<$ ۰/۰۰٤) و «NS+NaCl" ($p<$ ۰/۰۲) و همچنین در موشهای ماده (جدول۱) نیزنسبت به هر دو گروه «C» و «NS+NaCl » ($p<$۰/۰۵) افزایش آماری معنی‌دار داشت. تشکیل تومورهای بدخیم در ریه با سایر گروه‌ها اختلاف آماری معنی‌داری نداشت (جدول۲). در بافت معده یک مورد هیپرپلازی و ۲ مورد متاپلازی مشاهده شد. درسایر بافتها هیچگونه تغییر پاتولوژیکی مشاهده نشد.

در گروه «U+NS» : تشکیل تومورهای ریوی در کل موشهای این گروه (جدول ۱) **نسبت به** گروههای «C» ($p <$۰/ ۰۰۳)و «NS+NaCl » ($p<$ ۰/۰۲) و در موشهای ماده (جدول ۱) نسبت به گروه‌های «C» و «NS+NaCl» ($p<$ ۰/۰۰۹) بیشتر بود. در بافت ریه در بین کل حیوانات (مجموع حیوانات نر و ماده) و حیوانات ماده این گروه بیشترین تعداد کارسینوم، دیده شد (جدول۲).تشکیل تومورهای بدخیم ریوی نیز در این گروه در کل موش‌ها ($p <$۰/۰۰۳) (جدول ۲) و در موشهای ماده ($p<$ ۰/۰۰۹) (جدول ۲) نسبت به هر دو گروه «C» و «NS+NaCl » افزایش معنی‌داری داشت. همچنین در موش‌های ماده تشکیل تومورهای بدخیم نسبت به گروه «U» نیز افزایش آماری معنی‌دار نشان داد ($p<$ ۰/۰۵) (جدول ۲). در بافت معده ۳ مورد هیپرپلازی و یک مورد متاپلازی مشاهده شد. درسایر بافتها هیچگونه تغییر پاتولوژیکی مشاهده نشد (جدول ۳).

بحث

سرطان ریه نه تنها در امریکا بلکه در سرتاسر جهان در

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]

راس عواملی است که منجر به مرگ ومیر ناشی از سرطان می شود (Molina 2008).

تومورزا یی اورتان در بافت ریه توسط سایر مطالعات تأیید شده است(Dong et al. 1998; Koujitani et al. 2001; Kawano et al. 1995; Chan 1996; Balansky et al. 1998; Iminitov 1999; Mori et al. 2000 ; کوهدانی ۱۳۸٤). در مطالعه ما نیز تشکیل تومور در بافت ریه در کل موشها و موشهای ماده گروه اورتان نسبت به گروههای «C» [به ترتیب ($p<$ ۰/۰۰٤) و ($p<$۰/۰۵)] و «NS+NaCl » [به ترتیب ($p<$ ۰/۰۲) و ($p<$۰/۰۵)] تفاوت معنی دار داشت. اما تشکیل تومور بدخیم بافت ریه در این گروه نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت.

مدلی که در مطالعه ما استفاده شد در ضایعات ریوی ناشی از اورتان، مرحله هیپرپلازی احتمالاً حذف شده است در حالی که بروز آدنوم و کارسینوم افزایش یافت. یافته‌های ما با مطالعه ای که بر روی موش CBA/J انجام شد همخوانی دارد و نتایج این مطالعه را در مورد حذف مرحله هیپرپلازی در ریه، تأیید می‌کند(Cazorla et al. 1998).

یافته‌های این بررسی نتایج مطالعه Yu را تأیید نکرد(Yu et al. 1999). مطالعه ما بر روی موشهای بالغ و طی یک دوره مداخله ۲۰ هفته ای انجام شد. احتمالاًزمان مواجهه با اورتان و فاصله زمانی بین بررسی و زمان مواجهه، عامل این تفاوت یافته ها است. به نظر میرسد مواجهه با اورتان در مراحلی که تقسیمات سلولی سریعتر است خطرات تومورزایی بیشتری در معده داشته باشد. از سوی دیگر انجام مطالعات بعدی در دوره زمانی طولانی تر ممکن است اثرات این ماده را در معده بهتر نشان دهد.

