

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

MİTOKSANTRON VE İDARUBİSİN
KARDİYOTOKSİSİTESİNİ ÖNLEMEDE
AMİFOSTİNİN ETKİNLİĞİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Atanur Mete KALAK

TEZ YÖNETİCİSİ
Doç. Dr. Gürhan KADIKÖYLÜ

AYDIN-2006

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
I- GİRİŞ ve AMAÇ	4
II- GENEL BİLGİLER	7
III- GEREÇ VE YÖNTEM	26
IV- BULGULAR	31
V - TARTIŞMA	38
VI- SONUÇLAR	45
VII- ÖZET	46
VIII- KAYNAKLAR	48

İç Hastalıkları uzmanlık tezi çalışmaları süresince çok büyük katkıları ve destekleri olan Doç.Dr. Gürhan KADIKÖYLÜ, Prof.Dr.A. Zahit BOLAMAN'a ayrıca tüm İç Hastalıkları uzmanlık eğitimim boyunca üzerimde büyük emekleri bulunan değerli ve saygıdeğer hocalarımdan başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof.Dr. Taşkın ŞENTÜRK olmak üzere, Prof.Dr. Ali Önder KARAOĞLU, Prof.Dr. Hadi YAŞA, Doç.Dr. Hulki Meltem SÖNMEZ, Doç.Dr. Engin GÜNEY, Doç.Dr. Sabri BARUTCA, Doç.Dr. Harun AKAR, Doç.Dr. Yavuz YENİÇERİOĞLU, Doç.Dr. Vahit YÜKSELEN, Yrd.Doç.Dr. Nezih MEYDAN, Yrd.Doç.Dr. Oğuz GÜRLER'e teşekkürü bir borç bilirim.

Bununla birlikte tez çalışmaları esnasında yardımlarını esirgemeyen öncelikle Veterinerlik Fakültesi Fizyoloji Bölümü'nden Doç.Dr. Muharrem BALKAYA ve Yrd.Doç.Dr. Hümeysra ÜNSAL'a, Patoloji Anabilim Dalı'ndan Yrd.Doç.Dr. İbrahim METEOĞLU'na, Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Doç.Dr. Çiğdem YENİSEY'e, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Doç.Dr. Süleyman DEMİR ve Yrd.Doç.Dr. Hülya AYBEK'e teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Atanur Mete Kalak

Aydın, 2006

GİRİŞ ve AMAÇ (1)

Antrasiklinler, akut lösemi ve lenfoma gibi hematolojik maligniteler yanı sıra meme, akciğer, tiroid ve over kanserleri ile osteosarkom ve yumuşak doku sarkomu gibi solid tümörlere karşı da etkili antineoplastik ilaçlardır (1-3). İlk antrasiklinler streptomyces peucetius'dan üretilen daunorubisin ve doksorubisindir. Sentetik antrasiklinler ise epirubisin, zorubisin, esorubisin, aklarubisin, idarubisin, pirarubisin ve mitoksantrondur (1).

Antrasiklinler sitotoksik etkilerini; DNA baz çiftleri arasında interkalasyon yaparak, makromolekül sentezini bozarak, DNA topoizomera II enzimini bloke ederek, DNA'ya çapraz bağlanarak ve apoptoz indüksiyonu yaparak göstermektedirler (4,5). Antrasiklinler elektron alıcılarıdır. Flavoenzimlerin varlığında serbest oksijen radikallerinin oluşumuna neden olurlar (6-8). Serbest oksijen radikalleri ise mitokondride ve plazma membran lipidlerinde oksidatif hasara neden olurlar (9,10).

Antrasiklinler kullanımı sırasında bulantı, kusma, stomatit, mukozit, diyare, konstipasyon, karın ağrısı gibi gastrointestinal yan etkiler gözlenebilir. Karaciğer ve renal işlevlerde bozulma, kas güçsüzlüğü, hiperpigmentasyon, selülit, ülserasyon, ilaç ekstrevasasyonu sonucu endurasyon, pulmoner toksisite, konjunktivit, pruritus, alopesi, flebit, letarji, baş ağrısı ve konvülsyon gibi nörolojik bulgular ortaya çıkabilir (11). Antrasiklinlerin en önemli yan etkileri ise kardiyotoksisite ve miyelosupresyondur (2). Bu yan etkiler nedeniyle hem ilacın total dozu sınırlandırılmakta hem de terapötik potansiyeli azalmaktadır (1).

Son yıllarda yapılan klinik çalışmalarda antrasiklinlere bağlı kardiyomiyopati sıklığında artış saptanmıştır (2-4). Bu artış kullanılan kardiyolojik tanı yöntemlerinin gelişmesine, antrasiklinlerin daha yüksek dozlarda kullanılmasına, sınırlı kardiyoproteksiyona ve maligniteli hastaların yaşam süresindeki uzamayla ilişkili olabilir (3,4).

Antrasiklinlere bağlı kardiyotoksisitenin patogeneğinde miyokardiyal adrenerjik dengesizlik, oksijen radikallerinin oluşumu, intrasellüler kalsiyum artışı ve tümör nekrozis faktör (TNF- α), interlökin-2 (İL-2) gibi kardiyotoksik sitokinlerin salınımı rol oynamaktadır (12-15). Ratlarla yapılan deneysel çalışmalarda antrasiklinlerin yol açtığı akut kardiyotoksisitenin genellikle ilk bir haftada ortaya çıktığı görülmüştür (16-18). Deneysel çalışmalar antrasiklinlerin yol açtığı kardiyotoksistide reaktif oksijen radikallerinin rolü olduğunu göstermiştir. Qinonların enzimatik indirgenmesi sonrasında demir-antrasiklin kompleksi redoks siklusuna girerek süperoksit anyonu, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit gibi yüksek reaktif metabolitlerin oluşumuna neden olur. Dokular için toksik olan bu radikaller lipid, protein ve nükleik asitlerle tepkimeye girerek lipid peroksidasyonuna, sülfidril

içeren peptidlerde azalmaya ve DNA hasarına yol açmaktadırlar. Sonuç olarak kalp dokusunda malondialdehid (MDA), etan ve disülfid oluşumuna neden olmaktadır (6,8,18,19). Miyozitlerde serbest oksijen radikallerinden koruyucu olan katalaz, süperoksid dismutaz (SOD), glutatyon, glutatyon transferaz ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzimler mevcuttur. Serbest oksijen radikallerinin bu koruyucu enzimler üzerinde direkt olarak zedeleyici etkileri de bulunmaktadır (6,8,13,20-23).

Yapılan çalışmalarda idarubisinin karditoksisite olasılığı kümülatif 150 mg/m² üzerindeki dozlarda %5'tir (19). Mitoksantron kümülatif olarak 20 mg/m² üzerindeki dozlarda ejeksiyon fraksiyonunu azaltırken 40 mg/m² üzerinde kardiyotoksisiteye ve 100 mg/m² üzerindeki dozlarda da kalp yetersizliğine yol açabilmektedir (12,24,25).

Akut kardiyotoksisitede klinik olarak hipotansiyon, taşikardi, aritmiler, perikardit görülebilir. Kronik kardiyotoksisite ciddi seyirli olup sol ventrikül sistolik disfonksiyonuna ve konjestif kalp yetmezliğine neden olabilir (14).

Son yıllarda antrasiklinlerin terapötik indekslerini arttırmaya yönelik girişimler yapılmaktadır. Temel olarak kardiyotoksisitenin engellenmesi ve antineoplastik aktivitenin korunması hedeflenmektedir. Bu amaçla birçok strateji öne sürülmüştür ve bir kısmı halen klinik uygulamada kullanılmaktadır. Bunların arasında daha düşük yan etki profiline sahip antrasiklin analogları kullanmak, ilaçların verilme yöntemlerini değiştirmek, hastanın bazaldeki kardiyak fonksiyon ve yapıları değerlendirilerek hastaya özel doz belirlemek ve farmakolojik kardiyoproteksiyon gösterilebilir. Antrasiklinlere bağlı kardiyotoksisiteyi önlemek için bugüne kadar değişik ajanlar kullanılmıştır. Serbest oksijen radikallerini inhibe eden dexrazoxan, E ve C vitaminleri, koenzim Q-10, N-asetilsistein, karnitin, antihistaminikler, beta ve kalsiyum kanal blokerleri üzerinde çalışılmalar yapılmıştır. Özellikle deksrazoksan ile ilgili yapılan randomize çalışmalarda doksorubisin, mitoksantron ve epirubisin alan hastalarda yarar saptanmış ancak günümüzde yaygın klinik kullanım bulmamıştır (1,26,27).

İnorganik tiyofosfat olan amifostin (WR-2721) sitoprotektif bir ilaçtır (28,29). Çeşitli çalışmalarda amifostinin tümör dokusunu etkilemeden normal dokuları terapötik radyasyonun toksik etkilerinden koruduğu kanıtlanmıştır (29,30). Amifostinin alkilleyici ajanlar ve sisplatinin toksik etkilerine karşı kemoprotektif özelliği de vardır. Yapılan preklinik ve klinik çalışmalar sonucu, Food and Drug Association (FDA) 1995 yılında siklofosamid ve sisplatin tedavisi alan ileri over kanserli hastalarda amifostinin kullanımına onay vermiştir (31,32).

Bir ön ilaç olan amifostin dokuda membrana bağlı alkalin fosfataz enzimi ile defosforile edilerek farmakolojik olarak aktif ve amifostinin major sitoprotektif metaboliti olan serbest tiyol metaboliti (WR-1065) açığa çıkmaktadır (29). Amifostinin diğer metabolitleri

simetrik disülfid (WR-33278), sistiamin, L-sistein, L-glutation içeren miks disülfidler ve tiyol içeren proteinlerdir (33). Serbest tiyol içinde bulunduğu dokuyu sitotoksik etkilerinden çeşitli mekanizmalarla korumaktadır (28). Bunlar serbest tiyolün alkilleyici veya platinyum ajanların aktif ürünlerine direk bağlanarak detoksifiye etmesi ve serbest oksijen radikallerini temizlemesidir (20,33). Birkaç deneysel ve klinik çalışmada antrasiklinlerin yol açtığı kardiyotoksisiteden korumada serbest oksijen radikallerini ve lipid peroksidasyonunu azaltarak etkili olabileceği gösterilmiştir (34–37). Birçok modelde amifostinin kemik iliği, periferik sinir, kalp ve böbrek gibi dokuları koruyucu olduğu saptanmıştır (29).

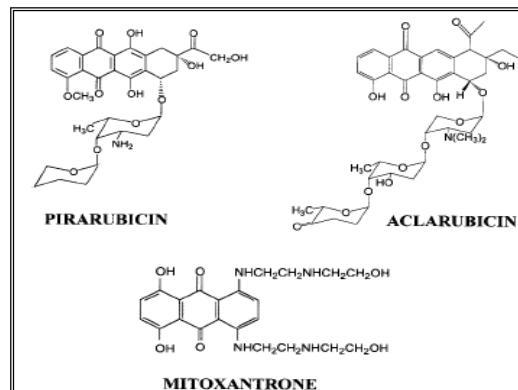
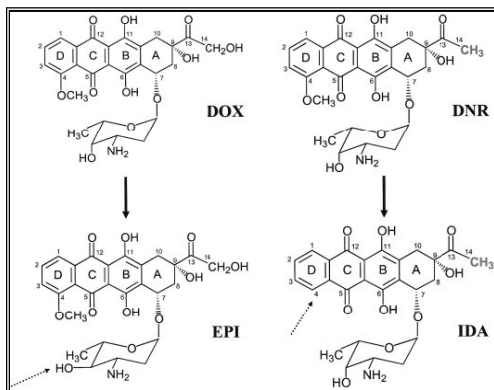
Bu tezdeki amacımız; ratlarda idarubisin ve mitoksantronun yol açtığı akut kardiyotoksisite patogeneğinde lipid peroksidasyonu, serbest oksijen radikal metabolizması ve koruyucu enzimlerin rolleri ve olası kardiyotoksisiteyi önlemede amifostinin etkinliği hem biyokimyasal hem de histopatolojik olarak araştırmaktır.

GENEL BİLGİLER (II)

Antrasiklinler pigment üreten *Streptomyces pecetuis*'den izole edilen en etkili antineoplastiklerdendir. 1958 yılında ilk olarak doksorubisin ve daunorubisin izole edilmiştir (38). Son 20 yılda doksorubisin ve daunorubisinden daha etkin ve yan etkileri daha düşük olan 2000'e yakın analog geliştirilmiştir. Ancak günümüzde çok azı klinik kullanıma girmiştir. Bunların arasında epirubisin ile idarubisin, doksorubisin ve daunorubisinin kullanışlı alternatifleridir.

Epirubisin, doksurubisinin yapısı içerisindeki daunozaaminin 4 no'lu karbon atomuna bağlı hidroksil grubunun epimerizasyonu sonucu elde edilmiş semisentetik bir derivativesidir. Yapısal farkları nedeni ile farmakokinetik ve metabolik değişiklikler göstermektedir. Bu nedenle yan etkilerinde artış olmaksızın doksorubisinden 2 kat daha yüksek dozlarda kullanılabilir (39).

İdarubisin ise daunorubisinden elde edilen analog moleküldür (Şekil.1). Özellikle akut miyeloblastik lösemi (AML), multipl miyelom (MM), Non-Hodgkin lenfoma (NHL) ve meme kanserinde etkilidir (16). Lipofilitesinin yüksek ve hücre alımının fazlalığına bağlı olarak daunorubisinden daha geniş spektrumludur. Ek olarak %10-30 biyoyararlanım nedeni ile oral olarak da kullanılabilir (40). Çoklu ilaç direnci fenotipi taşıyan tümör hücrelerinde daunorubisinden daha etkin olduğunu gösteren invitro çalışmalar mevcuttur (41). Kardiyotoksisite açısından idarubisinin doksorubisinden daha avantajlı olduğu yönünde yayınlar mevcuttur. Tofolli ve arkadaşlarının yaptığı klinik çalışmada idarubisin verilen hastalarda daha önceden doksorubisin ve epirubisin almış olsalar bile kardiyotoksisitede artış saptanmamıştır (16,40). Bunların yanı sıra pirarubisin, aklarubisin ve mitoksantron gibi antrasiklinler de kliniklerde kullanılmaktadır (Şekil.2).



Mitoksantron, meme kanseri, akut lösemiler ve hormon bağımsız prostat kanserlerinde etkili bir antrasiklindir. Son olarak da kötüleşen relapsing-remitting ve sekonder progresif multiple sklerozda FDA onayı almıştır (42). Pirarubisinin deneysel çalışmalarda doksorubisinden daha az kardiyotoksisiteye neden olduğu saptanmıştır (43). Ancak metastatik meme kanseri olguları üzerine yapılan bir çalışmada sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunda düşüşe neden olduğu gösterilmiştir (44). NHL'lı yaşlı hastalarda 360mg/m² kümülatif dozda ciddi kardiyak disfonksiyon yaptığı bildirilmiştir (45). Bazı çalışmalarda aklarubisin, AML'li erişkinlerde etkili bulunmuştur (46).

MİTOKSANTRON

Farmakodinamik özellikler

Mitoksantron, DNA zincirini kırmak, DNA'ya eklenmek, DNA sentezini inhibe etmek, DNA agregasyonuna yol açmak ve hücre siklusunu geciktirmek yoluyla etki göstermektedir. İn vitro antitümör aktivitesi yoğunlaşma ve maruz kalınan süreye bağlı olarak ve diğer antineoplastik ilaçlarla gösterdikleri sinerji ile değişmektedir. Mitoksantron doz ve zaman ile orantılı olarak hücre siklus ilerlemesinde gecikmeye neden olmaktadır. En çok hücre siklusunun geç S fazına sitotoksiktir ancak hücre siklusuna özgül değildir (47).

Mitoksantron, DNA cleavable kompleks topoizomerazı stabilize ederek ve serbest radikaller oluşturarak DNA üzerinde kırıklar oluşturur. Aynı zamanda elektrostatik çapraz bağlanma ile DNA agregasyonu yapar. Mitoksantronun siklik deriveleri DNA'ya kovalent olarak bağlanır ve bu da sitotoksik olabilir (48). Tümör hücrelerinde P-glikoprotein ekspresyonunun artışı sonucunda mitoksantrona direnç olabilir. Bunun yanında topoizomeraz II aktivitesindeki ya da seviyesindeki değişiklik, DNA onarım mekanizmalarının geliştirilmesi ile mitoksantrona tümör hücre direnci gelişebilir. Mitoksantronun immünsupresif, antiviral ve potansiyel antiangiogenik aktiviteleri de farmakodinamik çalışmalar ile gösterilmiştir (49,50).

