

Dampak Induksi Karsinogenesis Glandula Mammae dengan 7, 12-dimetilbenz(α)antrasen terhadap Gambaran Histopatologis Lambung Tikus *Sprague Dawley*

THE IMPACT OF MAMMARY CARCINOGENESIS INDUCED BY 7,12-DIMETILBENZ (α) ANTRACENE ON HISTOPATHOLOGICAL FEATURES OF THE GASTRIC IN SPRAGUE DAWLEY RAT

Ranita Tri Budi M¹, Sitarina Widyarini¹

¹Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada
Jl. Fauna, Yogyakarta, 55281
Telepon: 0274-560861 email: sadi_id@yahoo.com

ABSTRACT

This experiment was designed to study the impact of mammary carcinogenesis induced by 7,12-dimetilbenz (α) antracene (DMBA) on histopathological features of the gastric in *Sprague Dawley* rat. Eight female *Sprague Dawley* (SD) rats, of four week-old, were used in this study. The rats were randomly divided into 2 groups of four. Group I were treated orally with 20 mg/kg BW of 7,12-dimetilbenz (α) antracene (DMBA) treatment, twice a week for 5 weeks. Group II were used as negative control without DMBA treatment. At 5 week after the end DMBA of, the rats of the both groups were sacrificed and the gastric were fixed in 10% buffer formalin. Subsequently, tissue sections were stained with hematoxylin and eosin (H&E) for microscopic examination. The results of the experiment show that oral administration of DMBA (20 mg/kg BW) twice a week, for 5 weeks result in epithelial hyperplasia of cardia. Hemorrhagic and inflammation reactions are also found on the mucous membrane of fundic. However, macroscopic examination shows no specific changes of the gastric. Histopathological changes were suspected as a pre cancer lesion of the gastric due to chronic exposure of DMBA.

Key words: 7,12-dimetilbenz (α) antracene, mammary carcinogenesis, cardia, fundic

PENDAHULUAN

Senyawa 7,12-dimetilbenz (α) antrasen (DMBA) adalah zat kimia yang termasuk dalam *polycyclic aromatic hydrocarbon* (PAH) yang dikenal bersifat mutagenik, teratogenik, karsinogenik, sitotoksik, dan immunosupresif (Anon, 2004). Menurut *Division of Occupational Health and Safety National Institutes of Health*, DMBA yang mempunyai 4 cincin benzene termasuk dalam tujuh PHA yang dapat menyebabkan kanker pada manusia. (Lukitaningsih dan Noegrohati, 2000; Al-Attar, 2004; Anon, 2004). Secara alami DMBA dapat ditemukan di alam sebagai hasil dari proses pembakaran yang tidak sempurna, seperti dalam asap tembakau, asap pembakaran kayu, asap pembakaran gas, bensin, minyak, batubara atau daging (Anon, 2004). Senyawa 7,12-dimetilbenz (α) antrasen dapat ditemukan di dalam air, tanah maupun udara (Anon, 1995).

Kontaminasi DMBA biasa terjadi melalui makanan atau peroral, inhalasi maupun kontak kulit (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1995). 7,12-dimetilbenz (α) antrasen juga dilaporkan sebagai karsinogen poten pada hewan coba, dengan target utama pada kulit dan glandula mammae (Haschek dan Rousseaux, 1991; Mun'im *et al.*, 2006; Russo dan Russo, 1996). Dosis tinggi DMBA yang diberikan secara kronik pada hewan coba dapat menyebabkan nekrosis pada adrenal (Haschek dan Rousseaux, 1991).

Pada penelitian ini dibuat model karsinoma glandula mammae dengan hewan model tikus *Sprague Dawley* (SD), yang diinduksi dengan karsinogen kimiawi DMBA. Karsinogen kimiawi ini mampu menginduksi terjadinya kanker pada glandula mamme dengan histopatogenesis yang mirip dengan histopatogenesis yang terjadi pada manusia (Meiyanto *et al.*, 2007; Russo dan Russo, 1996).