در حالی که در گروه «اورتان و نیتریت» در کل موشها هم تشکیل تومورهای ریوی ($p<$ ۰/۰۰۳) و هم تشکیل تومورهای بدخیم یا آدنوکارسینوم ($p<$۰/۰۰۳) (جدول ٤) نسبت به گروه کنترل معنی‌دار بود در موشهای ماده نیز تشکیل تومورهای ریوی ($p<$۰/۰۰۹) نسبت به گروه کنترل و تومورهای بدخیم نسبت به گروه کنترل ($p<$۰/۰۰۹) و گروه "اورتان"($p<$ ۰/۰۵) تفاوت معنی‌دار داشت. مقایسه نتایج فوق نشان می‌دهد وقتی نیتریت سدیم همراه با اورتان داده شود باعث بروز معنی‌دار اثرات بدخیمی ناشی از اورتان در کل موشها و موشهای ماده می‌شود و در موشهای ماده تومورزایی ناشی از اورتان را نیز تقویت می‌نماید.

از طرف دیگر وقتی اثرات تومورزایی و تشکیل تومورهای بدخیم در گروه «اورتان و نیتریت» با گروه « نیتریت و کلرید سدیم» مقایسه شد به ترتیب با ($p<$۰/۰۰۲) و ($p<$۰/۰۰۳) و در موشهای ماده ($p<$۰/۰۰۹) و ($p<$۰/۰۰۹) ، تفاوت معنی‌دار بود. بنابراین ظاهرا به نظر می رسد تاثیرات نیتریت سدیم در موشهای ماده قویتر است.

از سوی دیگر می‌توان نتیجه گرفت که نیتریت سدیم فقط در شرایطی که همراه با اورتان مصرف شده است، اثرات تومورزایی و تشکیل تومور بدخیم در ریه داشته است و مصرف این ماده همراه با کلرید سدیم چنین نقشی را ایفا نکرده است.

نه تنها نیتریت سدیم اثرات ناشی از اورتان خصوصاً اثرات بدخیمی و تشکیل آدنوکارسینوم را به میزان معنی‌داری افزایش می‌دهد، بلکه اورتان نیز متقابلاً باعث تقویت اثرات هم سرطانزایی(Co-carcinogenic) نیتریت سدیم می‌شود (Synergism). لازم به ذکر است نتایج مطالعه حاضر برای اولین بار نقش نیتریت سدیم را در تقویت معنی‌دار اثرات بدخیمی اورتان در ریه نشان می‌دهد. به منظور بررسی مکانیسم عمل مواد مذکور، بافتهای توموری از نظر وجود جهش در اگزون یک ژن k-ras وپرولیفراسیون سلولی توسط پروتیین k 67 مورد بررسی قرار گرفتند که در مقالات بعدی نتایج گزارش می شود.

نتایج دو مطالعه نشان داد سطح سرمی نیتریت ونیترات در بیماران مبتلا به سرطان ریه به میزان معنی داری بیش از گروه کنترل بود(Esme 2008; Colakogullari 2006 همچنین در مطالعه Colakogullari در سال 2006 دیده شد افزایش سطح سرمی نیتریت و نیترات شانس بقاء را در

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]

بیماران به میزان معنی داری کاهش می دهد.

در مطالعه IIinitskii و همکارانش مصرف طولانی مدت نیتریت سدیم در بروز تعداد آدنوم ریه ناشی از مصرف اورتان افزایش معنی‌داری ایجاد کرده است. نتایج مطالعه ما در موشهای ماده این گروه، یافته‌های این مطالعه را درباره تقویت اثرات تومورزایی اورتان توسط نیتریت سدیم تأیید می‌کند. مطالعه دیگری در زمینه مصرف توأم این دو ماده انجام نشده است .