Farmakokinetik özellikler

İntravenöz uygulanma sonrasında ilacın plazmadan temizlenmesi trifazik kinetik ile olmaktadır. Yarı ömrü 3-10 dk'dan 12 güne kadar uzayabilmektedir (51). Mitoksantron geniş ölçüde vücut dokularına dağılır. Endotelial yüzeylere bağlanarak kan ve tümör hücreleri içine girer (52). 2248 L/m² ye kadar dağılım hacmine sahiptir ve yaklaşık olarak %78 oranında plazma proteinlerine bağlanır (53). Mitoksantron safra ile atılır iken 24 ila 120 saat arasında uygulanan dozun yaklaşık %10'u idrarda saptanır. Bu nedenle böbrek yetersizliği olan hastalarda doz azaltmak gerekmemektedir (54). Yine de hepatik yetmezlikli hastalarda ya da

assid gibi 3. boşluk anormalliklerinde mitoksantronun eliminasyonu uzayabileceğinden doz azaltımı gerekebilir. Mitoksantronun intraperitoneal ve plevral gibi bölgesel uygulanması lokal yüksek konsantrasyona neden olur ki bunun nedeni bu boşluklardan ilacın klirens hızının yavaş olmasıdır (55).

Terapötik etkinlik

Mitoksantron ileri evre meme kanserinde, NHL, AML ve kronik miyelositik löseminin blastik fazında remisyon indüksiyon ve salvage tedavilerinde etkin olarak kullanılmaktadır (56-58). 1996 yılında FDA tarafından semptomatik hormon tedavisine refrakter prostat kanseri, 2000 yılında da kötüleşen relapsing-remitting multiple skleroz tedavisi için onaylanmıştır (59). Mitoksantron remisyon-indüksiyon kemoterapisinde sitarabin ile kombinasyonu hematolojik malignitelerde en az diğer antrasiklinler kadar etkili olup daha iyi tolere edilmektedir (60,61). Mitoksantron aynı zamanda hepatik veya ilerlemiş over kanserli hastalarda palyatif tedavide kullanılmıştır (62,63). Hepatik karsinomanın intraarteryel ve over kanserinin intraperitoneal tedavisinde başarılı olduğu görülmüştür (64,65). Refrakter ve relaps MM'da mitoksantron, deksametazon ve fludarabin kombinasyonu etkin olabilmektedir (66).

Yan etkiler

Kardiyotoksisite en önemli yan etkilerinden birisi olup kendini çoğunlukla konjestif kalp yetmezliği şeklinde göstermektedir (67). Kombine ya da monoterapi uygulamalarda mitoksantronun tolerabilitesi şiddetli bulantı, kusma, stomatit, alopesi ve kardiyotoksisite dikkate alındığında doksorubisin gibi antrasiklinlerden genellikle daha iyidir (68,69). Mitoksantron doksorubisin ve diğer antrasiklinlere göre daha iyi tolere edilse de miyelosupresyon daha sıktır. Lökopeni ve nötropeni solid tümörlü hastalarda özellikle düşük performanslı ve hepatik disfonksiyonlu hastalarda doz sınırlayıcı olabilmektedir. Tek doz kullanımı sonrasında lökopeni 10-14. günlerde meydana gelir ve genellikle düzelme 21 günü bulmaktadır. Nadiren trombositopeni ve ılımlı anemi görülebilir (69,70). Stomatit lösemili hastalarda doz kısıtlayıcı olabilmektedir. Hastaların yaklaşık %30'unda alopesi, %60'ında bulantı ve kusma meydana gelebilir ancak hafif seyreder (56). Diğer nadir görülen yan etkiler kas güçsüzlüğü, hiperpigmentasyon, sellülit, ülserasyon, ekstremitasyon sonrası endurasyon, hipomagnezemi, hipokalsemi, alerjik reaksiyonlar ve amenoredir (71-76).

Doz ve uygulama

Mitoksantron intravenöz olarak solid tümörlü hastalarda her 3 haftada bir 14 mg/m² uygulanabilirken, kemik iliği rezervi azalmış, düşük performans skorlu ya da kombinasyon kemoterapi rejimleri verilen hastalarda 2-4 mg/m² doz azaltılması önerilmektedir. Eğer miyelosupresyon meydana gelmiş ise hematolojik düzelme olana kadar verilmemeli ve bu

etkinin süresi ve ciddiyetine göre takip eden dozlarda doz ayarlaması yapılmalıdır. Lösemili hastalarda intravenöz sitarabin ile kombine olarak 3 gün süre ile 10-12 mg/m²/gün dozunda önerilmektedir. Tüm hastalarda kardiyak monitörizasyon yapılmalıdır (77).

Kardiyotoksisite

Mitoksantron alanlarda akut ve gecikmiş kardiyak yan etkiler meydana gelebilmektedir. Özellikle önceden antrasiklin kullanılan, mediastinal radyasyona maruz kalan veya daha önceden kardiyovasküler hastalığı olanlarda bu etki daha belirgindir. Kalp yetmezliğinin insidansı önceden antrasiklin almamış olanlarda kümülatif olarak 150mg/m², almış olanlarda ise 100mg/m² den sonra hızla artmaktadır (78). Yine de önceki antrasiklin dozuna bağlı olarak çok düşük kümülatif dozlarda da konjestif kalp yetmezliği meydana gelebilmektedir (79). Bu hastaların endomiyokardiyal biyopsilerinde değişken oranlarda antrasiklin toksisitesinin tipik sitoplazmik vakuolizasyonları ve mitokondriyal şişmesi gözlenmiştir (78). Kalp yetmezliği gelişen hastaların çoğu kardiyak glikozid ve diüretiklere yanıt vermektedir (69). Mitoksantronun kesilmesi üzerine klinik kardiyak yetmezlik düzelebilmektedir (80). Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyon (LVEF) unda azalma mitoksantronun kümülatif olarak 21mg/m² veya daha yüksek dozda verilmesinden sonra gözlenmiştir (81). Mitoksantrona bağlı aritmiler ve miyokard infarktüsü meydana gelebilir. Geçici elektrofizyolojik anormallikler EKG değişiklikleri olarak hastaların %20-30'unda görülebilir. Bunlar genellikle nonspesifik ST segmenti ve T dalgası değişiklikleri, QRS voltajında azalma ve QT aralığında uzamadır. Ancak ciddi aritmiler nadir görülür (67). Kardiyak yan etkilerin meydana gelmesi erişkinlerde %3 iken çocuklarda %6'dır. Klinik olarak kalp yetmezliği insidansı %1.3'tür (82). Bu insidans ise doksorubisinde %2.2'tir (83). Kardiyak aritmiler ve azalmış LVEF diğer antrasiklinler ile tedavide mitoksantrondan daha siktir (56,84). Karşılaştırılabilir kümülatif dozlar alan hastalarda konjestif kalp yetmezliği doksorubisin alanlarda mitoksantron ile kıyaslandığında daha fazladır (78).

İDARUBİSİN

Farmakodinamik özellikler

İdarubisinin diğer antrasiklinlerden farklı olarak 4. pozisyonundaki metoksil grubunun olmaması nedeniyle hücresel alım hızı ve lipofilitesi fazladır. İdarubisin kanser hücreleri üzerine daunorubisinden 5-6 kat daha sitotoksik iken daha az kardiyotoksiktir (85). İnsan kanser hücre kültürlerinde doksorubisin ve daunorubisinden daha etkin bulunmuştur. Primer metaboliti idarubisinol (4-demethoxy-daunorubicinol) in vitro olarak idarubisine benzerlik ve

doksorubisinden daha kuvvetli antitümör etkinlik göstermektedir. İntravenöz ve oral uygulandığında in vivo deneysel lösemi modellerinde daunorubisine eşdeğer etkinliği saptanmıştır (86). Kardiyotoksisiteye yol açan kümülatif dozu daunorubisin ve doksorubisinden daha yüksektir (85). İdarubisinin etki mekanizması diğer antrasiklinlere benzemektedir. Siklik redoks reaksiyonları ile hücre içi serbest oksijen radikalleri meydana getirerek hücre lipid membranında, mitokondride ve endoplazmik retikulumda oksidatif hasar oluşturur ve hücre siklusunun G2 fazında hücreleri durdurur. DNA'ya bağlanarak nükleik asid sentezini bozar. DNA topoizomera II enzimini inhibe ederek DNA sarmalında kırıklara neden olur. İdarubisinin bu etkinliği daunorubisin ve doksorubisinden daha fazladır (87,88). Daunorubisin ile karşılaştırıldığında in vitro olarak insan polimorf-nükleer lökosit süperoksit radikal oluşumu daha azdır (89).

Deneysel çalışmalarda daunorubisin ve doksorubisin ile karşılaştırıldığında idarubisinin kardiyotoksisitesinin daha az olduğu görülmüştür (90).

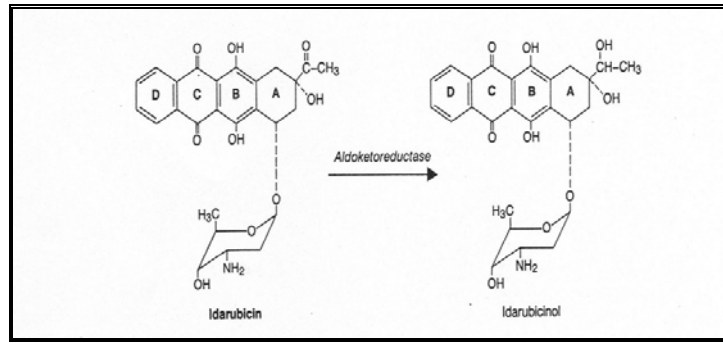
Farmakokinetik özellikler

İdarubisinin farmakokinetik özellikleri oral ve intravenöz uygulamayı takiben akut lösemili ve solid tümörlü hastalarda araştırılmıştır. Oral idarubisinin biyoyararlanımı yaklaşık olarak %30'dur. İdarubisin karaciğer tarafından hızla, saptanabilen tek metaboliti olan idarubisinole çevrilir. İntravenöz idarubisin daha yüksek konsantrasyonlara ulaşmaktadır. Bunun nedeni karaciğerdeki ilk geçiş metabolizasyonudur. İntravenöz uygulamayı takiben ilk faz yarı ömrü 9-30dk, ara faz 2-27 saat ve eliminasyon fazı 36-73 saat arasındadır (91). İdarubisinin 3 günden fazla verilmesi metabolit birikimine ve idarubisini aşan idarubisinol plazma konsantrasyonuna neden olur (92). İdarubisinin ardı ardına hızlı infüzyon şeklinde verilmesi idarubisinin plazma konsantrasyonlarında geniş dalgalanmalara yol açarken bölünmüş küçük dozlarda verilmesi ilaç birikimine neden olmamaktadır (93). İdarubisin 10mg/m² olarak 24 saat sürekli 3 gün arka arkaya uygulandığında pik plazma konsantrasyonu yaklaşık 6µg/L'dir ve bolus injeksiyonu takiben elde edilen konsantrasyondan 10 kat daha azdır. İdarubisinin dağılım hacmi geniştir (1889 L/m²). Konsantrasyondan bağımsız plazma proteinlerine bağlanma oranı idarubisin ve idarubisinol için sırasıyla %97 ve %94'dür. Lösemili hastalarda idarubisin injeksiyonundan birkaç dakika sonra çekirdekli hücreler ve kemik iliği hücrelerinde pik konsantrasyona ulaşır. İdarubisin ve idarubisinolun konsantrasyonu bu hücrelerde plazmadakinden 100 kat fazladır (94).

İdarubisini aldoketoredüktaz enzimi idarubisinole dönüştürür (Şekil.3). Ekstravasküler dağılımı oldukça geniştir. İntravenöz 10-12.5mg/m² veya oral 5-60mg/m² idarubisin dozlarını takiben idarubisinin ortalama plazma eliminasyon yarı ömrü 6-35 saat iken idarubisinol için

8-73 saat arasındadır (95). İdarubisin ve idarubisinolün dokulardan eliminasyon yarı ömrü sırasıyla 15 ve 72 saattir. Toplam vücut klirens hızı idarubisin için 30 ile 122 L/m²/saat'dir. İdarubisinin verilen dozunun %5 inden daha azı 24-96 saat arasında idarubisin ya da metabolitleri olarak idrarda gözlenmiştir. İntravenöz idarubisin uygulama sonrasında idrardaki idarubisinolün idarubisine oranı 3:1 iken oral uygulama sonrasında bu oran 6:1'dir (96). İdarubisinin hepatik yetmezlikli hastalarda farmakokinetik özellikleri tam olarak değerlendirilmemekle birlikte orta ya da ciddi derecede karaciğer disfonksiyonu olan hastalarda idarubisinin metabolizmasını etkileyebilir. Üriner ekskresyon idarubisinin minör eliminasyon yolu olduğu için renal disfonksiyonlu hastalarda farmakokinetiği etkilenmemektedir (86).

Şekil.3: İdarubisinin aktif metaboliti idarubisinole metabolizması



Terapötik Etkinlik

AML'li hastaların %50-75'inde sitarabin ile daunorubisin, idarubisin veya mitoksantron gibi bir antrasiklin kombinasyonu ile komplet remisyon elde edilmektedir. Hastaların sadece %20-30'unda uzun süre hastalıksız yaşam elde edilmektedir. Hastaların büyük çoğunluğu refrakter veya relaps nedeniyle kaybedilmektedir (97). Refrakter ve relaps AML'li hastalarda FLAG (fludarabin, sitarabin ve granülosit koloni uyarıcı faktör) kombinasyonu kullanılmaktadır. Son yıllarda bu protokole idarubisin eklenerek tedavinin etkinliğini arttırılmıştır (98). Yakın zamanda refrakter-relaps akut lösemili hastalarda yapılan bir çalışmada İDA-FLAG verilen AML hastalarının %54'ünde komplet remisyon, %4'ünde parsiyel remisyon sağlanırken, %42'si ise refrakter olmuştur. Akut lenfoblastik lösemili (ALL) hastalarda ise bu oranlar sırasıyla %42, %11 ve %47'dir. ALL'li relaps hastalarda primer refrakter hastalara göre daha yüksek fakat istatistiksel olarak anlamsız derecede komplet remisyon oranları elde edilmiştir. İDA-FLAG rejiminin FLAG rejimine göre daha düşük toksisite profili ve az da olsa daha yüksek etkinlik nedeni ile refrakter, relaps hastalıklarda efektif olarak kullanılabilir. Aynı zamanda bu hastalarda allojenik kök hücre transplantasyonuna hazırlık safhasında da kullanılabilir (99).

NHL ve refrakter Hodgkin hastalarında intravenöz idarubisin başarı ile kullanılmaktadır. Bu hastalara verilen salvage tedavisinde DHAP (deksametazon, sitarabin, sisplatin), ESHAP (etoposid, metilprednizolon, sitarabin, sisplatin) ve ICE (ifosfamid, karboplatin, etoposid) gibi protokollere alternatif olarak IIVP (ifosfamid, idarubisin, etoposid) kullanılabilmektedir (100,101). Yapılan bir çalışmada daha önceden bir antrasiklin bazlı rejim alıp başarısız olunan Hodgkin ve NHL hastalarında %33 komplet, %43 parsiyel remisyon elde edilmiştir (102).

Oral idarubisin, ilerlemiş meme kanserli, özellikle yaşlı, daha önceden standart tedavi almış ve periferik damar yolu problemi olan hastalarda ikinci sıra veya palyatif tedavi olarak kullanılmıştır. Oral olarak 15mg/m² dozunda uygulama ile %0-36 arası yanıt oranları elde edilmiştir (103).

İdarubisin, MM hastalarında yüksek doz kemoterapiyi takiben yapılan otolog kök hücre nakli hastalarının yanıt oranlarını ve yaşam süresini arttırmıştır. Ancak hastaların birçoğunda relaps oluşmaktadır. Doz-yanıt ilişkisinden yola çıkılarak kemoterapi dozunu arttırmaya yönelik girişimler olmuştur (104). Değişik çalışmalarda idarubisin, MM tedavisinde efektif olarak kullanılmıştır (105,106).