Penelitian karsinogenesis glandula mammae dengan menggunakan aplikasi DMBA secara oral pada tikus SD merupakan model lesi malignansi glandula mammae pada manusia (Anon, 2007; Yu *et al.*, 2002). Selama ini DMBA telah dibuktikan mampu menginduksi kanker glandula mammae pada hewan coba, dengan pemberian secara oral dan diberikan untuk kurun waktu tertentu (Kubatka *et al.*, 2000; Meiyanto *et al.*, 2007; Russo dan Russo, 1996; Singletary *et al.*, 1997). Pada tikus, DMBA muncul secara selektif dan tidak ditemukan pada sel parenkim glandula mammae. Metabolit aktif dari DMBA akan berikatan dengan DNA epitel glandula mammae (DNA *adduct*), selanjutnya ikatan dengan DNA akan turun hingga 50% 16 jam pasca paparan dengan DMBA. Namun demikian, apabila paparan DMBA dilakukan terus menerus selama 42 hari, maka akan terjadi ikatan yang menetap antara metabolit aktif DMBA dan DNA yang akan memicu munculnya kanker (Van Nostrand Reinhold Co, 1981).

Glandula mammae ternyata bukan merupakan satu-satunya organ target akibat paparan DMBA yang diberikan secara oral. Muto *et al.*, (2003), memperlihatkan bahwa metabolit dari DMBA yang diberikan secara oral dapat berefek pada organ lain dalam tubuh terutama pada organ saluran pencernaan. Penelitian mengenai efek pemberian DMBA secara oral terhadap saluran pencernaan *Syrian hamster*, telah diteliti oleh Chu *et al.*, (1965), menyebabkan terjadinya perubahan berupa keratinisasi sel epitel skuamus pada lambung, dan adenokarsinoma pada usus halus. Keratinisasi dan metaplasia glandula saliva juga ditemukan pada tikus yang diberi DMBA secara oral dengan dosis berulang (Ziu *et al.*, 1994). Pemberian DMBA secara topikal pada lidah *Syrian hamster* dapat menyebabkan perubahan berupa hiperplasia, displasia, dan karsinoma sel skuamosa (Kitakawa *et al.*, 2006).

Lambung merupakan tempat penampung makanan yang tercerna atau ingesti (Kent dan Carr, 2006; Haschek dan Rousseaux, 1991). Aplikasi secara oral bahan kimiawi karsinogen telah dilaporkan mempunyai efek terhadap lambung (Haschek dan Rousseaux, 1991). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui dampak paparan kronis DMBA secara oral untuk induksi kanker glandula mammae terhadap gambaran makroskopis dan histopatologis lambung tikus SD.

METODE PENELITIAN

Hewan Coba

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley* (SD), jenis kelamin betina dengan umur 1 bulan. Tikus diperoleh dari laboratorium Fakultas Farmasi dan dipelihara di kandang hewan percobaan Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Seluruh tikus yang digunakan dalam percobaan ini dikandangkan dalam kandang plastik yang ditutup dengan anyaman kawat. Tikus diberi pakan *pellet* untuk hewan laboratorium dan air minum yang diberikan *ad libitum*. Sebelum digunakan untuk penelitian tikus diadaptasikan selama seminggu di dalam kandang pemeliharaan.

Kelompok Perlakuan

Delapan ekor hewan coba dibagi dalam dua kelompok perlakuan. Kelompok I merupakan kelompok tikus perlakuan berjumlah 4 ekor dan dipapar dengan DMBA sebanyak 2 kali seminggu selama 5 minggu (10 kali pemberian). Kelompok II merupakan kelompok tikus kontrol negatif berjumlah 4 ekor dan tidak dipapar dengan DMBA

Pembuatan Larutan Karsinogen DMBA Dalam Minyak Jagung

Senyawa 7,12-dimetilbenz(α)antrasen (DMBA) (Sigma Chemical, Co), dengan konsentrasi 20 mg/kgBB dilarutkan dengan minyak jagung (Mazola, New Zealand), seperti yang telah dilaporkan sebelumnya (Meiyanto *et al.*, 2007). Larutan homogen DMBA selanjutnya diberikan secara peroral pada masing-masing kelompok perlakuan dengan menggunakan sonde.

Nekropsi

Lima minggu setelah pemberian DMBA terakhir, semua hewan coba dieutanasia dengan menggunakan *diethyl ether* (Merck, Germany). Selanjutnya hewan dinekropsi, organ lambung diambil, dan difiksasi dengan formalin 10%.

Pewarnaan Hematoksilin Eosin

Pewarnaan hemotoksilin dan eosin (H&E), pada jaringan lambung (kardia dan fundus), dilakukan sesuai standar prosedur Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada.