هیپرپلازی در بافت معده گروه «اورتان و نیتریت» نسبت به گروه کنترل به نظر بیشتر می رسید اما این تفاوت از نظر آماری معنی دار نبود($p<$ ۰/۰۸) (جدول ۳) . در یک مطالعه بر روی F344 Rats نر در حالیکه کاتکل یا ۳ــ متوکسی کاتکل به تنهایی باعث هیپرپلازی خفیف یا متوسط معده شد لیکن مصرف همزمان آنها با نیتریت سدیم درجه هیپرپلازی و تشکیل پاپیلوما را افزایش داد. بنابراین نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که نیتریت سدیم احتمالاً از طریق ایجاد میتوزهای فعال جدید اپی‌تلیوم پیش معده را افزایش می‌دهد (Hirose et al. 1990). نتایج ما با داده‌های این مطالعه همخوانی دارد.

اغلب تومورهای پیش‌معده از مسیر اکانتوزیز (Acanthosis) یاهیپرکراتوزیس (Hyperkeratosis)، لوکوکراتوزیس(Leukokeratosis) و پاپیلوم (Papilloma) عبور کرده و نهایتاً به شکل کارسینومای سلول‌های اسکوآموس (Squamous cell carcinoma) تهاجم می‌یابند (Maekawa et al. 1976). در مطالعه ما نیز در گروههای مختلف ٤ مورد متاپلازی که همگی همراه با هیپرکراتوزیس بودند یافت شد.

لازم به ذکر است که ۲ مورد آنها در گروه «اورتان و نیتریت» یک مورد در گروه اورتان و یک مورد در گروه «نیتریت و کلرید سدیم» بود .

با توجه به سیر بسیار طولانی مراحل شروع سرطان معده، تعیین جراحات بیش سرطانی این بافت برای ایجاد تسهیلاتی در تحقیقات سرطان معده، در اولویت قرار دارد. متاپلازی روده‌ای به عنوان یک وضعیت پیش سرطانی مورد توجه است (Tatematsu et al. 1989).

نتیجه گیری

۱- اورتان در بافت ریه اثرات تومور زایی داشت. ۲-مصرف توام نیتریت سدیم با اورتان باعث تقویت اثرات تومور زایی اورتان در موشهای ماده وهمچنین ایجاد تومورهای بدخیم هم در موشهای ماده و هم در کل موشها شد. تقویت اثرات بدخیمی اورتان بوسیله نیتریت سدیم برای اولین بار دراین مقاله گزارش شده است. مصرف روزانه نیتریت چه به صورت یک افزودنی غذایی و چه در آب آشامیدنی حتی در مقادیری که مصرف این ماده به تنهایی تاثیر نا مطلوبی ایجاد نمی کند ممکن است منجر به تشدید اثرات سوء اورتان شود و مصرف توام اورتان با نیتریت باعث افزایش معنی دار در ایجاد تومورهای بد خیم و در نتیجه تشدید اثرات سرطانزایی اورتان شد.

پیشنهادات: با توجه به یافته های این بررسی، برای تآیید نقش نیتریت سدیم در افزایش اثرات تومورزایی اورتان در بافت ریه- به ویژه در تشکیل تومورهای بدخیم- انجام تحقیقات بعدی پیشنهاد می شود.

همچنین توصیه می شود در مطالعات آینده نقش جنسیت به عنوان یک متغیر مخدوش کننده احتمالی در بروز اثرات کمک سرطان زایی نیتریت سدیم، کنترل شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب تشکر و قدر دانی خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران که بودجه لازم جهت اجرای این پژوهش را فراهم ساختند(طرح شماره ۱۱۸۷ /۱۳۲) ابراز می دارند.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]