Doz ve uygulama

AML'li hastalar için indüksiyon tedavisinde ideal kombinasyon, intravenöz olarak günlük 12 mg/m² 3 gün süre ile 10-15 dakikalık idarubisinin yavaş infüzyonu ile 100 mg/m² 7 gün devamlı sitarabin infüzyondur. Ciddi mukozit gelişen hastalarda idarubisin dozunun %25 azaltılması önerilmektedir. Yaşlı hastalarda 5 gün için 8 mg/m² ile 7 gün için 100 mg/m² kombinasyonu başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Doz azaltılması karaciğer bozukluğu olan hastalarda önerilmektedir ancak renal fonksiyon bozukluğu olanlarda gerekmemektedir. Tüm hastalarda tedavi esnasında kardiyak monitörizasyon önerilmektedir ve düzenli olarak kan sayımı ile hepatik ve renal fonksiyonların takibi gerçekleştirilmelidir. Kreatinin ve bilirübin değerlerinde önemli derecede yükselme saptandığında idarubisin dozu azaltılabilir. İdarubisinin potansiyel kardiyotoksik ilaç ya da diğer antrasiklerden yüksek doz almış olanlara, kalp hastalığı, önceden var olan kemik iliği süpresyonu olan hastalara uygulanmaması önerilmektedir (86).

Yan etkiler

Kombinasyon ya da monoterapi olarak intravenöz uygulanan idarubisinin bulantı, kusma, diyare, mukozit, myelosüpresyon ve enfeksiyonun şiddeti ve insidansı; daunorubisin ve doksorubisin ile görülenlere benzer olmakla birlikte enfeksiyon ve mukozit, daha sık ve şiddetlidir (86).

Kemik iliği

Miyelosüpresyon idarubisin tedavisi sırasında en sık ortaya çıkan yan etki olup genellikle kendini nötropeni şeklinde göstermektedir. Bu akut lösemili hastalarda beklenen ve istenen etkidir. Çalışmalarda remisyon indüksiyonu esnasındaki ölümlerin hemen tümü sepsis nedeniyledir. İdarubisin+sitarabin ile daunorubisin+sitarabin karşılaştırıldığında kemik iliği süpresyonuna bağlı sekonder kanama sıklığı sırasıyla %64 ve %63 ve ciddi kanama yüzdesi ise %15 ve %14'dür. İdarubisine bağlı miyelosüpresyon doz ile orantılıdır. Özellikle akut lösemili hastalarda kullanılan 20-45 mg/m² gibi yüksek dozlarda süpresyon daha belirgindir (107). İntravenöz olarak 18 mg/m² idarubisin lökopeni için doz sınırındır (108).

Gastrointestinal sistem toksisitesi

Amerika Birleşik Devletleri (A.B.D.)'nde yapılan 3 çalışmada idarubisin+sitarabin ya da daunorubisin+sitarabin alan AML li hastalarda meydana gelen bulantı ve kusma sıklığı %85 olup %4 ve %8 oranında ciddi derecede kusma görülmüştür. Bu çalışmalarda mukozit ve diyare insidansında fark görülmemiştir (86).

Kardiyotoksiste

ABD'de yapılan bu çalışmalarda idarubisin ve sitarabin kombinasyonu, daunorubisin ve sitarabin kombinasyonu ile karşılaştırıldığında ölüm oranları, LVEF'da farklılık bulunmamıştır. Bununla birlikte idarubisin ile tedavi edilen hastalarda klinik olarak önemli LVEF değişiklikleri daha az gözlenmiştir. (%11'e karşın %18). Kümülatif olarak 150 mg/m² idarubisin ve 600 mg/m² daunorubisin alan hastaların %1' karşın %3 ünde orta veya ciddi dereceli LVEF'da düşüş gözlenmiştir. Kardiyotoksistenin ciddi olarak arttığı kümülatif idarubisin dozu tam olarak belirlenemekle birlikte yapılan çalışmalarda idarubisinin karditoksiste olasılığı kümülatif 150 mg/m² üzerindeki dozlarda %5'dir (109). Reversible kalp yetersizliği, aritmiler, 60 yaş üstü ve önceden kardiyak hastalığı olanlarda daha sık görülür (86).

Diğer yan etkiler

İdarubisin+sitarabin ve daunorubisin+sitarabin alan hastalarda alopesi insidansı (%70) ile eşit bulunurken ciddi alopesi sırasıyla %40 ve %37 izlenir. WHO (World Health Organisation) Grade 3-4 hepatotoksiste ve nefrotoksiste sıklıkları da sırasıyla %1 ve %5 bulunmuştur. Ateş, nörotoksiste, anoreksi, el ve ayaklarda ortaya çıkabilen büllöz eritrodermatoz gibi nadir toksisiteler görülebilir (86).

ANTRASİKLİNLERE BAĞLI KARDİYOTOKSİSİTE

Antrasiklinlerin neden olduğu kardiyotoksisite ilacın uygulandığı her dönemde meydana gelebilir ve kendini akut, subakut, kronik ve geç başlangıçlı olarak gösterebilir. Klinikleri ve prognozları ise farklılık göstermektedir (12,110).

Akut kardiyotoksisite

Hastaların %0.4-41'inde meydana gelebilmektedir (12,110-112). Uygulama sırasında veya sonraki birkaç saat içinde aritmi görülebilir (113). Sıklıkla atipik repolarizasyon bozukluğu, QRS kompleksinde voltaj azalması, sinüs taşikardisi, ventriküler ve supraventriküler erken vurular, QT intervalinde uzama görülen bulgulardır (12,111,114). Supraventriküler, ventriküler ve junctional taşikardiler %0.5-3 sıklığında gözlenebilir (67). Nadiren atriyoventriküler ve dal blokları gözlenmiştir. Akut miyokardiyal iskemi ise çok nadirdir (1, 12,111). Genellikle klinik olarak sorun yaratmazlar. Aritmiler kemoterapi tamamlandıktan birkaç saat sonra, ST-T değişiklikleri ise birkaç hafta sonra kendiliğinden geriler (2,12,112).

Doksorubisine bağlı ani kardiyak ölüm %1'den azdır ve aritmiler ile ilişkilidir (112-115). Ölümcül komplikasyonlar genellikle hipopotasemi ve antrasiklinlerin ve/veya metabolitlerinin kalpteki uyarı ve iletim sistemi üzerindeki sinerjistik etkiye bağlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda akut semptomların sıklığı ve ciddiyeti total antrasiklin dozu ve veriliş yöntemi ile ilişkili bulunmamıştır (1,115). Akut kardiyotoksisite saptanması antrasiklin kullanımına bir kontrendikasyon olarak kabul edilmemektedir (1).

Subakut kardiyotoksisite

Nadir görülen bu tablo akut kardiyotoksisite ile karşılaştırıldığında oldukça siliktir. Antrasiklinlerin son dozundan birkaç gün veya hafta sonra görülür (1). En sık toksik perikardit ve hızlı gelişen sol ventrikül yetmezliği gözlenir. Nadiren de fatal seyirli perikardit-miyokardit sendromu rapor edilmiştir (1,12,112). Karşılaştırmalı çalışmalarda perikardit, daunorubisin alan hastalarda doksorubisin alan hastalardan daha siktir (112).

Kronik kardiyotoksisite

Kardiyomiyozitlerin, antrasiklinlere yineleyen maruziyeti sonucunda gelişmektedir. Hastaların %0.4-23'ünde gözlenmektedir. Kemoterapi uygulanmasını takiben birkaç hafta-ay sonra genellikle sol ventrikülün daha çok etkilendiği şiddetli konjestif kalp yetmezliği gelişir. EKG'de QRS voltajında azalma ve her iki ventrikülün yüklenme bulguları gözlenir (1,12). En yaygın semptomlar azalmış egzersiz toleransı, efor dispnesi, sağ ventrikül yetmezlik

semptomları, kardiyomegali ve ekokardiyografide azalmış LVEF'dur. Nadiren pulmoner ödem ve kardiyojenik şok ile ortaya çıkabilir (1,12,112).

Kardiyomiyopati, antrasiklinlere bağlı en ciddi komplikasyondur. Farmakolojik tedavinin çok az hastanın hayat kalitesini arttırdığı ve kalp yetmezliğinin komplikasyonlarını azalttığı gösterilmiştir. Hastaların %27-61'i kardiyotoksisite nedeniyle ölmektedir (1,12). Çocuklarda prognoz daha iyi iken ilk 4 haftada semptom gelişen hastalarda prognoz en kötüdür. Kümülatif olarak 550 mg/m^2 'nin altında doksorubisin alan hastalarda konjestif kalp yetmezliği riski %0.1-0.27 iken 550 mg/m^2 üzerinde bu oranlar %7, 1000 mg/m^2 üzerinde ise %50 olarak bulunmuştur (1,112). İrreversible konjestif kalp yetmezliği genellikle doksorubisin dozunun 550 mg/m^2 'dan fazla olduğu hastalarda gözlenmektedir. Bununla birlikte daha düşük doz alan hastalarda antrasikline bağlı nadir de olsa kardiyomiyopati gözlenmiştir (111,112).

Kardiyomiyopatiye predispozisyon yaratan faktörler;

- 1) Kümülatif doksorubisin dozunun 550 mg/m^2 üzerinde olması (12,111,112),
- 2) Yüksek dozların kısa sürede infüzyonunun ve tek seferde verilmesinin kardiyovasküler hasar riskini arttırması (113),
- 3) Daha önceden mediastinal radyasyon uygulanması (1,12,110),
- 4) Arteriyel hipertansiyon ve özellikle LVEF'da düşmeye yol açan diğer kalp hastalıklarının bulunması (111,112),
- 5) Hasta yaşının <15, >65 olması (112,113),
- 6) Miyokard hasarı yapan siklofosamid, aktinomisin D, mitomisin C, dakarbazin, bleomisin, etoposid, sisplatin, bisülfan, metotreksat, melfalan, ve vinkristin gibi antineoplastiklerin birlikte kullanılması (12,111-113),
- 7) Yetersiz beslenme (112),
- 8) Daha önceden antrasiklin kullanımı (3),
- 9) Diabetes mellitustur (12).

Geç kardiyotoksisite

Kemoterapi tamamlandıktan birkaç yıl sonra tanı koyulabilmektedir (1,112). Konjestif kalp yetmezliği, aritmiler ve ileti bozuklukları şeklinde ortaya çıkabilir (12,112). Daha önce antrasikline bağlı kalp yetmezliği tablosu gelişmiş hastalarda dekompanseasyon ya da relaps şeklinde gelişebilir (112,116). Aritmiler ve ileti bozuklukları nadiren asemptomatiktir (1). Genellikle 2.AV blok, ventriküler taşikardi, ventriküler fibrilasyon atakları izlenmektedir (1,12). Antrasiklin tedavisi bittikten bir yıl sonra hastaların %3'ünde ventriküler taşikardi görülür (116). Son 10 yıl içinde antrasiklin alan hastaların %5'inde konjestif kalp yetmezliği veya semptomatik aritmi geliştiği saptanmıştır (112). Steinhertz ve ark. tarafından yapılan

çalışmada ortalama 12 yıl önce antrasiklin tedavisi görmüş ve kardiyotoksisite gelişen hastaların yaklaşık yarısında semptomatik aritmi gözlenmiştir. Senkop, ani kardiyak ölüm ve internal kardiyoverter defibrilatör gereksinimi gösteren ventriküler taşiaritmiler saptanmıştır (117). Evans ve ark. tarafından yapılan araştırmada daha önceden antrasiklin tedavisi alan 14 asemptomatik hastaya ekokardiyografi ve ambulator elektrokardiyografi uygulanmış. Dört hastada ventriküler taşikardi, 5 hastada ise supraventriküler taşikardi atağı saptanmıştır (118).

Geç komplikasyonlar subklinik sistolik veya diastolik disfonksiyon şeklinde görülebileceği gibi ventrikül duvarlarında incelleme şeklinde de gözlenebilir. Steinhertz ve ark. tarafından yapılan başka bir araştırmada en az 10 yıl önce antrasiklin kemoterapisi alan hastalarda düşük LVEF oranı %38 iken son 10 yıl içinde almayanlarda bu oran %18 bulunmuştur (110). İzlem süresi uzadıkça geç kardiyotoksisiteye bağlı anormalliklerin sıklığı ve ciddiyeti artmaktadır (1,12,110). Geç komplikasyonlar, gelişme çağında kemoterapi alan hastalarda gözlenir (110). Kadınlarda erkeklere göre daha sıktır. Risk, tek seferlik ve yüksek doz alanlarda ve mediastinal radyasyon uygulananlarda daha yüksektir (110,116).

Kardiyotoksisite patogenezi

Antrasiklinlere bağlı gelişen aritmilerin iki olası mekanizmayla ortaya çıktığı düşünülmektedir.

- 1) Antrasiklinlerin ve metabolitlerin miyokard üzerindeki direkt toksik etkileri (1,111)
- 2) Artan ketokolamin ve histamin salgısına bağlı indirekt etki, serbest oksijen radikali oluşumu, potasyum, sodyum ve kalsiyum iyonlarının bozulmuş membran transportu (1,111)

Antrasikline bağlı kronik kardiyomiyopatinin patogenezi tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Gözlenen çok değişik mikroskopik bulgular multifaktöryel bir etyolojiyi düşündürmektedir. En önemli neden olarak kardiyomiyozitlerin serbest radikallerce hasarlanması gösterilmektedir (111,119). Doksorubisin daha sonra oksijen tarafından primer quinona dönüştürülen semi-quinona indirgenmektedir. Böylelikle hidrojen peroksit oluşmaktadır. Antrasiklin kardiyotoksisitesinin en önemli mediatörü olan hidroksit radikalleri oluşmaktadır. Bu radikaller, hücre membranındaki lipidlerin oksidasyonundan, mitokondriyal solunum zincirindeki hasarlardan, DNA hasarlarından, sülfidril içeren enzimlerin disfonksiyonundan sorumludurlar (1,119). Trivalan demir iyonları ile antrasiklin moleküllerinin oluşturduğu kompleksler miyokard hasarında anahtar rol oynamaktadır. Bu bileşikler hidroksit radikali oluşumunda katalizör görevi görmektedirler ve direkt olarak DNA hasarı ve hücresel membran hasarına yol açarlar (1). Miyozitlerde serbest radikalleri temizleyen ve serbest

radikallerin oluşturduğu hasarı tersine çeviren üç farklı enzim sistemi vardır. Bunlar; katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon transferazdır (21). Ancak memeli miyokard dokusunda, böbrek ve karaciğer gibi diğer dokularla karşılaştırıldığında bu enzim sistemleri daha az bulunmaktadır (14). Kardiyomiyozitlerde düşük katalaz ve süperoksid dismutaz seviyesi mevcuttur. Buna bağlı olarak serbest radikallerin etkisine daha duyarlıdırlar. Antrasiklin tedavisi sırasında glutatyon peroksidazın azaldığı ve glutatyonun arttığı bulunmuştur bu da serbest radikallerin zararlı etkisini arttırmaktadır (1). Antrasiklinler miyokarddaki kontraktıl proteinlerin sentezini etkileyen genlerin ekspresyonunu azaltabilmektedir (120). Kalsiyum pompasının aktivitesinin azalması ve intrasellüler proteaz aktivitesinin artışı miyozit içersinde artan kalsiyum iyonu konsantrasyonuna neden olabilir (1,111). Adrenerjik nöron disfonksiyonu, vazoaktif aminlerin artışı, topoizomeraz II aktivitesinin inhibisyonu, sitostatik aktivite sonucu TNF- α ve İL-2 gibi kardiyotoksik sitokinlerin artışı da kardiyotoksisite patogenezinde ortaya sürülen diğer mekanizmalardır (1,12,121).

Geç kardiyotoksisitenin patogenezi bilinmemektedir. Çocuklarda gelişen uzun dönem antrasiklin kardiyotoksisitesinde sol ventrikül duvarının kalınlığının azalması, miyokard kitlesinin azalması ve azalmış ventrikül kompliyansı gözlenmiştir. Antrasiklin kullanımı miyokardiyal gelişiminin bozulması ve kardiyomiyozit kaybına bağlı olarak hemodinamik kalp rezervini tüketmektedir (110,116). Yaşla birlikte artan kardiyak afterload, azalan kompansatuvar rezerv nedeni ile semptomların ortaya çıkmasına neden olur. Kardiyovasküler sistemin bazı nedenler ile yüklenmesi kardiyomiyopatinin yıllar sonra semptomatik hale gelmesine sebep olabilir. Bunlar: sıvı yüklenmesi, hamilelik, kilo alımı, yaralanmalar, cerrahi, genel anestezi, aşırı alkol alımı, kokain kullanımı, hipoproteinemi, anemi, enfeksiyonlardır (12,112).