Analisis Data

Data perubahan makroskopik dan mikroskopik lambung dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan secara makroskopik lambung tikus putih dari kedua kelompok, yaitu kelompok I kelompok perlakuan dengan pemberian DMBA 20 mg/kg BB secara oral sebanyak 2 kali seminggu selama 5 minggu dan kelompok II tikus tanpa diberi DMBA tidak memperlihatkan perbedaan. Ukuran maupun keadaan dari lambung kedua kelompok tersebut dalam keadaan yang sama dan normal. Pada pemeriksaan makroskopik pada lambung kelompok perlakuan (DMBA), tidak ditemukan perubahan patologis pada bagian mukosa maupun serosa dari lambung. Namun demikian pemeriksaan histopatologi telah memperlihatkan adanya perubahan-perubahan pada lambung. Hasil pemeriksaan histopatologi lambung tikus putih dari kedua kelompok dapat dilihat pada tabel 1.

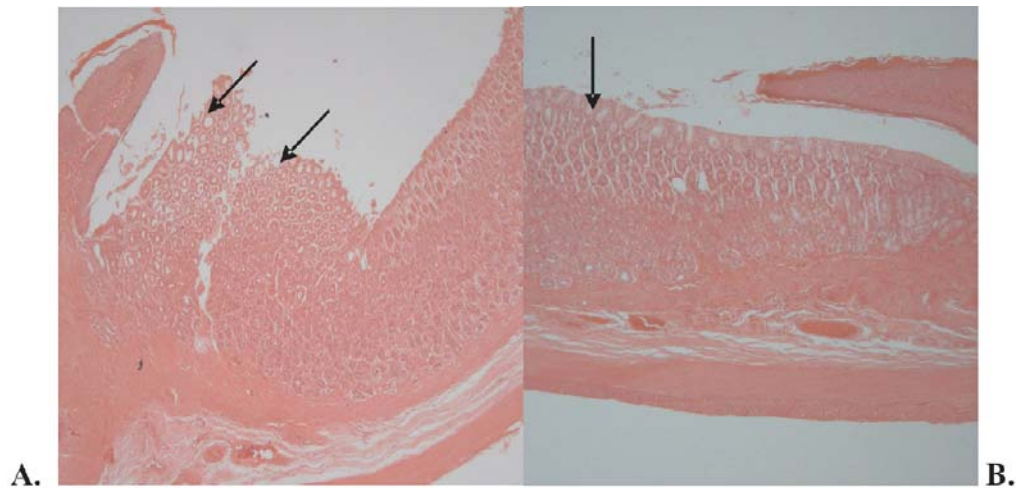
Fotomikrografi perubahan bagian-bagian dari lambung tikus SD karena paparan DMBA dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2. Pada tikus kelompok I terlihat kerusakan lambung pada kardia dan fundus sebagai akibat pemberian DMBA dosis 20 mg/kg BB selama 5 minggu atau 10 kali paparan. Sel epitel pada kardia mengalami hiperplasia. Fundus memperlihatkan perubahan berupa nekrosis epitel mukosa disertai infiltrasi sel radang, hemoragi lapisan mukosa, dan submukosa disertai peningkatan produksi mukus. Telah dilaporkan sebelumnya bahwa karsinogen kimia mempunyai beberapa efek sesuai dengan aksinya terhadap lambung.

Komponen karsinogen pada gastrointestinal beraksi melalui 2 jalur yaitu *direct* dan *indirect*. *Direct* karsinogen menyebabkan inisiasi sel menuju terjadinya tumor. *Indirect* karsinogen berakibat melalui rangsangan yang lama untuk menyebabkan proliferasi sel (Haschek dan Rousseaux, 1991). Lesi yang terjadi akibat kontak antara lambung depan dengan karsinogen *direct* maupun *indirect* adalah terbentuknya area displastik. Lesi awal yang terjadi berupa kerusakan epitel, hiperplasia dan hiperkeratosis (Haschek dan Rousseaux, 1991; Robbins dan Cotran, 1996), sesuai dengan yang ditemukan pada hasil penelitian ini.