جدول ۱- شیوع تومورهای ریوی در موشهای تحت مطالعه

موش	گروه	تعداد حیوانات آزمایش شده	طبیعی تعداد(درصد)	تومور تعداد(درصد)	Pvalue
نر	کنترل (C)	٤/٠٠	(١٠٠)٤	(٠)٠	
	نیتریت و کلرید سدیم (NaCl + NS)	٤/٠٠	(٧٥)٣	(٢٥)١	
	اورتان (U)	٥/٠٠	(٤٠)٢	(٦٠)٣	
	اورتان و نیتریت سدیم (U + NS)	٤/٠٠	(٥٠)٢	(٥٠)٢	
ماده	کنترل (C)	٥/٠٠	(١٠٠)٥	(٠)٠	
	نیتریت و کلرید سدیم (NaCl + NS)	٥/٠٠	(١٠٠)٥	(٠)٠	
	اورتان (U)	٥/٠٠	(٢٠)١	(٨٠)٤*	٠/٠٥
	اورتان و نیتریت سدیم (U + NS)	٥/٠٠	(٠)٠	(١٠٠)٥**	٠/٠٠٩
کل	کنترل (C)	٩/٠٠	(١٠٠)٩	(٠)٠	
	نیتریت و کلرید سدیم (NaCl + NS)	٩/٠٠	(٨٨/٩)٨	(١١/١)١	
	اورتان (U)	١٠/٠٠	(٣٠)٣	(٧٠)٧****,***	٠/٠٠٤ و ٠/٠٢
	اورتان و نیتریت سدیم (U + NS)	٩/٠٠	(٢٢/٢)٢	(٧٧/٨)٧****,***	٠/٠٠٤ و ٠/٠٢

* تفاوت آماری معنی دار با گروه های " کلرید سدیم و نیتریت" و "کنترل" (p<٠/٠٥)

** تفاوت آماری معنی دار با گروه های "نیتریت و کلرید سدیم" و "کنترل" (p<٠/٠٠٩)

*** تفاوت آماری معنی دار با گروه "کنترل" (p<٠/٠٠٤)

**** تفاوت آماری معنی دار با گروه" نیتریت و کلرید سدیم" (p<٠/٠٢)

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]

جدول ۲- شیوع تومور بدخیم ریه در موشهای تحت مطالعه

موش	گروه	تعداد حیوانات آزمایش شده	خوش خیم تعداد(درصد)	بدخیم تعداد(درصد)	Pvalue
نر	کنترل (c)	٤/٠٠	(١٠٠)٤	(٠)٠	
	نیتریت و کلرید سدیم (NaCl + NS)	٤/٠٠	(٧٥)٣	(٢٥)١	
	اورتان (U)	٥/٠٠	(٤٠)٢	(٦٠)٣	
	اورتان و نیتریت سدیم (U + NS)	٤/٠٠	(٥٠)٢	(٥٠)٢	
ماده	کنترل (c)	٥/٠٠	(١٠٠)٥	(٠)٠	
	نیتریت و کلرید سدیم (NaCl + NS)	٥/٠٠	(١٠٠)٥	(٠)٠	
	اورتان (U)	٥/٠٠	(٨٠)٤	(٢٠)١	
	اورتان و نیتریت سدیم (U + NS)	٥/٠٠	(٠)٠	*(١٠٠)٥	٠/٠٠٩ و ٠/٠٥
کل	کنترل (c)	٠٠٩	(١٠٠)٩	(٠)٠	
	نیتریت و کلرید سدیم (NaCl + NS)	٩/٠٠	(١٠٠)٩	(٠)٠	
	اورتان (U)	١٠/٠٠	(٦٠)٦	(٤٠)٤	
	اورتان و نیتریت سدیم (U + NS)	٩/٠٠	(٢٢/٢)٢	**(٧٧/٨)٧	٠/٠٠٣

* تفاوت آماری معنی دار با گروه های "نیتریت و کلرید سدیم" و "کنترل "(p<٠/٠٠٩) و" اورتان" (p<٠/٠٥)

** تفاوت آماری معنی دار با گروه های "کلرید سدیم و نیتریت" و "کنترل " (p<٠/٠٠٣)

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]

جدول ۳- شیوع هیپرپلازی در بافتهای موشهای تحت مطالعه

گروه	طبیعی تعداد(درصد)	هیپرپلازی تعداد(درصد)	جمع
کنترل (c)	۸(۱۰۰)	۰(۰)	۸/۰۰
نیتریت و کلرید سدیم (NaCl + NS)	٦(۲۵)	۲(۲۵)	۸/۰۰
اورتان (U)	۸(۸۸/۹)	۱(۱۱/۱)	۹/۰۰
اورتان و نیتریت سدیم (U + NS)	٤(۵۷/۱)	۳*(٤۲/۹)	۸/۰۰

* تفاوت آماری با گروه کنترل (p<۰/۰۸) معنی دار نبود.