Sitoprotektif ilaçlar

Doksorubisine bağlı kardiyotoksisitenin patogenezinde serbest radikal ve antioksidan enzimlerin rol oynadığına ait bulguların saptanması antioksidan ilaçları gündeme getirmiştir (1). Bugüne kadar birçok ilaç bu amaçla denenmiştir. Temel olarak sülfidril bazlı sitoprotektanlar ve demir şelatörleri olmak üzere iki ayrı gruba ayırabilir.

A-Sülfidril bazlı sitoprotektanlar: : Bu gruptaki ilaçların en önemlisi N-asetil sisteindir (NAC). Yapılan bir çalışmada 2gr/kg NAC verilmesi 20mg/kg doksorubisin alan farelerde mortaliteyi %100'den %38'e düşürmüştür. Daha düşük NAC dozları veya ilacın geç verilmesi etkinliğini büyük oranda azaltmıştır. Efektif dozlarda ve doksorubisinden 1 saat önce verilen NAC doksorubisine bağlı kalp, karaciğer ve ince barsak dokularında oluşan hücresel hasarı

önemli derecede azaltmıştır. Tavşanlar üzerinde yapılan bir çalışmada da benzer etkinlik gözlenmiştir (122). Çalışmalarda verilen NAC ile antitümör aktivite etkilenmemiştir. Buna karşın in vitro yapılan bazı çalışmalarda ortamda demir bulunduğunda NAC, doksorubisine bağlı lipid peroksidasyonunu inhibe edememiştir. Köpekler üzerinde NAC ile yapılan iki çalışmada yüksek doz doksorubisin verilmesi sonrasında kardiyotoksistelerde histopatolojik ve fonksiyonel olarak herhangi bir azalma saptanmamıştır (123). Yapılan bir klinik çalışmada 4 haftada bir $75\text{mg}/\text{m}^2$ doksorubisin alan hastalarda bir saat öncesinde $5.5\text{gr}/\text{m}^2$ NAC verilmesinin sitoprotektif etkisi saptanmamıştır (124).

İn vitro yapılan çalışmalarda sisteaminin doksorubisine bağlı lipid peroksidasyonunu azaltabileceği gösterilmişken in vivo çalışmalarda bu etki görülmemiştir. Digoksin ve metilen mavisi bu amaçla kullanılmış ancak bir etkisi gösterilememiş ajanlardır. Doksorubisinin hücrel alınımını engellediği düşünülen propranolol ve verapamil ise kardiyotoksisteyi arttırmışlardır (125). Diğer öne sürülen kardiyoprotektanlar adenozin, karnitin ve koenzim Q-10 dur. Birkaç prelinik çalışmada Q-10 un kardiyoprotektif etkileri görülmüştür ancak bunu destekleyecek klinik çalışma henüz yoktur (126).

Deneyssel olarak ratlarda $3200\text{ IU}/\text{kg}$ dozunda E vitamininin farelerde doksorubisine bağlı serbest radikal oluşumunu azalttığı saptanmıştır. Buna rağmen köpek ve insan çalışmalarında olumsuz sonuçlar gözlenmiştir. Metastatik meme kanserli olan hastalar üzerinde yapılan çalışmada doksorubisin verilmesinden yedi gün önce başlanan ve kemoterapi boyunca devam edilen $2\text{gr}/\text{m}^2/\text{gün}$ E vitamininin etkisiz olduğu gözlenmiştir (127).

B-Demir şelatörleri: Demir şelatörleri intrasellüler demirin azaltılması potansiyel olarak toksik antrasiklin-metal komplekslerinin oluşmasını engelleyebilir. İn vitro çalışmalarda nonspesifik metal şelatörü olan etilendiamin tetraasetik asidin (EDTA) lipid peroksidasyonunu engellediği gösterilmiş fakat hücre penetrasyonu azlığı ve potansiyel öldürücü etkileri nedeni ile in vivo kullanımı uygun bulunmamıştır (128). Buna karşılık deneyssel demir şelatörü olan 2,2-bipridinin in vitro çalışmada etkili olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada GSH peroksidaza benzer aktivitesi olan lipofilik organoselenyum bileşiği PZ51'in de antrasiklinlere karşı benzer sitoprotektif etkinlik göstermiştir (129).

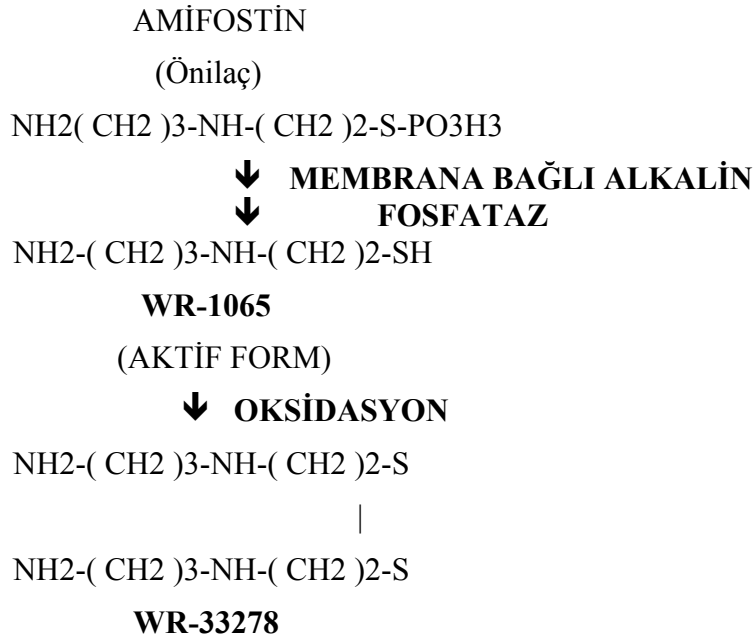
Demir şelatörleri ile yapılan sitoproteksiyon konusunda en çok bilgi piperazinil deriveleri razoksan (ICRF-159) ve onun suda eriyen *d*-izomeri deksrazoksan (ICRF-187) ile Razoksan antrasiklinler ile birlikte verildiğinde kardiyotoksistelerde azalma gözlenmiştir. Deksrakoksan ile daha çok bilgi birikimi mevcuttur. Rat, tavşan, köpek ve hamsterlerde yapılan çalışmalarda antrasiklinlere bağlı kardiyotoksisteyi azalttığı gösterilmiştir. İlerlemiş meme kanserli hastalarda $500\text{mg}/\text{m}^2$ 5-florourasil, $50\text{mg}/\text{m}^2$ doksorubisin, $500\text{mg}/\text{m}^2$ siklofosamid

ile birlikte 1 gr/m² intravenöz deksrazoksan verildiğinde kardiyotoksisitede belirgin azalma gözlenirken antitümör etkinliğinde herhangi bir değişiklik saptanmamıştır. Deksraksoksan alan hastalarda miyelosupresyon biraz daha fazla iken diğer toksik etkiler benzer bulunmuştur. Hastaların uzun süreli takibinde deksrazoksan sayesinde bazı hastalarda 1100mg/m² kümülatif doksorubisin dozuna kardiyotoksisite artmadan ulaşılmıştır (130).

Bazı deneysel çalışmalarda antrasiklinlerin kardiyotoksisitesini önlemede bir antilipemik ilaç olan probukol antioksidan enzim düzeylerini arttırarak ve lipid peroksidasyonunu azaltarak doksorubisine bağlı kardiyotoksisiteyi azaltabileceği gösterilmiştir (12,131). Tavşanlar üzerinde yapılan diğer bir deneysel çalışmada doksorubisine bağlı kardiyotoksisitede L-triptofanın miyokardiyal Gpx düzeylerini ve SOD enzim aktivitesini yükselttiği ve kardiyotoksisiteyi önleyemese de hafıflettiği kanaatine varılmıştır (132). Tavşanlar üzerinde melatoninin doksorubisine bağlı kardiyotoksisiteyi önlememekle birlikte azalttığı gözlenmiştir (133).

AMİFOSTİN

Amifostin inorganik tiyofosfat olup kimyasal yapısı ethanethiyol dihidrojen fosfat şeklindedir (28). Amifostinin yapısal formülü Şekil.4’de görülmektedir.



Şekil.4 Amifostin ve metabolitleri, WR-1065 ve WR-33278’in yapısı (29)

Amifostin ilk olarak, soğuk savaş yıllarında nükleer savaşta askeri personeli koruyacak olan bir ajan olarak 1959 yılında bulunmuştur (29). Amifostin öldürücü dozda radyasyondan, fare, köpek ve maymunları koruduğu gösterilmiştir (134). Amifostinin radyoprotektif

özelliğinin saptanmasından sonra, terapötik radyasyonun toksik etkilerinden normal dokuları korumada amifostinin rolüyle ilgili çalışmalara başlanmıştır. Yuhas ve ark. amifostinle ön tedavi yapılmasıyla, tümör dokusunu etkilemeden, normal dokuların terapötik radyasyonun toksik etkilerinden korunabildiğini göstermiştir (29,30). Alkilleyici ajanlar ve sisplatinin toksik etkilerine karşı normal dokuları koruyucu etkisinin saptanılmasıyla amifostinin kanser tedavisindeki koruyucu değeri artmıştır (31,135). Amifostinin, melfalanın intestinal kript hücreleri üzerindeki toksik etkisini azalttığına dair deneysel çalışma mevcuttur (136). Pierson ve ark. tarafından yapılan çalışmada aminoglikozide bağlı işitme kaybını azalttığı gösterilmiştir (137). Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda yüksek doz siklofosfamide ve radyasyona bağlı pulmoner toksisitenin amifostin ile ciddi biçimde azaldığı saptanmıştır (138,139). Muller ve ark. yaptıkları deneysel çalışmalarda sisplatine bağlı nöral doku hasarlanmasını önceden amifostin verilmesi ile azaltmışlardır (140). Bunların dışında özellikle fareler üzerinde yapılan deneylerde ilaç ve/veya radyasyon tedavisinin geç yan etkisi olarak ortaya çıkan sekonder neoplazmların insidansını azalttığı gözlenmiştir. Sitotoksik kanser tedavisinin karsinojenik, mutajenik ve klastojenik etkilerini azaltabilmektedir (141-143).

Prelinik ve klinik çalışmalar sonucu, ABD’de FDA tarafından 1995 yılında siklofosfamid ve sisplatin tedavisi alan ileri evre over ve küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda nefrotoksositeye karşı amifostin kullanımına onay verilmiştir. Avrupa ülkelerinde sisplatin+siklofosfomid tedavisi alan ileri evre over kanserli hastalarda nötropeniği azaltmak amacı ile kullanım endikasyonu almıştır (32).

Klinik farmakoloji ve farmakokinetik

Amifostin fosforlu aminotiyol grubu içeren bir ön ilaçtır ve dokuda membrana bağlı alkalin fosfataz enzimi ile defosforile edilerek farmakolojik olarak aktif olan serbest tiyol metaboliti (WR-1065) açığa çıkar. Bu, amifostinin major sitoprotektif metabolitidir. WR-1065’in oksidasyonu ile amifostinin bazı klinik ve farmakolojik özelliklerinden sorumlu olan simetrik disülfid yapıda WR-33278 oluşur (29). Yapılan çalışmalar normal dokuların, özellikle kapiller seviyede olmak üzere, daha fazla alkalin fosfataza sahip olduklarını göstermiştir (143,144). Alkalin fosfataz enziminin kapiller endoteldeki lokalizasyonu, amifostinin serbest tiyole dönüşüp normal dokular içine lokal olarak hızlı bir şekilde alımını arttırır (145). Optimum alkalin fosfataz enzimatik aktivitesi için nötral pH daha uygundur. Tümör dokusunun pH’ı asidik iken normal dokuların pH’ı nötrdür. Amifostin tümör dokusundaki asid fosfatazca defosforile edilemez (143).

Yapılan klinik farmakokinetik çalışmalarda; amifostinin hızla plazmadan temizlendiği, distribüsyon yarı ömrünün bir dakikadan az ve eliminasyon yarı ömrünün yaklaşık 8 dakika olduğu saptanmıştır. Amifostinin %90'ı 6 dakikada plazmadan temizlenir, %10'dan daha azı ise uygulamadan 6 dakika sonra plazmada saptanabilir (146).

Amifostin metabolitleri; serbest tiyol (WR-1065), simetrik disülfid (WR-33278), sistiamin, L-sistein, L-glutation içeren miks disülfidler ve tiyol içeren proteinlerdir (33). Serbest tiyol hücre koruyucu olarak rol oynayan ana metabolittir (29). Utley ve ark. 500 mg/kg amifostini farelere intravenöz olarak verdikten 15 dakika sonra normal dokulardaki ilacın major formunun WR-1065 olduğunu göstermişlerdir (29,147). Radyoaktif olarak işaretli amifostinin normal ve tümoral dokulardaki kinetiğiyle ilgili olarak yapılan diğer fare, rat, tavşan in vivo ve in vitro çalışmalarında, radyoaktif işaretli ilacın normal dokularda hızlı konsantrasyona edildiği ve bunun aksine tümör dokusunda oldukça az ve yavaş olarak alındığı anlaşılmıştır (148,149). Yapılan bir araştırmada 200mg/kg dozda radyoaktif olarak işaretli amifostinin intraperitoneal olarak uygulanmasından sonraki 10-30 dakikada böbrek, akciğer, kalp ve dalak gibi normal dokularda amifostin konsantrasyonu tümör dokusuna göre 50-100 kat daha fazla olduğu gözlenmiştir (149).

Amifostin hücre içine alım ve burada birikme özelliklerinden dolayı sitoprotektif etki sağlamak için sitotoksik tedavilerden 5-30 dakika önce uygulanımı önerilmektedir. Amifostinin hücre membran transport özellikleri ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda tümör dokularına karşın normal dokularda WR-1065 alımı ve birikiminin farklı olduğu anlaşılmıştır (29). Bu çalışmalarda normal dokulardaki amifostin membran transportunun ısı bağımlı, adenosin trifosfat ve sodyum bağımlı olmayan taşıyıcı aracılı kolaylaştırılmış diffüzyonla olduğu saptanmıştır (150,151). Amifostin hücre içi alımının fazla olduğu organlar böbrek, tükrük bezleri, kemik iliği, karaciğer, kalp, akciğer, ince bağırsaklar iken, beyin ve spinal kordda kan-beyin bariyerinden dolayı düşük konsantrasyonlardadır (126,152-154).

Etki mekanizması

WR-1065, içinde bulunduğu hücreyi sitotoksik tedavinin toksik etkilerinden üç mekanizma ile korumaktadır (29).

1-Serbest tiyol alkilleyici veya platinyum ajanların aktif ürünlerine direk bağlanarak bunları detoksifiye eder (155,156).

2-Radyasyon ve/veya çeşitli kimyasallara maruz kalındıktan sonra verildiğinde injurinin indüklediği apoptozu belirgin bir şekilde azaltabilir (157).

3-Serbest tiyol, serbest oksijen radikal temizleyicisi olarak rol oynar. Serbest radikaller oluşturarak kardiyotoksik etki yaratan doksorobusin gibi spesifik ilaçlarda bu şekilde etki eder (158).

Bu konuyla ilgili olarak Ohnishi ve ark. amifostin ve aktif metaboliti WR-1065'in doksorobusin tarafından oluşturulan süperoksit anyonları, hidroksil radikallerini temizlediğini göstermişlerdir (158). Bolaman ve ark. ise doksorobusin ile tedavi edilen rat kalp dokusunda malondialdehit seviyelerinin arttığını, amifostin tedavisi ile bu malondialdehit yükselmesinin kontrol grubuna yaklaştığını göstermişlerdir (34). Benzer sonuçlar Bhanumathi ve ark.'nın yaptığı araştırmada da elde edilmiştir (159). Rigatos ve ark. ratlarda yaptığı çalışmada, in vitro olarak doksorobusin verilmesinin fazla miktarda serbest oksijen radikali ürettiği ve amifostin verilmesinin serbest oksijen radikali üretimini önemli oranda azalttığını gözlemiştir (160).