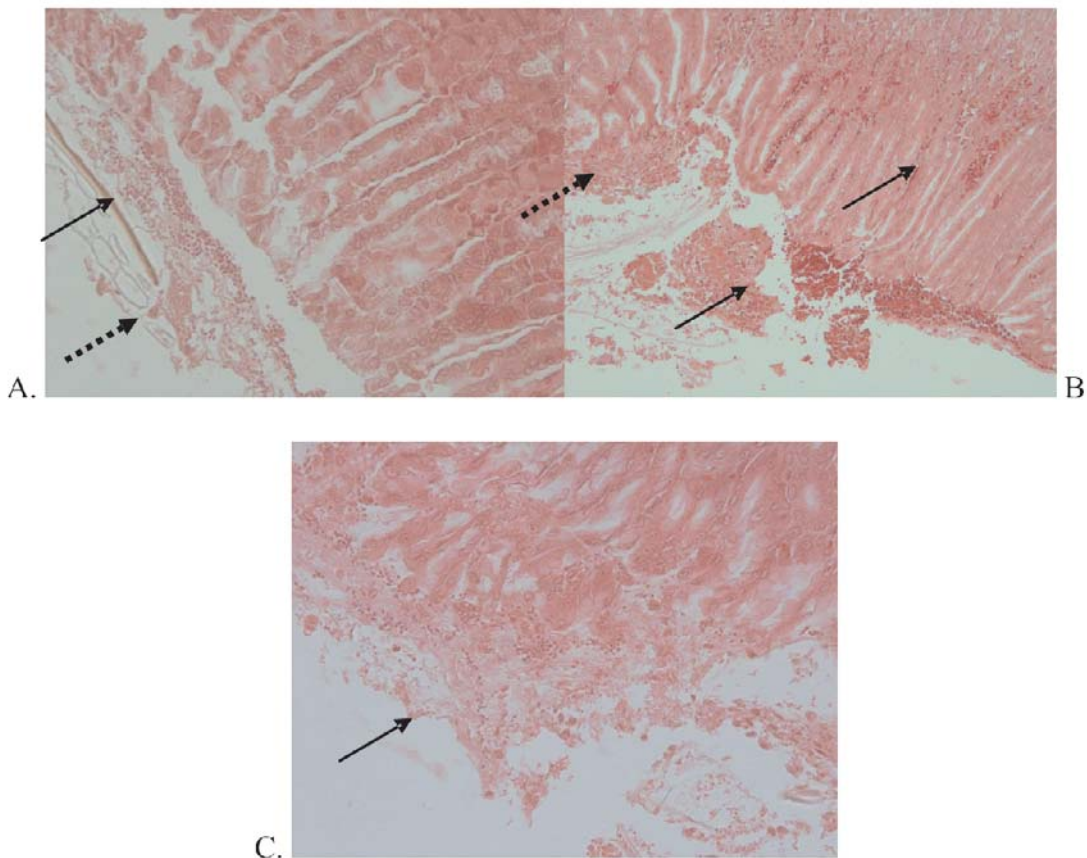
Pada penelitian ini terlihat perubahan awal pada sel epitel kardia dan fundus berupa hiperplasia, peningkatan mukus, hemoragi, dan nekrosis pada sel epitel mukosa maupun sub mukosa. Sel-sel epitelium saluran pencernaan merupakan lapisan yang berkontak langsung dengan xenobiotik. Sel-sel tersebut akan memperlihatkan respon terhadap komponen asing sebelum memasuki sirkulasi darah (Haschek dan Rousseaux, 1991). Modifikasi jalur enzim termasuk jalur sitokrom P-450, mono amine oksidase, epoksida hidrolase, dan beberapa jalur konjugasi lainnya memungkinkan sel-sel epitel menjalankan fungsi pertahanan. Sel-sel epitel mukosa dapat merespon komponen reaktif melalui ikatan membran dan enzim sitoplasmik. Meskipun jalur P-450 dapat menyebabkan kerusakan sel dan mereaktifkan epoksida hidrolase yang berperan dalam aktivasi metabolik prokarsinogen, sel-sel mukosa lambung dapat membentuk dihidrodiol yang bersifat nontoksikan. Proses ini terjadi melalui enzim sel mukosa termasuk epoksida hidrolase dan glukoronit transferase (Borm *et al.*, 1981; Haschek dan Rousseaux, 1991; Miyata *et al.*, 2001; Davenport dan Wargovich, 2004; Vences-Mejía *et al.*, 2005).