منابع

بهادری، م.، ۱۳٦۹. فن بافت شناسی وروش های رنگ آمیزی ، انتشارات دانشگاه تهران، تهران.

کوهدانی، ف.، ۱۳۸٤. بررسی اثرات سرطانزایی نیتریت و کلرید سدیم و اثرات ضد سرطانی ویتامین D توسط آزمایشات هیستوپاتولوژیک و ردیابی جهش های انتخابی اگزون ۱ ژن k-ras در برخی از بافتهای موش بالبسی. پایاننامه دکترای علوم تغذیه، تبریز: دانشکده بهداشت و تغذیه دانشگاه علوم پزشکی تبریز.

Abraham, S.C., Park, S.J., Lee, J.H., Mugartegui, L. & Wu, T.T., 2003. Genetic alteration in gastric adenomas of intestional and foveolar phenotypes. *Mod Pathol*, **16,** pp. 786-95.

Azevedo, Z., Couto, J.A. and Hogg, T., 2002. Citrulline as the main precursor of ethyl carbamate in model fortified wines inoculated with Lactobacillus hilgardii: a marker of the levels in a spoiled fortified wine. *Letters in Applied Microbiology*, **34,** pp. 32-36.

Balansky, R.M. and De Flora, S., 1998. Chemoprevention by N-acetylcysteine of urethane-induced clastogenicity and lung tumors in mice. *Int J Cancer*, **77,** pp. 302-5.

Cazorla, M., Hernández, L., Fernández, P.L., Fabra, A., Peinado, M.A., Dasenbrock, C., Tillmann, T., Kamino, K., Campo, E., Kohler, M., Morawieltz, G., Cardesa, A., Tomatis, L. and Mohr, U., 1998. K-ras gene mutations and absence of p53 gene mutations in spontaneous and urethane-induced early lung lesions in CBA/J mice. *Molecular carcinogenesis*, **21,** pp. 251-260.

Chan, P.C., 1996. NTP technical report on toxicity studies of urethane in drinking water and urethane in 5% ethanol administered to F344/N rats and B6C3F1 mice. *Toxic Rep Ser*, 52,1-91,A1-9,B1-9passim.

Colakogullari, M., Ulukaya, E., Yilmaztep, A., Ocakoglu, G., Yilmaz, M., Kardag, M. and Tokullugil, A., 2006. Higher serum nitrite levels are associated with poor survival in lung cancer. *Clinical Biochemistry*, **39,** pp. 898-03.

Correa, P., Haenszel, W., Cuello, C., Tannenbaum, S. and Archer, M., 1975. A model for gastric cancer epidemiology. *Lancet*, **2,** pp. 58-60.

Dennis, M.J., Massey, R.C., Ginn, R., Willettes, P., Crews, C. and Parker, I., 1997. The contribution of azodicarbonamide to ethyl carbamate formation in bread and beer. *Food addit Contam*, **14,** pp. 101-8.

Dong, Q., Li, S., Xiao, B., Zhang, X. and Liu, X., 1998. A comparison study on the sensitivity of lung tumor shortterm induction test in three strains of mice. *Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao*, **29,** pp. 252-5.

Esme, H., Cemec, M., Sezer, M., Saglam, H., Demir, A., Melek, H. and Unlu, M., 2008. High level of oxidative stress in pationts with advanced lung cancer.Respiro, **13,** pp. 112-116.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]

nitrosourethan in the drinking water. *Gann,* **67,** pp. 549-59.