Yan etkiler

Amifostinin iki önemli yan etkisi bulantı ve hipotansiyondur (32,161). Bulantı- kusma amifostin kullanılırken ya da sonrasında görülebilir ve ilacın artan dozlarında sıklığı ve şiddeti artar. Kemoterapi ve radyoterapi ile birlikte verildiğinde de bulantı-kusmanın şiddeti artar. Tedavi öncesi deksametazon ve serotonin antagonisti verilerek sıklığı azaltılabilir (153,162).

Amifostin alanlarda görülen hipotansiyon özellikle dehidrate ya da hipotansiyona antihipertansif kullanımı gibi predispozan durumu olan hastalarda rastlanmaktadır. Hastaların % 60'ında gelip geçici bir hipotansiyon görülürken ciddi hipotansiyon nadiren oluşur. Genellikle ilaç infüzyonu sonunda görülür, 10 dakikadan daha az sürer (153,163).

Diğer yan etkiler ise; Flushing, uykusuzluk, üşüme, baş dönmesi, metalik tat, alerjik reaksiyon ve hipokalsemidir (164,165).

Doz ve uygulama

Amifostinin yetişkinlerde önerilen başlangıç dozu 910mg/m²'dir ve ilacın uygulanmasına kemoterapiden 30 dakika önce başlanmalı ve intravenöz infüzyon şeklinde 15 dakikada verilmelidir (32,164). Hipotansiyona neden olabildiğinden dolayı hastalar tedaviden önce yeterince hidrate edilmeli, 24 saat önceden antihipertansif ilaçlar kesilmeli, her 5 dakikada bir hastanın tansiyonu izlenmelidir (28).

Ciddi hipotansiyon ortaya çıkan hastalarda doz 740mg/m²'a düşülmeli ve hipotansiyona müdahale edilmelidir. Sisplatin gibi aşırı miktarda bulantıya neden olabilen ilaçlarla beraber verildiğinde hastalara antiemetik uygulanmalıdır. Hipokalsemi açısından dikkatli olunmalıdır. Renal, hepatik yetmezliği olanlarda ve yaşlı hasta grubunda yeterince çalışılmadığından dolayı bu grupta amifostin önerilmemektedir (166).

SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ

Serbest radikal, bir ya da daha çok çiftleşmemiş elektron içeren bağımsız varlığını sürdürme yeteneğindeki bir yapıdır. Çiftleşmemiş elektronun biri yörüngede yalnızdır. Elektronlar yörüngede çiftleşmiş halde daha stabil oldukları için radikal olmayan yapılardan daha reaktif bir durumda bulunurlar. Bu radikaller radikal olmayan yapıdaki maddelerle çeşitli reaksiyonlara girerler.

Bu reaksiyonlar; çift olmayan elektronunu vermek, bir elektronu ayırmak ve diğer bir moleküle birleşmektir. Reaksiyonların her biri birer zincir reaksiyondur ve tümü diğer bir radikalin oluşumu ile sonuçlanmaktadır.

Bunlar:

a-Diğer bir radikal ile reaksiyon,

b-Zincir kırıcı antioksidan moleküller ile reaksiyon (E ve C vitaminleri),

c-Enzimatik antioksidan savunma mekanizmalarıdır (süperoksid dismutaz, glutatyon peroksidaz, elastaz).

Oksijen aerobik organizmalarda enerji üretimi için gereklidir. Hala diatomik oksijen molekülleri (diradikaller) serbest radikaller kimyasında en önemli başlatıcı faktörlerdir. Oksijen her ne kadar iyi bir oksidan olsa da elektron dönüşümünde çeşitli kısıtlayıcı reaksiyonlar bulunmaktadır (167,168).

Bu reaksiyonlar;

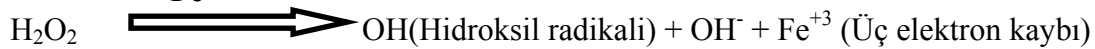
Ksantin oksidaz



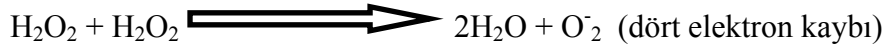
Süperoksid dismutaz



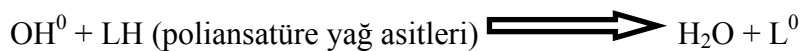
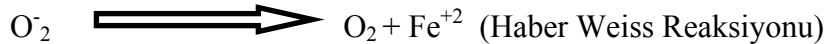
Fe⁺²

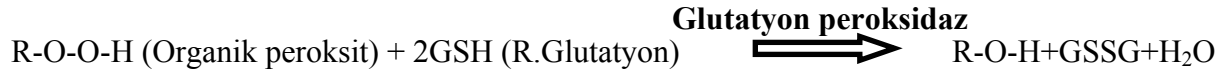


Katalaz



Fe⁺³





Serbest oksijen radikalleri (süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri) iskemi, inflamasyon, yaşlılık ve karsinogeneziste rol oynamaktadır. Mukozal ve damar geçirgenliğini arttıran, nötrofillerin aktivasyonunu etkileyen, karbohidrat, lipid, protein ve DNA üzerinde zedeleyen etkileri vardır (167,169). Mitokondriyal ve mikrozomal enzimler, lipo ve siklooksijenaz, ksantin, amin ve aldehid oksidaz gibi enzimlerin aktivasyonu sonucu serbest oksijen radikalleri ortaya çıkmaktadır. Hidroksil radikallerinin hücre membranındaki yağ asitleri ile girdiği reaksiyona lipid peroksidasyonu denir. Lipid peroksidasyonu hücre ölümüne membran geçirgenliğini bozarak neden olmaktadır. Buna karşın antioksidan koruyucu enzimler (katalaz, süperoksid dismutaz ve glutatyon peroksidaz) serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücresel ve moleküler hasara karşı koruyucu rol oynarlar (170-172).

GEREÇ VE YÖNTEM (III)

Etik Kurul Onayı

Bu deneysel çalışmaya başlamak için Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu'ndan onay alındı.

Proje

Bu çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Proje Fonu'ndan (No: 06022) kısmen desteklenmiştir.

Çalışma Yeri

Deneysel çalışma Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Veterinerlik Deneysel Araştırma Merkezi'nde yapıldı.

İlaçlar

Amifostin (Ethyol 500mg/10ml'lik flakon, Er-Kim), mitoksantron (Mitoxantron "Ebewe" 20mg/10ml'lik flakon, Pharma), idarubisin (Zavedos 10mg/10ml'lik flakon, Pharmacia), serum fizyolojik (%0.9 NaCl 1000 ml'lik şişe, Eczacıbaşı-Baxter) kullanıldı. İlaçlar firmaların genel merkezlerinden ücretsiz olarak karşılanmıştır.

Ratlar

Ortalama 156 ± 30 g ($88-242$ g) ağırlığında, 4 aylık erişkin, toplam 60 erkek Wistar rat çalışmaya alındı. Ratlar Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Cerrahi ve Araştırma Laboratuvarı'ndan sağlandı. Ratlar $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ısıda, %60-75 nemli ortamda, fare yetiştirme yemi (Best Yem, Gebze) ve su ile beslenerek 10 saat gündüz 14 saat gece ortamında bekletildi. Ratlar 10 guruba ayrılarak çalışma yapıldı. Gruplar arasında ağırlık yönünden istatistiksel olarak fark yoktu ($p > 0.05$).

1.Gurup (Kontrol): Ağırlıkları 163 ± 18 g ($142-192$ g) olan 6 rata serum fizyolojik intraperitoneal (İP) 1ml/100gr,

2.Gurup (AMİ): Ağırlıkları 150 ± 29 g ($105-184$ g) olan 6 rata İP 200mg/kg amifostin,

3.Gurup (İDA 2.5): 139 ± 25 g ($94-164$ g) ağırlığındaki 6 rata İP 2.5mg/kg idarubisin,

4.Gurup (İDA 5): Ağırlıkları 128 ± 17 g ($115-156$ g) olan 6 rata İP 5mg/kg idarubisin,

5.Gurup (İDA 2.5+AMİ): Ağırlıkları 163 ± 39 g ($136-242$ g) olan 6 rata önce İP 200mg/kg amifostin ve 30 dk sonra İP 2.5mg/kg idarubisin,

6.Gurup (İDA 5+AMİ): Ağırlıkları 132 ± 13 gr ($120-176$ gr) olan 6 rata önce İP 200mg/kg amifostin ve 30 dk sonra İP 5mg/kg idarubisin,

7.Gurup (MİTO 2.5): Ağırlıkları 149 ± 25 g ($116-183$ g) olan 6 rata İP 2.5mg/kg mitoksantron,

8.Grup (MİTO 5): Ağırlıkları 144 ± 39 gr (88-210 g) olan 6 rata İP 5mg/kg mitoksantron,

9.Gurup (MİTO 2.5+AMİ): Ağırlıkları 150 ± 32 g (123-182g) olan 6 rata önce İP 200mg/kg amifostin ve 30 dk sonra İP 2.5mg/kg mitoksantron,

10.Gurup (MİTO 5+AMİ): Ağırlıkları 165 ± 14 g (148-183gr) olan 6 rata önce İP 200mg/kg amifostin ve 30 dk sonra İP 5mg/kg mitoksantron uygulandı.

Tüm ratlar aynı koşullarda ve aynı gıdalar ile beslendi. İP uygulamalardan hemen önce, 24 saat sonra ve servikal dislokasyondan önce kuyruk veninden biyokimyasal incelemeler için kan alındı. Son İP uygulamadan 7 gün sonra ratlar servikal dislokasyon ile öldürüldü. (İDA 2.5 ve İDA 5 guruplarında dörder, İDA 2.5+AMI gurubunda iki, İDA 5+AMI gurubunda 3, MİTO 5 ve MİTO 5+AMI guruplarında birer rat öldü).

Tüm ratların kalpleri hızla çıkarılarak serum fizyolojik ile yıkandı ve tam olarak ikiye bölünerek yarısı patolojik olarak kardiyotoksiteyi incelemek diğer yarısı da biyokimyasal analizler için kullanılmak üzere serumlar ile birlikte -80°C 'de analizlerin yapılacağı güne kadar saklandı. Patolojik inceleme için alınan kalp materyalleri %4'lük formalin solüsyonunda hemen tespit işlemine alındı, parafin bloklara gömülen doku örneklerinde 4 mikron kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen-Eosin ile boyanarak ışık mikroskobunda Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda incelendi. İncelemede miyokard dokusunda fibrozis, inflamasyon, dejenerasyon (Billingham skoru ile), apoptoz, kalsiyum birikimi skorlandırılarak değerlendirildi (173,174). Tablo.1'de skorlama sistemi görülmektedir.

Çalışma günü kalpler homojenize edilerek; lipid peroksidasyonun bir göstergesi olarak malondialdehit (MDA), serbest oksijen radikallerinden koruyucu enzimler olan katalaz, Gpx, SOD ve total glutatyon (GSH) spektrofotometrik olarak Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda çalışıldı.

Çalışma gününde kuyruk venlerinden alınan kanların serumunda chemiluminescent yöntemi ile troponin-T ve kreatinin fosfokinaz-miyokardiyal band (CK-MB) düzeylerine Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda bakıldı.

Biyokimyasal incelemeler

Süperoksit dismutaz (SOD) enzim düzeylerine (Bioxytech SOD-525, Katalog numarası 21010-Oxis Research Product kit) spektrofotometrik olarak ve Nebot ve arkadaşlarının yöntemi ile bakıldı (175). Bu yöntemde SOD aktivitesi Cu/Zn, Fe, Mn-SOD tipinden bağımsız olarak ölçüldü. Spektrofotometre 525 nm'de ayarlandı. 2-amino-2-methyl-1,3-propanediol, borik asit ve DTPA (diethylenetriaminepentaasetik asit) içeren ve 37°C ' de, pH 8,8'de hazırlanmış 100

ml tampon solüsyonundan 900 µl her bir örnek için tüpe konuldu. 1/10 oranında ile homojenize edilen renal korteks dokularından 40 µl tüpe eklendi. 3,3 ml 1,4,6-trimethyl-2-vinylpyridium trifluoromethanesulfonate ve alkol karışımından oluşan reagent-2'den 30 µl tüpe konarak vortekslenildi ve 37 °C'de bir dakika enkübe edildi. 3,3 ml 5,5,6a, 11-b,tetrahydro-3,9,10-trihydroxybenzo (c) fluorene, HCl, ethanol ve DTPA karışımından oluşan reagent-1'den 30 µl son olarak tüpe eklendi ve vortekslenerek spektrofotometrik olarak okundu. Reagent ile yapılan işlemler buzda yapıldı. Sonuçlar Ünite/g protein olarak verildi.

Glutatyon peroksidaz (Gpx) düzeylerine (Bioxytech GPx-340 katalog numarası 21017 Oxis Research Product kit) spektrofotometrik olarak bakıldı (176). Kalp dokusu pH:7.5'de 50mM TRIS-HCl ve 5 Mm EDTA ve 1 mM 2-merkaptotanol içeren soğuk tampon ile homojenize edildi. 5000 devirde 10 dakika, +4⁰ C'de santrifüje edildi. Enzim içeren süpernatant kısmı alındı. Spektrofotometre küvetine sırası ile 1:10 oranında sulandırılmış 350 µL örnek tamponu, 350 µL NADPH reagent ve 70µL örnek eklendi. En son 350 µL dilüe (1/10.000) tert-butyl hydroperoxide eklenerek iki kez karıştırıldı. 340nm'de 25⁰C de 3 dakika absorbans ölçümü yapıldı. NADPH'ın (reaksiyondaki) azalmasıyla ortaya çıkan absorpsiyon düşüşü her dakika kaydedildi. Sonuçlar mU/g protein olarak verildi.

Katalaz düzeylerine (Bioxytech catalase-520, katalog numarası 21042 Oxis Research Product kit) ile spektrofotometrik olarak bakıldı (177). 1/10 oranında homojenize edilen 500 µl rat kalp homojenize dokusu 2500 devirde santrifüje edildi ve 5 dakika +4 °C'de bekletildi. Üzerine fosfat tamponundaki surfaktan ile katalaz karışımından meydana gelen standart konuldu. Daha sonra 500 µl fosfat tamponundaki 10mM H₂O₂ eklendi ve 1dakika enkübe edildi. 500 µl sodyum azide eklendikten sonra ağzı kapatılarak vortekslemeden karıştırıldı. 20 µl bu karışımdan tüpe konarak üzerine 2 ml HRP (fosfat tamponundaki Horseradish peroksidaz) ve kromogen karışımı (110 µl HRP+110 ml kromogen) eklenerek vortekslemeden karıştırıldı. 10 dakikalık enkübasyon sonrası 520 nm'de adsorbansı okundu. Tüm işlemler oda sıcaklığında yapıldı. Sonuçlar Ünite/g protein olarak verildi.

Malondialdehid (MDA) düzeylerine (Bioxytech MDA-5861 katalog numarası 21044-Oxis Research Product kit) spektrofotmetrik yöntem ile bakıldı. TBRS yöntemi hem serbest ve hem de proteine bağlı MDA ile reaksiyona girdiği için nonspesifik bir reaksiyondur. Bu neden ile MDA-586 yöntemi ile bir hidroliz sonrası serbest MDA düzeyleri ölçülmesi amaçlandı. Böylece 4-hidroksialkenal gibi diğer lipid peroksitler de sonuçları etkilememiş olacaktı. Yöntemin esası, bir kromojenik ajan olan 2 mol NMPI (N-methyl-2-phenylidole) ile MDA'in reaksiyona girerek stabil karbocyanin boyası oluşturmaya ve 586 nm'de spektrofotometre ile

ölçüme dayanmaktaydı (178,179). 10 µl methanoldeki probukol tüpe kondu. Üzerine homojenize edilmiş µl doku ve 640 µl dilüe reagent-1 (NMPI) eklenmesinden sonra vortekslendi. Daha sonra 150 µl reagent-2 (konsantre HCl) eklenmesinden sonra tekrar vortekslendi ve 45 °C'de 60 dakika enkübe edildi. 10.000 devirde 10 dakika santrifüje edildi oluşan berrak bir süpernatant spektrofotometre küvetine alınarak 586 nm'de okundu. Sonuçlar nmol/g doku olarak verildi.