Tabel 1. Perubahan histopatologis pada lambung tikus *Sprague Dawley* (SD) yang dipapar dengan 7,12-dimetilbenz(á)antrasen (DMBA) 20 mg/kg BB, 2 kali seminggu selama 5 minggu (pewanaan H&E)

Kelompok	Histopatologis
I(DMBA)n=4	Epitel kardia mengalami hiperplasia. Fundus mengalami nekrosis epitel mukosa dengan infiltrasi sel radang, hemoragi pada lapisan mukosa dan submukosa disertai peningkatan produksi mukus. Pylorus tidak ditemukan perubahan yang spesifik.
II(non-DMBA)n=4	Kardia dan fundus tidak mengalami perubahan yang tersusun atas sel epitel skuamus dan kuboid simplek. Lapisan mukosa dan submukosa normal tanpa disertai peningkatan produksi mukus.



Gambar 1. Fotomikrografi kardia lambung tikus. A. Hiperplasi sel epitel pada kelompok yang dipapar DMBA 20 mg/kgBB, B. Kardia pada kelompok yang tidak diberi DMBA (pengecatan H&E, pembesaran 10x10)



Gambar 2. Fotomikrografi fundus lambung tikus yang dipapar DMBA 20mg/kgBB selama 5 minggu. A. Infiltrasi sel radang neutrofil (tanda panah) dan produksi mukus di mukosa (tanda panah putus), B. Hemoragi di daerah mukosa dan submukosa (tanda panah) dan nekrosis (tanda panah putus), C. Peningkatan produksi mukus (tanda panah) (pengecatan H&E, pembesaran 40x10).

Bentuk unik dari adaptasi pertahanan mukosa lambung terjadi pada saat mukosa mengalami iritasi ringan (Shao *et al.*, 2000). Kondisi semacam ini meningkatkan kadar prostaglandin E2 yang bekerja melindungi mukosa dari iritan perusak yang kuat. Prostaglandin tertentu melindungi lambung melawan keasaman tinggi dan enzim proteolitik. Prostaglandin E2 dan F2- α dapat meningkatkan bikarbonat gastrium dan produksi mukus. Produk siklooksigenase tersebut juga menghambat histamin dan stimulasi cAMP untuk memicu produksi asam dari kelenjar lambung. Efek ini diperantarai oleh sel-sel parietal di fundus (Shao *et al.*, 2000; Muqbil *et al.*, 2006). Mukus lambung merupakan protein sitoprotektif yang disintesis oleh sel epitel lambung (Banks, 1994). Jumlah pembentukan mukus yang meningkat menggambarkan lambung mengalami peradangan (gastritis), metaplasia dan penyakit malignan (Haschek dan Rousseaux, 1991; Banks, 1994; Ho *et al.*, 1995; Shao *et al.*, 2000; Muqbil *et al.*, 2006; Lacunza *et al.*, 2009). Peningkatan produksi mukus pada hasil penelitian ini disebabkan adanya reaksi radang dan iritasi yang disebabkan oleh paparan kronis DMBA pada fundus.

Garam empedu dalam lambung dilaporkan dapat merusak permeabilitas mukosa gastrium dan melarutkan lapisan lemak pada permukaan epitel serta menghambat transport aktif pompa sodium (Na) dari mukosa ke submukosa (Wu *et al.*, 2005). Garam empedu merangsang pelepasan siklooksigenase dan metabolit lipooksigenase dari asam lemak dan menyebabkan pembentukan aktif oksigen radikal (ROS), yang dapat menyebabkan kematian sel melalui jalur oksidatif dan dapat menyebabkan terjadinya kanker apabila dipapar dalam waktu lama. Karsinogen kimia melalui proses tersebut diatas, akan membentuk radikal bebas (O_2 , H_2O_2 , OH \cdot), yang dapat menyebabkan peroksidasi membran lipid dan kelukaan pada sel lambung (Haschek dan Rousseaux, 1991; Wu *et al.*, 2005). Kerusakan mukosa lambung yang diakibatkan oleh paparan kronis DMBA kemungkinan terjadi melalui mekanisme tersebut di atas.

Pada penelitian ini, pemberian DMBA selama 5 minggu dengan dosis 20 mg/kg BB, dapat memicu munculnya 50% nodul tumor glandula mammae pada tikus kelompok I (nodul tumor muncul pada minggu ke-5 setelah paparan terakhir DMBA, data tidak diperlihatkan). Dosis dan waktu paparan yang

sama dengan tersebut diatas, dapat menimbulkan perubahan pada lambung berupa hiperplasia pada perbatasan kardia dan reaksi radang pada fundus. Menurut Price dan Wilson (1994), dan Shao *et al.*, (2000), pemberian senyawa kimia dapat menimbulkan gastritis yang secara patologis memperlihatkan adanya infiltrasi sel radang berupa neutrofil dan peningkatan sekresi mukus. Hiperplasia epitel kardia dan peradangan pada fundus diduga merupakan lesi prakanker yang akan berlanjut menjadi kanker seperti yang telah dilaporkan sebelumnya (Yantiss *et al.*, 2008).