Mirvish, S.S., 1968. The carcinogenic action and metabolism of urethane and N-hydroxyurethane, *Adv. Cancer Res,* **11,** pp.1-42.

Molina, J.R., Yang, P., Cassivi, S.D., Schild, S.E. and Adjei, A.A., 2008. Non-small cell lung cancer: epidemiology, risk factors, treatment, and survivorship. *Mayo Clin Proc.,* **83,** pp. 584-94.

Mori, I., Yasuhara, K., Hayashi, S.H., Nonoyama, T. and Nomura Tand Mitsumori. K., 2000. Carcinogen dose-dependent variation in the transgene mutation spectrum in urethane –induced lung tumors in transgenic mice carrying the human prototype c-Ha-ras gene. *Cancer Letters,* **153,** pp.199-209.

Schlatter, J. and Lutz, W.K., 1990. The carcinogenic potential of ethyl carbamate (urethane): risk assessment at human dietary exposure levels. *Food Chem Toxicol,* **28,** pp. 205-11.

Tatematsu, M., Ozaki, K., Mutai, M., Shichino, Y., Furihata, C. and Ito, N., 1989. Enhansing effects of various gastric carcinogens on development of pepsinogen-altered pyloric glands in rats. *Carcinogenesis,* **11,** pp.1975-1978.

Yu, W., Sipowicz, M.A., Haines, D.C., Birely, L., Diwan, B.A., Riggs, C.W., Kasprzak, K.S. and Anderson, L.M., 1999. Preconception urethane or chromium (III) treatment of male mice: multiple neoplastic and non neoplastic changes in offspring. *Toxicol Appl Pharmacol.,* **158,** pp. 161-176.

fmodifying effects of eugenol on development of lung proliferative lesions induced by urethane in transgenic mice carrying the human prototype c-Ha-ras gene. *J Toxicol Sci,* **26,** pp. 129-39.

Hirose, M., Fukushima, S., Hasegawa, R., Kato, T., Tanaka, H. and Ito, N., 1990. Effectes of sodium nitrite and catechol or 3-methoxycatechol in combination or rat stomathepithelium. *Jpn J Cancer Res,* **81,** pp. 857-61.

Hoffler, U., El-Masri, H.A., Ghanayem, B.I., 2003. Cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) is the principal enzyme responsible for urethane methabolism : Comparative studies using CYP2E1-null and wild-type mice. *J Pharmacology, Exp Ther.* 307, 1243.

II'nitskii, A.P., Reutov, V.P., Ryzhova, N.I., Kolpakova, A.S., Deriagina. V.P., Nekrasova, E.A., Sovluchinskaia, L.A. and Travkin, A.G., 2000. Modifying effect of nitrites on pulmonary blastogenesis and viral leukogenesis in mice: role of nitric oxide and dioxide. *Vestn Ross Akad Med Nauk,* **7,** pp. 11-6.

Imianitov, E.N., Togo, A.V., Anisimov, V.N., 1999. Search for Ki-ras codon 61 mutations in lung adenomas induced in neonatal BALB/C mice with 5-bromodesoxyuridine injection followed by urethane treatment. Vopr Onkol. **45,** pp. 542-5.

Kawano, R., Nishisaka, T., Takeshima, Y., Yonehara, S. and Inai, K., 1995. Role of point mutation of the k-ras gene in tumorigenesis of B6C3F1 mouse lung lesions induced by urethane. *Jpn J Cancer Res,* **86,** pp. 802-10.

Koujitani, T., Yasuhara, K., Tamura, T., nodera, H., Takagi, H., Takizawa, T., Hirose, M., Hayashi, Y. and Mitsumori, K., 2001. Lack Luca D, Luca V, Cotor Fl, Raileanu L., 1987. In vivo and in vitro cytogenetic damage induced by sodium nitrite. *Mutation Research,* **189,** pp. 333-339.

Maekawa, A., Kamiya, S. and Odashima, S., 1976. Tumors of the upper digestive tract of ACI/N rats given N-propyl-N-

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-09-20]