Total glutatyon (GSH) düzeylerine (Bioxytech GSH-420 katalog numarası 21023-Oxis Research Product kit) spektrofotometrik olarak bakıldı (180). Kalp dokusu %0.9 NaCl solusyonu ile yıkandıktan sonra 1/20 oranında Trichloroacetic asitin sulu çözeltisi ile homojenize edildi. Ortaya çıkan homojenat 3000 devirde +4°C de 10 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan süpernatanttan 200µL alınarak tüpe konuldu. Üzerine tampon olarak 200 µl potasyumfosfat ve diethylenetriaminepentaacetic asit eklendikten sonra indirgeyici ajan olarak HCl içerisindeki tris 2-carboxyethyl-phosphineden 200µl eklenerek karıştırıldı. Chromogen olarak HCl içerisindeki 1-Methyl-4-chloro-7-trifluormethylquinolinium methylsulfatdan 200µL ve son olarak da sudaki NaOH'den 200µL eklenerek tekrar karıştırıldı. Oda sıcaklığında ve karanlıkta 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Spektrofotometrede 420nm'de ölçüldü. Sonuçlar µmol/g protein olarak verildi.

CK-MB düzeyleri (Roche, CK-MB-STAT 11731432 kit ile) electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) yöntemi kullanılarak Elecsys 2010 (Roche) cihazı kullanılarak incelendi. Sonuçlar ng/mL olarak verildi.

Troponin T düzeylerine (Roche, troponin-T-STAT 04660307 kit ile) electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) yöntemi kullanılarak Elecsys 2010 (Roche) cihazı kullanılarak bakıldı. Sonuçlar ng/mL olarak verildi.

İstatistiksel yöntem

Tüm sonuçlar ortalama ±standart sapma olarak verildi. Sonuçlar istatistiksel olarak SPSS 10.0 programında one-way ANOVA (Tukey, Bonferroni), two-paired student's t testleri ile karşılaştırıldı ve p<0.05 değerleri anlamlı kabul edildi.

Tablo.1 Patolojik değ erlendirilmede kullanılan sk rlama sistemi

�NFLAMASYON
1: Birkaç dağınık inflamatu�r hücre
2: Minimal inflamatu�r infiltrasyon
3: Bir bölgeden fazla alanda küçük, lokalize multiple inflamatu�r hücreler
4: Diffüz Şiddetli inflamatu�r infiltrasyon
KALS�YUM B�R�K�M�
1: Septum, ventrikül ya da papiller kasta nadir kalsiyum birikimi
2: Yukarıdaki lokalizasyonların birden fazlasında kalsiyum birikimi
3: Yukarıdaki lokalizasyonda birden fazla kalsiyum birikimi
4: Septum ve papiller kası etkileyen diffüz ve geniş kalsiyum birikimi
APOP�TOZ
1: Ventrikül, septum ya da papiller kasta tek miyozitte
2: Yukarıdaki lokalizasyonların birden fazlasında birkaç miyozitte tek odakta
3: Yukarıdaki lokalizasyonların birden fazlasında küçük, lokalize, multiple miyozitte
4: Septum ve papiller kası etkileyen diffüz ve geniş miyozit alanlarında
DEJENERASYON (Billingham skoru)
1.0: < %5
1.5: %5-15
2.0: %16-25
2.5: %26-35
3.0: > %35
F�BROZ�S
1: Ventrikül, septum ya da papiller kasta minimal
2: Multiple lokalizasyonda küçük odaklarda
3: Yukarıdaki lokalizasyonların birden fazlasında multiple odaklarda
4: Septum ve papiller kası etkileyen diffüz ve geniş alanlarda

BULGULAR (IV)

Biyokimyasal parametreler

Kardiyak enzimler

Mitoksantron ve mitoksantron + amifostin kullanılan guruplarda CK-MB ve troponin-T düzeyleri, kontrol, amifostin, idarubisin guruplarından farklı bulunmadı ($p > 0.05$). Aynı zamanda tedavi günleri arasında da fark yoktu ($p > 0.05$).

İDA-2.5 gurubundaki 8.gün troponin-T düzeyleri amifostin ve kontrol guruplarından yüksek bulundu ($p < 0.05$). İDA-2.5 + AMİ gurubundaki 8.gün CK-MB düzeyleri kontrol gurubundan anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.05$). Bunun dışında hem tedavi günleri ve guruplar arasında CK-MB ve troponin-T düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$).

Lipid peroksidasyonu

MİTO-2.5 ve MİTO-5 guruplarındaki MDA düzeyleri kontrol ve AMİ (MİTO-2.5 gurubu için $p < 0.05$, MİTO-5 gurubu için $p < 0.001$) guruplarından fazla idi. MİTO + AMİ guruplarındaki MDA düzeyleri kontrol ve AMİ guruplarından farklı değildi ($p > 0.05$). MİTO-5 + AMİ gurubunda ise MİTO-5 gurubundan anlamlı derecede MDA düzeyleri düşüktü ($p < 0.005$).

İDA ve İDA + AMİ guruplarındaki MDA düzeyleri kontrol ve AMİ guruplarından farklı bulunmadı ($p > 0.05$).

İDA ve MİTO gurupları karşılaştırıldığı zaman; MİTO-2.5 gurubundaki MDA düzeyleri İDA+AMİ guruplarından yüksekti ($p < 0.05$). MİTO-5 gurubunda da bu düzeyler İDA-2.5 ($p < 0.001$), İDA-5 ($p < 0.005$), İDA + AMİ guruplarından ($p < 0.001$) fazla idi.

Süperoksid dismutaz

SOD düzeyleri yalnızca MİTO-5 + AMİ gurubunda kontrol ve İDA-2.5 guruplarından fazlaydı ($p < 0.005$). Diğer guruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$).

Glutasyon peroksidaz

MİTO-5 + AMİ gurubundaki Gpx düzeyleri MİTO-2.5 ($p < 0.05$), İDA-5 ($p < 0.005$), İDA-2.5 + AMİ ($p < 0.005$) ve İDA-5 + AMİ ($p < 0.01$) guruplarından anlamlı derecede düşük bulundu.

İDA ve İDA + AMİ guruplarındaki Gpx düzeyleri kontrol ve AMİ guruplarından farklı bulunmadı ($p > 0.05$).

Total glutasyon

MİTO-2.5 ve MİTO-5 guruplarındaki total GSH düzeyleri kontrol ($p < 0.001$) ve AMİ guruplarından fazla idi (sırası ile $p < 0.001$ ve $p < 0.01$). MİTO-5 + AMİ ve MİTO-2.5+AMİ

gruplarında da kontrol ve AMİ gruplarından total GSH düzeyleri fazla bulundu (sırası ile $p < 0.001$ ve $p < 0.005$).

İDA + AMİ gruplarındaki total GSH düzeyleri kontrol ve İDA-2.5 gruplarından yüksek bulundu ($p < 0.001$).

İDA ve MİTO grupları karşılaştırıldığı zaman; tüm MİTO ve MİTO + AMİ gruplarındaki total GSH düzeyleri İDA-2.5 ($p < 0.001$) ve İDA-5 (MİTO-2.5 ve MİTO-2.5 + AMİ grupları için $p < 0.001$ ve MİTO-5 ve MİTO-5 + AMİ grupları için $p < 0.05$) gruplarından yüksekti. Yine MİTO-2.5 gurubunda da İDA + AMİ gruplarından total GSH düzeyleri anlamlı derecede fazla bulundu ($p < 0.005$).

Katalaz

MİTO-2.5 ve MİTO-5 gruplarındaki katalaz düzeyleri kontrol ve AMİ gruplarından yüksekti (sırası ile $p < 0.005$ ve $p < 0.001$). MİTO + AMİ gruplarındaki değerlerde kontrol ve AMİ gruplarından yüksek bulundu ($p < 0.001$).

İDA ve İDA + AMİ gruplarında katalaz düzeyleri kontrol ve AMİ gruplarından farklı değildi ($p > 0.05$).

İDA ve MİTO grupları karşılaştırıldığı zaman; İDA-2.5 gurubundaki katalaz düzeyleri MİTO-2.5 ($p < 0.01$), MİTO-5 ($p < 0.001$), MİTO + AMİ ($p < 0.001$) gruplarından, İDA-5 gurubunda da MİTO-5 + AMİ ve MİTO-5 gruplarından ($p < 0.05$) düşük bulundu. Katalaz düzeyleri İDA-2.5 + AMİ gurubunda MİTO-5 ($p < 0.001$), MİTO-2.5 + AMİ ($p < 0.05$) ve MİTO-5 + AMİ ($p < 0.005$) gruplarından, İDA-5 + AMİ gurubunda da MİTO-5 ($p < 0.005$) ve MİTO-5 + AMİ ($p < 0.01$) gruplarından anlamlı derecede düşüktü.

Tablo.2 ve 3’de her iki gruptaki biyokimyasal parametrelerin sonuçları görülmektedir.

Histopatolojik parametreler

İnflamasyon

MİTO-2.5 ($p < 0.001$), MİTO-5 ($p < 0.05$) ve AMİ ($p < 0.001$) gruplarındaki inflamasyon kontrol gruplarından fazla iken MİTO + AMİ gruplarında MİTO-2.5 gurubundan az idi (sırası ile $p < 0.05$ ve $p < 0.001$).

AMİ gurubundaki inflamasyon İDA-5 + AMİ gurubundan fazla bulundu ($p < 0.001$).

İDA ve MİTO grupları karşılaştırıldığı zaman; MİTO-2.5 gurubundaki inflamasyon skoru İDA-2.5 ($p < 0.001$) ve İDA-5 ($p < 0.05$) gruplarından yüksekti. Yine MİTO-2.5 gurubundaki inflamasyon İDA + AMİ gruplarından yüksek bulundu ($p < 0.001$). MİTO-5 gurubundaki inflamasyon İDA-5 + AMİ gurubundan fazla idi ($p < 0.05$).

Dejenerasyon

Billigham skoru ile değerlendirilen dejenerasyon MİTO-2.5 ($p < 0.001$), MİTO-5 ($p < 0.01$), MİTO-2.5 + AMİ ($p < 0.001$) ve AMİ ($p < 0.001$) gruplarında kontrol gruplarından yüksek iken, MİTO-5 + AMİ gurubunda MİTO-2.5 gurubundan az idi ($p < 0.005$).

İDA-5 gurubundaki dejenerasyon kontrol ($p < 0.001$) ve İDA-2.5 ($p < 0.005$) gruplarından fazla saptandı. İDA-2.5 + AMİ gurubundaki dejenerasyon skoru kontrol gurubundan fazlaydı ($p < 0.05$).

İDA ve MİTO grupları karşılaştırıldığı zaman; İDA-2.5 gurubundaki dejenerasyon AMİ ($p < 0.05$), MİTO-2.5 ($p < 0.001$) ve MİTO-2.5 + AMİ ($p < 0.05$) gruplarından daha azdı. İDA-5 + AMİ gurubunda ise MİTO-2.5 gurubundan azdı ($p < 0.005$).

Fibrozis

MİTO-2.5 gurubundaki fibrozis skoru; kontrol ($p < 0.005$), AMİ ($p < 0.05$) ve MİTO-5 ($p < 0.005$) gruplarında yüksek iken, MİTO-5 + AMİ gurubunda MİTO-2.5 gurubundan daha azdı ($p < 0.05$).

İDA gruplarındaki fibrozis skoru kontrol ve AMİ gruplarından farklı bulunmadı ($p > 0.05$). Bunun yanı sıra İDA grupları arasında da fark yoktu ($p > 0.05$).

İDA ve MİTO grupları karşılaştırıldığı zaman; MİTO-2.5 gurubundaki fibrozis İDA-2.5 ($p < 0.005$), İDA-2.5 + AMİ ($p < 0.05$) ve İDA-5 + AMİ ($p < 0.001$) gruplarından anlamlı derecede yüksek bulundu.

Kalsiyum birikimi

Hiçbir rat gurubunda miyokardda kalsiyum birikimi saptanmadı.

Apoptoz

Apoptoz skoru MİTO-2.5 gurubunda MİTO-5 ($p < 0.05$), kontrol ve AMİ ($p < 0.001$) gruplarından, MİTO-2.5 + AMİ gurubunda da kontrol gurubundan fazla idi ($p < 0.005$).

İDA-5 gurubundaki apoptoz kontrol ($p < 0.005$) ve İDA 2.5 ($p < 0.05$), İDA-5 + AMİ ($p < 0.05$) gruplarından fazla idi.

İDA ve MİTO grupları karşılaştırıldığında; MİTO-2.5 gurubundaki apoptoz İDA-2.5, İDA-2.5 + AMİ, İDA-5 + AMİ (tümü için $p < 0.001$) gruplarından fazla idi. MİTO-2.5 + AMİ gurubunda apoptoz İDA-2.5 ve İDA-5 + AMİ gruplarından fazla bulundu (her ikisi için $p < 0.05$).

Tablo.2 ve 3'de her iki gruptaki histopatolojik parametrelerin sonuçları ve Resim 1-8 rat miyokardındaki saptanan histopatolojik değişiklikler görülmektedir.

Tablo.2 İdarubisin gurubundaki biyokimyasal ve histopatolojik parametreler

	Kontrol (n=6)	Amifostin (n=6)	İDA 2.5 (n=6)	İDA 5 (n=6)	IDA 2.5+ AMI (n=6)	IDA 5+ AMI (n=6)
Ağırlık (g)	163±18	150±29	139±25	128±17	163±39	132±13
Katalaz (U/g prot)	1.15±0.15	1.3±0.25	1.17±0.25	1.94±1.13	1.68±0.31	1.83±0.11
Gpx (mU/g prot)	14.2±7	20.7±10.5	17±5.5	26.9±12.2	26.8±9.1	25±4.3
MDA (nmol/g doku)	45.9±10.1	43±12.2	46.1±10.2	52.1±20.3	42.7±8.1	43.5±4.2
SOD (U/g prot)	19.1±2.7	27.8±18.3	18±5	37.2±4.8	37.3±6.2	32.5±2.9
GSH (μmol/g prot)	85±27.4	120.3±30.3	86.7±9.2^{c,d}	128.9±40	178.1±10.6^b	173.8±8.9^b
Troponin-T (ng/ml)						
0.gün	0.01±0	0.01±0	0.01±0	0.01±0	0.01±0	0.01±0
1.gün	0.01±0	0.01±0	0.01±0	0.01±0	0.01±0	0.01±0
8.gün	0.1±0	0.1±0.15^g	2.55±3.18^a	0.02±0.02	0.73±0.64	0.51±0.87
CK-MB (ng/ml)						
0.gün	0.12±0.02	0.15±0.05	0.1±0.01	0.17±0.06	0.16±0.04	0.16±0.09
1.gün	0.1±0	0.13±0.07	0.1±0	0.01±0	0.13±0.08	0.1±0
8.gün	0.1±0	0.01±0	0.1±0	0.01±0	0.27±0.2^a	0.12±0.04
İnflamasyon	1±0	2.3±0.5^{b,d}	1.5±0.54	1.8±0.4	1.5±0.6	1±0
Dejenerasyon	1±0	2.3±0.5^{b,g}	1.3±0.3	2.4±0.5^{b,h}	1.9±0.5^a	1.7±0.5
Fibrozis	1.2±0.4	1.3±0.5	1.2±0.4	1.7±0.5	1.3±0.5	1±0
Kalsiyum birikimi	1±0	1±0	1±0	1±0	1±0	1±0
Apopitoz	1±0	1.3±0.5	1.2±0.4	2.2±0.4^{e,f,g}	1.3±0.3	1.2±0.4
Ölüm	---	---	4	4	2	3
Ölüm günü	---	---	6±1	4±0	5±1	4±1

^a: p < 0.05 kontrol gurubu arasında,

^d: p < 0.001 IDA 5 + AMI gurubu arasında,

^g: p < 0.05 IDA 2.5 gurubu arasında

^b: p < 0.001 kontrol gurubu arasında,

^e: p < 0.05 IDA 5 + AMI gurubu arasında,

^h: p < 0.005 IDA 2.5 gurubu arasında.