Pada penelitian ini, pemberian DMBA 20 mg/kg BB selama 5 minggu untuk memicu munculnya keganasan pada glandula mammae, belum dapat menimbulkan munculnya kanker pada lambung. Pada penelitian sebelumnya Chu *et al.*, (1965), memperlihatkan bahwa pemberian DMBA secara oral dengan dosis berulang 45 mg/kg BB, selama rentang 4 minggu sampai 2 bulan, dapat menimbulkan kanker pada lambung depan *Syrian hamster*. Penelitian Mun'im *et al.*, (2006), melaporkan pemberian DMBA dosis 15 mg/kg BB secara oral selama 3 bulan belum dapat menimbulkan kanker lambung pada tikus betina galur SD. Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa jenis hewan, dosis, rute pemberian dan lama waktu paparan DMBA, berpengaruh terhadap timbulnya keganasan pada lambung hewan coba.

SIMPULAN

Dampak paparan kronis DMBA secara oral dengan dosis 20 mg/kgBB untuk induksi kanker glandula mammae dapat menyebabkan perubahan berupa hiperplasia pada kardia dan reaksi radang pada fundus dari lambung. Perubahan yang terjadi pada kardia dan fundus diduga merupakan lesi prakanker pada lambung.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada ibu Dra. Tasminatun Apt., Msi., atas bantuannya dalam mempersiapkan bahan kimia karsinogen DMBA. Terimakasih juga disampaikan kepada Departemen Pendidikan Nasional melalui pemberian dana penelitian Program Kreativitas Mahasiswa tahun 2006.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Attar AM. 2004. The influence of dietary grape seed oil on DMBA-induced liver enzymes disturbance in the frog, *Rana ridibunda*. *Pakistan J Nutr* 3 (5): 304-309.
- Van Nostrand Reinhold Co. 1981. *Genetics and Breast Cancer*, 1st ed. New York: .
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 1995. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbon*. USA.
- Anonim. 2004. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbon*. Department of The Environment, Water, Heritage and Arts Australia. (www.environment.gov.au/index.html - diakses Desember 2008).
- Banks WJ. 1994. *Applied Veterinary Histology*. St. Louise: Mosby A Harcourt Health Sciences Company.
- Borm P, Bast A, Frankhuijzen-Sierevogel A, Noordhoek J. 1981. Cytochrome P-450 and ethoxycoumarin-diethylation in rat gastric microsomes: induction by 3-methylcholanthrene and inhibition by cimetidine. *Biochem Biophys Res Comm* 102(2): 784-790.
- Chu EW, Malmgren RM. 1965. An inhibitory effect of vitamin A on the induction of tumors of forestomach and cervix in the Syrian hamster by carcinogenic polycyclic hydrocarbons. *Cancer Res* 25(6): 884-895.
- Davenport DM, Wargovich MJ. 2005. Modulation of cytochrome P450 enzymes by organosulfur compounds from garlic. *Food Chem Toxicol* 43(1): 1753-1762.
- Haschek WM, Rousseaux CG. 1991. *Handbook of Toxicology Pathology*. London. Academic Press Inc.
- Ho SB, Shekels LL, Toribara NW, Kim YS, Lyftogt C, Cherwitz DL, Niehans GA. 1995. Mucin gene expression in normal, preneoplastic, and neoplastic human gastric epithelium. *Cancer Res* 55 (6): 2681-2690.
- Kent GC, Carr RK. 2006. *Comparative Anatomy of The Vertebrates*, 9th ed. New York. Boston Burr Ridge.
- Kitakawa D, Cabral LAG, Marques MEA, Salvadori DMF, Ribeiro DA. 2006. Medium-term tongue carcinogenesis assays: a comparative study between 4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO)-induced rat and dimethylbenzanthracene (DMBA)-induced hamster carcinogenesis. *J Exp Animal Sci* 43(3): 219-227.
- Kubatka P, Ahlersova E, Ahlers I, Bojkova B, Kalicka K, Adamkova E, Markova M, Chamilio M, Cermakova M. 2002. Variability of mammary carcinogenesis induction in female *Sprague Dawley* and *Wistar Han* rats; The Effect of Season and Age. *Physiol Res* 51(1): 633-640.
- Lacunza E, Bara J, Segal-Eiras A, Croce MV. 2009. Expression of conserved mucin by epithelial tissues in various mammalian species. *Res Vet Sci* 86(1):68-77.
- Lukitaningsih E, Noegrohati S. 2000. Studi Pemisahan senyawa hidrokarbon poliaromatik secara kromatografi gas kolom kapiler. *MFI* 11(1): 31-38.
- Meiyanto E, Susilowati S, Taminatun S, Murwanti R, Sugiyanto. 2007. Efek kemopreventif ekstrak *Gynura procumbens* (Lour), Merr pada karsinogenesis kanker payudara tikus. *MFI* 18(3): 154-161.
- Miyata M, Furukawa M, Takahashi K, Gonzalez FJ, Yamazoe Y. 2001. Mechanism of 7,12 dimethylbenz[a]anthracene-induced immunotoxicity: role of metabolic activation at the target organ. *Japan J Pharmacol* 86(2): 302 – 309.
- Mun'im A, Andrajati, Susilowati H. 2006. Uji hambatan tumorigenesis sari buah merah (*Pandanus conoideus* lam) terhadap tikus putih betina yang diinduksi 7, 12 dimetilbenz (a) antrasen (DMBA). *MIK* III(3):153 – 161.
- Muqbil I, Azmi AS, Banu N. 2006. Prior exposure to restraint stress enhances 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) induced DNA damage in rats. *FEBS Letters* 580(2): 3995-3999.
- Muto T, Takasaki S, Takahashi H, Hana H, Kanai Y, Wakui S, Endo H, Furusato M. 2003. Initial changes of hepatic glycogen granules and glycogen phosphorylase α after exposure to 7, 12-dimethylbenz (α) anthracene in rats. *Japan Toxicol Pathol* 16(2): 153-160.
- Price SA, Wilson LM. 1994. *Fisiologi Proses-Proses Penyakit*. Edisi 4. Jakarta. EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Robbins SL, Cotran RS. 1984. *Pathologic Basis of Disease*, 3rd Ed.. Philadelphia. WB Saunders Company.
- Russo IH, Russo J. 1996. Mammary gland neoplasia in long term rodent studies. *Environ Health Perspect* 104 (9): 938-967.