^c: p < 0.001 IDA 2.5+AMI gurubu arasında,

^f: p < 0.005 kontrol gurubu arasında,

Tablo.3 Mitoksantron gurubundaki biyokimyasal ve histopatolojik parametreler

	Kontrol (n=6)	Amifostin (n=6)	MİTO 2.5 (n=6)	MİTO 5 (n=6)	MİTO 2.5+AMI (n=6)	MİTO 5+AMI (n=6)
Ağırlık (g)	163±18	150±29	149±25	144±39	150±32	165±14
Katalaz (U/g prot)	1.15±0.15	1.3±0.25	2.61±0.43^{e,f}	3.32±1.2^{c,e}	3±0.47^{c,e}	3.27±0.55^{c,e}
Gpx (mU/g prot)	14.2±7	20.7±10.5	23±1.8	18±7.3	15.1±5.3	6±2.3^d
MDA (nmol/g doku)	45.9±10.1	43±12.2	69.2±10.1^{a,b}	82.7±14.8^{c,e}	63.5±7.2	52.3±12.8ⁱ
SOD (U/g prot)	19.1±2.7	27.8±18.3	29.1±9.9	26.6±13.5	29.4±7.8	45.2±21^f
GSH (μmol/g prot)	85±27.4	120.3±30.3	258±60.5^{c,e}	196.4±29.5^{c,k}	215.6±36^{c,e}	198.1±30.8^{c,g}
Troponin-T (ng/ml)						
0.gün	0.01±0	0.01±0	0.01±0	0.01±0	0.01±0	0.03±0.04
1.gün	0.01±0	0.01±0	0.01±0	0.01±0	0.01±0	0.01±0
8.gün	0.01±0	0.1±0.15	0.23±0.33	0.09±0.1	0.04±0.05	0.83±1.8
CK-MB (ng/ml)						
0.gün	0.12±0.02	0.15±0.05	0.19±0.05	0.2±0.07	0.18±0.07	0.14±0.06
1.gün	0.1±0	0.13±0.07	0.1±0	0.18±0.18	0.12±0.04	0.01±0.05
8.gün	0.1±0	0.1±0	0.1±0	0.1±0	0.1±0	0.17±0.12
İnflamasyon	1±0	2.3±0.5^c	2.8±0.4^c	2±0.6^b	1.8±0.4^d	1.5±0.5^j
Dejenerasyon	1±0	2.3±0.5^c	2.8±0.4^c	2±0.6^l	2.3±0.3^c	1.7±0.4^h
Fibrozis	1.2±0.4	1.3±0.5^d	2.3±0.5^f	1.2±0.4^h	1.7±0.5	1.3±0.5^d
Kalsiyum birikimi	1±0	1±0	1±0	1±0	1±0	1±0
Apoptoz	1±0	1.3±0.5	2.7±0.5^{c,e}	1.7±0.5^d	2.2±0.4^f	1.8±0.8
Ölüm	---	---	---	1	---	1
Ölüm günü	---	---	---	7	--	7

^a : p < 0.05 AMI gurubu arasında,

^d : p < 0.05 Mito 2.5 gurubu arasında,

^g : p < 0.005 AMI gurubu arasında,

^j : p < 0.001 Mito 2.5 gurubu arasında,

^b : p < 0.05 kontrol gurubu arasında,

^e : p < 0.001 AMI gurubu arasında,

^h : p < 0.005 Mito 2.5 arasında,

^k : p < 0.01 AMI gurubu arasında,

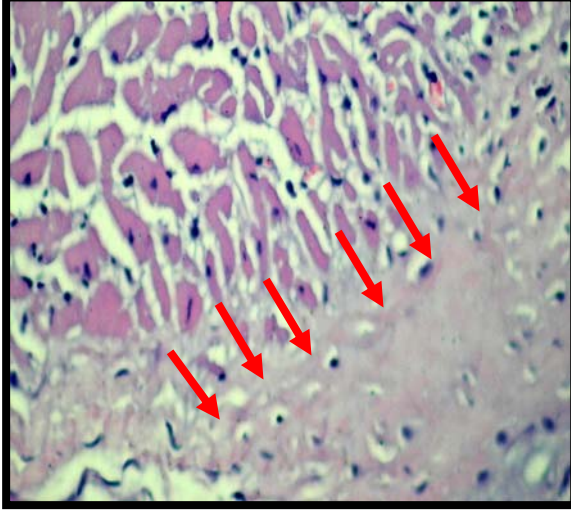
^c : p < 0.001 kontrol gurubu arasında,

^f : p < 0.005 kontrol gurubu arasında,

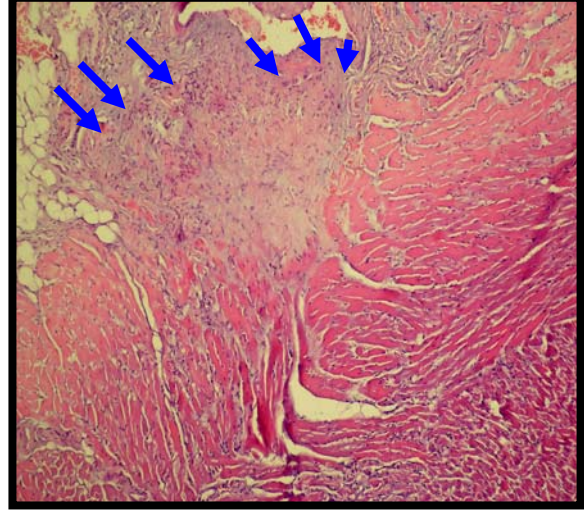
ⁱ : p < 0.005 Mito 5 gurubu arasında.

^l : p < 0.01 kontrol gurubu arasında.

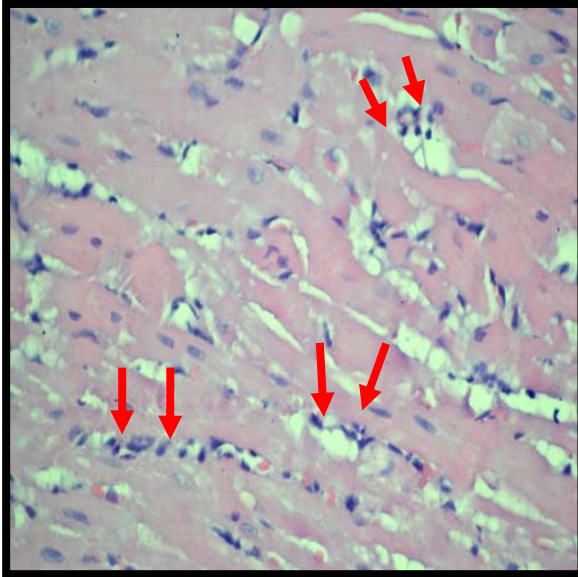
Resim 1-4: Rat miyokardındaki saptanan histopatolojik değişiklikler



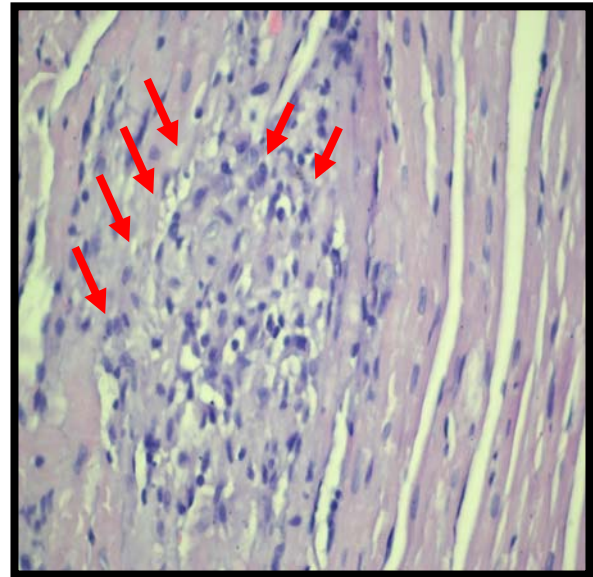
Resim 1: Grade-1 Fibrozis



Resim 2: Grade-3 Fibrozis

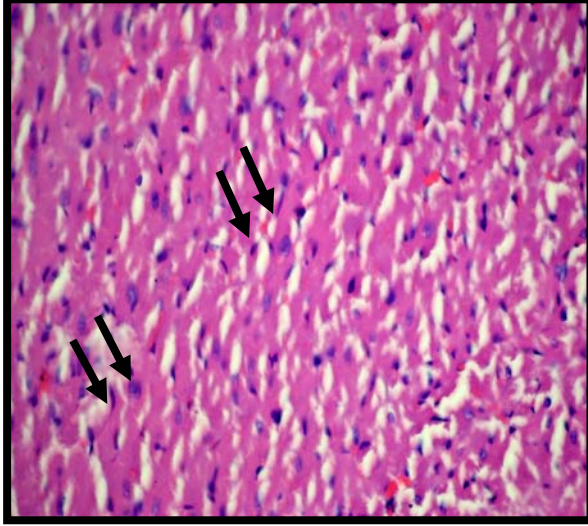


Resim 3: Grade-1 İnflamasyon

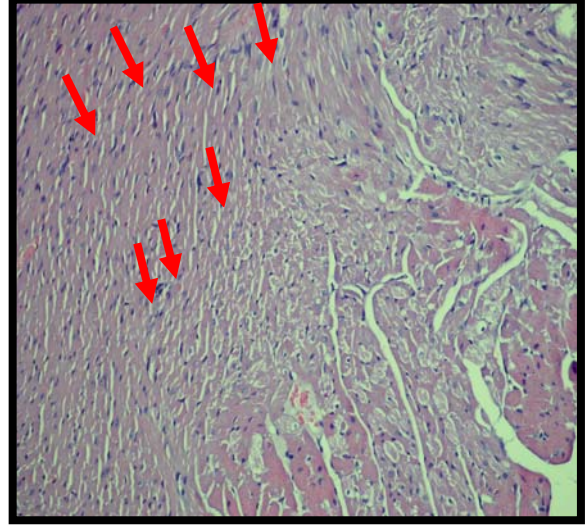


Resim 4: Grade-3 İnflamasyon

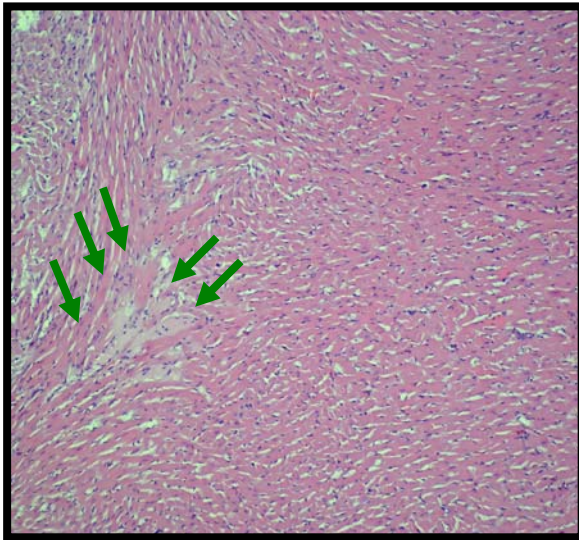
Resim 5-8: Rat miyokardındaki saptanan histopatolojik değişiklikler



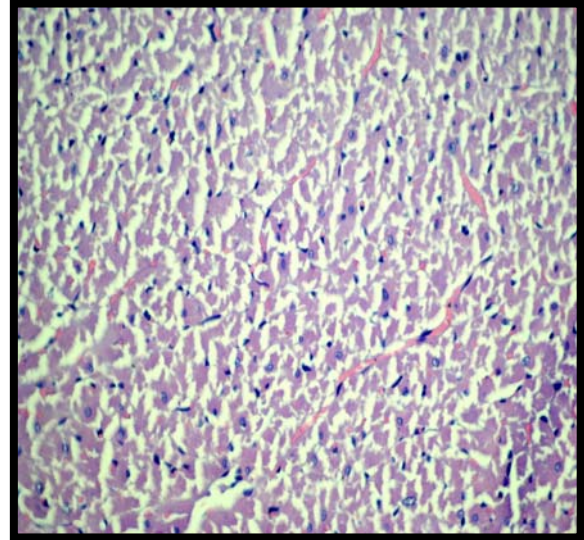
Resim 5: Grade-1 Apopitoz



Resim 6: Grade-3 Apopitoz



Resim 7: Grade-1 Dejenerasyon



Resim 8: Grade-2.5 Dejenerasyon

TARTIŞMA (V)

İdarubisin ve mitoksantron gibi antrasiklin gurubu antineoplastik ilaçların en önemli tedaviyi sınırlayıcı yan etkilerinden birisi kardiyotoksisitedir (1,12,110). Antrasiklinlerin yol açtığı kardiyotoksisite patogeneğinde en önemli faktör lipid peroksidasyonunun artışı ve miyokarda serbest oksijen radikallerinin ortaya çıkardığı zedelenme ileri sürülmektedir. (1,111,119). Bununla birlikte adrenerjik nöron disfonksiyonu, vazoaktif aminlerin artışı, topoizomera II aktivitesinin inhibisyonu, sitostatik aktivite sonucu TNF- α ve İL-2 gibi kardiyotoksik sitokinlerin artışı da kardiyotoksisite patogeneğinde ortaya sürülen diğer mekanizmalardır (1,12,121,126).

Doksorubisinin yol açtığı akut ve kronik kardiyotoksisite üzerinde yapılan deneysel çalışmalar oldukça fazla iken mitoksantron ve idarubisinde bu çalışmalar oldukça sınırlı kalmıştır (6,7,13,20,23,120). Bu çalışmaların bir çoğu idarubisin ve mitoksantronun kronik kümülatif kardiyotoksisitesi üzerinde olup birkaç çalışma akut kardiyotoksisite üzerinedir (17, 18,181-8).

Bu çalışmada idarubisin ve mitoksantrona bağlı akut kardiyotoksisite 7 gün sonunda değerlendirildi çünkü daha önce ratlarda yapılan deneysel çalışmalarda kardiyotoksisite 7 günden sonra ortaya çıkmaktadır (16-18). Ratlarda idarubisinin kronik kardiyotoksisitesi haftada bir 0.5-1 mg/kg ve haftalık 5 mg/kg 6'şar haftalık yapılan iki çalışmada araştırılmıştır (181,186). İdarubisinin miyokardiyal perfüzyonu üzerindeki akut etkisi de çeşitli çalışmalarda 0.5 mg ile araştırılmıştır (184,185,187). İdarubisinin dokularda akut etkisinin araştırıldığı iki çalışmadan biri farelerde yapılmıştır ve kullanılan idarubisin dozu 6 mg/kg'dır (189). Diğer rat çalışmasında ise idarubisin 0.6 mg/kg 6 gün süre ile uygulanmış ve 12.günde akut kardiyotoksisite araştırılmıştır (188). Mitoksantron ile yapılan kronik kardiyotoksisite çalışmalarında mitoksantron 12-13 hafta süre ile 0.2-0.6 mg/kg/haftada uygulanmıştır (17,182,183,190). Mitoksantron ile akut kardiyotoksisite üzerindeki deneysel çalışmalar ise hücre kültürlerinde araştırılmıştır ve mitoksantron direk olarak ratlara uygulanmamıştır (13,18).

Antrasiklinlerin yol açtığı kardiyotoksisite patogeneğinde rol oynayan serbest oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA ile ilgili deneysel çalışmaların büyük bir kısmı doksorubisin ile yapılmıştır. Bu çalışmalarda miyokard dokusundaki serbest oksijen radikallerinin ve MDA düzeylerinin arttığı saptanmıştır (6,12,34, 159,160,191-5). Oysa mitoksantron ve idarubisinle bu konuda yapılan iki çalışma mevcuttur (181,183). Mitoksantronun haftada bir 0.5 mg/kg ve 12 hafta uygulandığı ratlarda serbest oksijen radikallerini arttırdığı ve doksorubisin ile karşılaştırıldığında hem kardiyotoksisitenin hem de

serbest oksijen radikallerinde artışın daha az olduğu görülmüştür (183). İdarubisinin 6 hafta süre ile haftada 6 mg/kg uygulandığı ratlarda MDA düzeylerinin kontrol gurubuna kıyasla belirgin derecede arttığı rapor edilmiştir (181).

Bizim çalışmamızda ise mitoksantron lipid peroksidasyonunu kontrol ve amifostin guruplarına göre anlamlı derecede arttırmıştı. MDA düzeylerindeki bu artış mitoksantronun 5 mg/kg uygulandığı ratlarda daha belirgindi. İdarubisin gurubunda ise lipid peroksidasyonunda bir artış gözlenmedi. Mitoksantron ile idarubisin karşılaştırıldığında ise mitoksantronun yine 5 mg/kg uygulanan ratlarda daha belirgin olmakla birlikte her iki dozda da idarubisin guruplarından MDA düzeylerini daha fazla arttırdığı saptandı.