- Shao J, Sartor B R, Dial E, Lichtenberger LM, Schepp W, Alpers DH. 2000. Expression of intrinsic factor in rat and murine gastric mucosal cell lineages is modified by Inflammation. *Am J Pathol* 157(4):1197-1205.
- Singleton K, MacDonald C, Wallig M. 1997. The plasticizer benzylbutylphthalate (BBP) inhibits 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA)-induced rat mammary DNA adduct formation and tumorigenesis. *Carcinogenesis* 18 (8): 1669-1673.
- Vences-Mejía A, Caballero-Ortega H, Dorado-González V, Gamboa-Domínguez A, Gómez-Ruiz C, Camacho-Carranza R, Espinosa-Aguirre JJ. 2005. Cytochrome P450 expression in rat gastric epithelium with intestinal metaplasia induced by high dietary NaCl levels. *Environ Toxicol Pharmacol* 20 (1): 57-64.
- Wu M, Chen C, Lin J. 2005. Host-environment interactions: their impact on progression from gastric inflammation to carcinogenesis and on development of new approaches to prevent and treat gastric cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prevention* 14: 1878-1882.
- Yantiss RK, Odze RD. 2008. Neoplastic precursor lesions of the upper gastrointestinal tract. *Diagnostic Histopathol* 14(9): 437-452.
- Yu M, Jones ML, Gong M, Sinha R, Schut HAJ, Synderwine EG, 2002. Mutagenicity of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b] pyridine (PhIp) in the mammary gland of *Big Blue* rats on high and low fat diets, *Carcinogenesis* 23 (5): 877-884.
- Ziu MM, Giasuddin ASM, Mohammad AR. 1994. The Effect of Garlic Oil (*Allium sativum*) on DMBA Induced Salivary Gland Tumorigenesis. *J Islamic Acad Sci* 7(3); 3-6.