Deneyssel olarak katalaz, SOD ve Gpx gibi enzimler ile hücre içi total GSH, serbest oksijen radikallerinin hücrelere verdikleri zararlardan korumaktadırlar (126,170,194).

Katalaz, hem katalitik hem de peroksidatik aktiviteye sahip olup 2 molekül hidrojen peroksidin 2 molekül su ve moleküler oksijene dönüşümünü katalize etmektedir (195,196). Karaciğer, eritrosit, böbrek ve yağ dokusunda yüksek aktiviteye sahip iken kalp ve beyin dokusunda azdır. Kalpteki katalaz aktivitesi insan, fare ve rat karaciğerindeki aktivitenin ancak %2'sidir (195,197,198).

SOD, süperoksid anyonunun hidrojen peroksid ve oksijene dismutasyonun katalize eden bir metaloenzimdir. Fe-SOD prokaryositlerde, Cu/Zn SOD ökaryositlerin nükleus ve sitozollerinde, Mn-SOD ise hem ökaryosit hem de prokaryositlerde özellikle mitokondrilerde bulunur. SOD normalde aerobik organizmaların yaşamı için koruyucu bir enzimdir. Zn, Cu gibi metaller SOD aktivasyonu ve hidroksil radikalleri arasındaki ilişkilerde önemli bir rol oynamaktadır (126,175,181,194,195).

Gpx, organik peroksitleri ve redükte GSH'ı su ve okside-GSH'a dönüşümünü katalize eder. Sonuç olarak serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun hücreye verdiği zararı azaltmaktadır (200,201).

Doksorubisine bağlı kardiyotoksisite gelişiminde kalp dokusundaki serbest oksijen radikallerinden koruyucu enzimlerin ve total GSH'daki azalmanın rolü tartışmalıdır. Bazı deneysel çalışmalarda kalp dokusunda SOD, katalaz, Gpx ve total glutatyon düzeylerinde azalma saptanmış ve bu azalmanın lipid peroksidasyonu ile ilişkisi ortaya konulmuştur (126, 192,193,202). İdarubisin ile ratlarda yapılan çalışmada da idarubisinin miyokartta SOD, katalaz, Gpx düzeylerini azaltır iken lipid peroksidasyonunu arttırdığı saptanmıştır (181). Bunun yanı sıra bazı deneysel hücre kültürü çalışmalarında doksorubisinin kardiyomiyositlerde katalaz ve Mn-SOD düzeylerinde overexpresyona neden olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda 60-100 kat artmış SOD ve katalaz düzeylerinin lipid peroksidasyonundan

miyokardı hücre serilerinde özellikle akut kardiyotoksisiteden koruduğu buna karşın 200 kattan fazla artışın koruyuculuğunun bulunmadığı ve sonuç olarak lipid peroksidasyonun arttığı görülmüştür (194,195,199).

Bizim çalışmamızda tek başına idarubisin ve mitoksantron guruplarında SOD ve Gpx düzeyleri kontrol ve amifostin guruplarından farklı bulunmadı. Katalaz düzeyleri ise mitoksantron 5 mg/kg verilen gurupta daha belirgin olmak üzere her iki mitoksantron gurubunda kontrol, amifostin ve tek başına idarubisin uygulanan guruplarla karşılaştırıldığında daha fazlaydı. Total GSH düzeyleri de mitoksantron 2.5 mg/kg verilen gurupta daha belirgin olmak üzere her iki mitoksantron gurubunda kontrol, amifostin ve tek başına idarubisin uygulanan guruplardan daha fazlaydı. Bu bulgular mitoksantronun lipid peroksidasyonunu uyardığı ve miyokardın koruyucu olarak katalaz ve total GSH düzeylerini arttırdığını göstermiştir. Ancak idarubisinin ne lipid peroksidasyonu ne de koruyucu enzimler üzerine bir etkisi ise saptanmadı.

Doksorubisin CK ve troponin-T gibi kardiyak enzim düzeylerini de arttırdığı ve kardiyotoksisitenin bir belirteci olarak kullanılabileceği bazı deneysel çalışmalarda gösterilmiştir. Özellikle CK düzeylerindeki artışın lipid peroksidasyonun miyokardiyal hücre membranına yaptığı zarar nedeni ile ortaya çıktığı düşünülmektedir. Ancak bu deneysel çalışmaların büyük bir kısmı kronik kardiyotoksisite üzerine yapılmıştır (159,182). Akut kardiyotoksisitede ise üç çalışmada artmış bulunurken (199,203,204), bir çalışmada ise değişiklik görülmemiştir (205). Kronik kardiyotoksisitenin araştırıldığı rat çalışmasında da mitoksantronun kardiyak troponin-T düzeylerini arttırdığı saptanmıştır (182).

Çalışmamızda idarubisin ve mitoksantronun CK-MB değerleri üzerine bir etkisi saptanmaz iken yalnızca idarubisin 2.5 mg/kg uygulanan ratlarda serum troponin-T düzeyleri kontrol ve amifostin guruplarından anlamlılık düzeyi çok fazla olmasa da yüksek bulundu.

Doksorubisin histopatolojik olarak kardiyomiyozitlerde ödem, vakuolizasyon, dejenerasyon, inflamasyon, fibrozis ve apopitoza yol açtığı deneysel çalışmalarda saptanmıştır (182, 193, 206-209). Doksorubisine bağlı kardiyotoksisiteyi değerlendirmek için dejenerasyon skoru (Billingham skoru) iki deneysel çalışmada kullanılmıştır (182,209). Dragojevic-Simic ve ark. (209) kronik doksorubisin kardiyotoksisitesi araştırılan ratlarda Billingham skorunu Doksorubisin gurubunda 2.5 ± 0.5 , kontrol gurubunda 0.33 ± 0.48 ve amifostin gurubunda da 0.50 ± 0.51 saptarken ve Doksorubisin ile bu değerler anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Herman ve ark. (182) yine doksorubisine bağlı kronik kardiyotoksisite araştırılan 5 ratın 3'ünde dejenerasyon saptamışlardır.

Koutinos ve ark. (183) 12 haftalık kronik mitoksantron kardiyotoksitesini için Billingham skoru ile dejenerasyonu değerlendirmişlerdir. 6.haftada Grade-1 dejenerasyon ratların %50'sinde, Grade-2 %33'ünde saptanırken 8.haftada Grade-1 %33, Grade-2 %17 ve Grade-3 dejenerasyon oranları %50 bulunmuştur. Çalışma sonunda ise Grade-2 ve Grade-3 dejenerasyon sırasıyla ratların %83 ve %17'sinde saptanmıştır. Bu sonuçlar doksurubisin ile karşılaştırıldığında mitoksantronun daha az kardiyotoksik olduğu görülmüştür. Herman ve ark. (182) mitoksantrona bağlı kronik kardiyotoksite araştırılan 11 ratın hepsinde dejenerasyon (1'inde Grade-1.5, 6'sında Grade-2, 4'ünde Grade-2.5) ortaya koymuşlardır. Çeşitli antrasiklinlerin kardiyomiyoitlerdeki zedelenmesinin araştırıldığı bir çalışmada ise mitoksantronun idarubisinden daha çok birikime yol açtığı ve hücre canlılığını daha çok azalttığı görülmüştür (13). Ratlarda elektron mikroskobu ile idarubisinin kronik kardiyotoksitesinin araştırıldığında miyokarda mitokondriyal şişme ve sarkoplazmik retikulumda dilatasyon saptanmıştır (181).

Çalışmamızda rat miyokardındaki değişiklikler histopatolojik olarak incelendiğinde tek başına mitoksantron uygulanan guruplardaki inflamasyon, dejenerasyon (Billingham) ve fibrozis skorları kontrol ve tek başına idarubisin verilen guruplardan anlamlı derecede daha fazlaydı. Bu histopatolojik değişiklikler özellikle 2.5 mg/kg mitoksantron gurubunda daha belirgindi. Oysa tek başına idarubisin verilen her iki idarubisin uygulanan ratlardaki inflamasyon ve fibrozis skorları kontrol gurubundan farklı değil iken idarubisin 5 mg/kg verilen ratlarda dejenerasyon artmıştır. Apoptoz skoru ise mitoksantron 2.5 mg/kg ve idarubisin 5 mg/kg uygulanan rat guruplarında kontrol gurubundan daha fazla iken her iki gurup arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Ancak mitoksantron 2.5 mg/kg verilen gurupta apoptoz daha belirgindi. Kalsiyum birikimi hiçbir rat gurubunda gözlenmedi.

Amifostinin daha önce yapılan çeşitli deneysel çalışmalarda doksurubisinin yol açtığı akut ve kronik kardiyotoksiteyi önleyebildiği gösterilmiştir. Bu çalışmalarda amifostin miyokarda serbest oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonunu oluşumunu önler iken sitoprotektif enzimleri ve total GSH düzeylerini arttırmaktaydı (34,37,126,158-160,194,202). Bununla birlikte amifostin miyokarda histopatolojik olarak ortaya çıkan ödem, vakuolizasyon ve dejenerasyonu azalttığı da saptanmıştır (35,182,194,202,206,209). Ancak amifostinin mitoksantron ve idarubisinin kardiyotoksitesinden koruyucu etkisini, serbest oksijen radikalleri, sitoprotektif enzimler, lipid peroksidasyonu ve histopatolojik değişiklikler üzerine etkilerini araştıran deneysel çalışmalar oldukça nadirdir (182,189).

Bizim çalışmamızda amifostinin mitoksantronun uyardığı lipid peroksidasyonunu azalttığı saptandı. Mitoksantron lipid peroksidasyonunu artırır iken mitoksantron ile birlikte

amifostin kullanıldığında bu düzeylerin kontrol ve yalnız amifostin verilen gruplardan farklı olmadığı gözlemlendi. Özellikle mitoksantron 5 mg/kg uygulanan ratlardaki daha belirgin olan lipid peroksidasyonu MİTO-5 + AMI grubundan daha azdı. Lipid peroksidasyonu idarubisin verilen ratlarda etkilenmediği için idarubisin ile birlikte amifostin verilen ratlarda bir değişiklik gözlemlenmedi. Ancak tek başına mitoksantron uygulanan her iki gruptaki lipid peroksidasyonu idarubisin ile birlikte amifostin uygulanan iki rat grubundan da fazlaydı. Mitoksantron ile birlikte amifostin uygulanan gruplarda da idarubisinle birlikte amifostin uygulanan gruplar arasında bir fark yoktu.

Amifostin SOD düzeylerini yalnızca mitoksantron 5 mg/kg ile birlikte verildiğinde idarubisin 2.5 mg/kg verilen rat grubuna kıyasla artırır iken diğer gruplar üzerine bir etkisi yoktu.

Gpx düzeyleri mitoksantron 5 mg/kg ile birlikte amifostin verilen grupta anlamlı derecede düşük bulunur iken ne idarubisin ne de mitoksantron gruplarında anlamlı bir değişiklik saptanmadı. Bu durum ne daha önceki literatür ne de bizim bulgularımız ile açıklanamadı.

Katalaz düzeyleri hem tek başına mitoksantron hem de amifostin ile birlikte mitoksantron verilen rat gruplarında kontrol ve tek başına amifostin verilen ratlardan yüksekti. Oysa tüm idarubisin gruplarında katalaz düzeyleri kontrol ve amifostin gruplarından farklı değildi ve amifostinin bir etkisi görülmedi. Amifostin ile birlikte idarubisin verilen ratlarla mitoksantronun tüm grupları karşılaştırıldığında katalaz düzeyleri daha düşük bulundu. Bu bulgular mitoksantronun kardiyotoksisitesinden korumak için miyokardın katalaz overekspresyonuna neden olabileceğini ve amifostinin de bu koruyucu enzim düzeyine olumlu etkisi olduğunu işaret etmektedir.

Total GSH düzeyleri de hem tek başına mitoksantron hem de amifostin ile birlikte mitoksantron verilen rat gruplarında kontrol ve tek başına amifostin verilen ratlardan yüksekti. İdarubisin ile birlikte amifostin verildiğinde de total GSH düzeyleri hem kontrol hem de idarubisin 2.5 mg/kg verilen gruplarda artmıştı. Ancak hem tek başına hem de amifostin ile birlikte idarubisin verilen ratlardaki total GSH düzeyleri tüm idarubisin gruplarından daha yüksekti. Bu bulgular da mitoksantronun kardiyotoksisitesinden korumak için miyokardda total GSH düzeyini arttırabileceğini ve amifostin de hem mitoksantronun hem de idarubisin ile birlikte kullanıldığında total GSH üzerine olumlu etkisi olduğunu göstermekteydi.

Mitoksantronun hem tek başına hem de amifostinle birlikte kardiyak enzimler üzerine bir etkisi yoktu. Ancak hem idarubisin 2.5 mg/kg hem de amifostin ile birlikte idarubisin 2.5 mg/kg uygulandığında kardiyak enzimler her ne kadar istatistiksel olarak anlam düzeyi çok

yüksek olmasa da fazlaydı. Oysa hem tek başına hem de amifostin ile birlikte 5 mg/kg uygulanan ratlarda herhangi bir değişiklik saptanmadı.

Histopatolojik parametreler değerlendirildiğinde amifostinin tek başına da miyokardda inflamasyonu arttırmaktaydı. Ancak amifostin mitoksantron ile birlikte uygulandığında mitoksantronun yol açtığı inflamatuvar yanıtı azalttığı görüldü. İdarubisinin ise hem tek başına hem de amifostin ile birlikte kullanıldığında inflamasyon üzerine bir etkisi saptanmadı.

Amifostin de tek başına miyokartta dejenerasyonu artırır iken mitoksantron 5 mg/kg ile birlikte verildiğinde Billingham skorunu azaltmıştı. Oysa idarubisin ile birlikte verildiğinde bu etkisi gözlenmedi. Amifostinin daha önceki deneysel çalışmalarda doksorubisinden daha az olsa da inflamasyon ve dejenerasyon yol açabileceği saptanmıştı (35, 182,209).

Fibrozis skoru özellikle mitoksantron 2.5 mg/kg verilen ratlarda artmış iken mitoksantron 5 ile amifostin verilen grupta daha azdı. Fibrozis idarubisin verilen ratlarda anlamlı derecede artmadığı için idarubisin ile birlikte amifostin verilen ratlarda bir değişiklik gözlenmedi. Ancak idarubisin ile birlikte amifostin uygulanan iki rat grubunda mitoksantron 2.5 mg/kg verilen ratlardan daha az fibrozis saptandı.

Amifostinin kalsiyum birikimi üzerine bir etkisi saptanmaz iken, idarubisin ve mitoksantronun uyardığı apoptozu azalttığı görüldü.

ÇIKARIMLAR

1-Mitoksantron yüksek dozlarda daha belirgin olarak lipid peroksidasyonunu arttırır iken idarubisin etkilememektedir.

2-Mitoksantronun serbest oksijen radikallerinden koruyucu enzimler olan SOD ve Gpx enzimlerini etkilemez iken katalaz ve total GSH düzeylerini arttırmaktadır.

3-İdarubisinin serbest oksijen radikallerinden koruyucu enzimler olan SOD, katalaz ve Gpx enzimleri ile total GSH üzerine bir ekisi bulunmamaktadır.

4-İdarubisin düşük dozda kardiyak enzimlerden yalnızca troponin-T düzeylerini çalışma sonunda arttırdı.

5-Histopatolojik olarak düşük dozlarda daha belirgin olmak üzere mitoksantron inflamasyon, dejenerasyon ve fibrozisi arttırır iken idarubisinin dejenerasyonu arttırması dışında inflamasyon ve fibrozise etkisi saptanmadı.

6-Kalsiyum birikimi hiçbir rat gurubunda ortaya çıkmaz iken apoptoz hem idarubisin hem de mitoksantron guruplarında uyarılmıştı.

7-Amifostin mitoksantron ile birlikte uygulandığında mitoksantronun uyardığı lipid peroksidasyonunu azaltırken idarubisin ile birlikte bir etkisi saptanmadı.

8-Amifostinin ne mitoksantron ne de idarubisin ile birlikte verilmesi SOD ve Gpx düzeylerini değıştirmede.

9-Amifostin ile mitoksantronun birlikte uygulanması katalaz düzeyleri üzerinde olumlu bir artışa neden olurken idarubisinle birlikte bir etkisi gözlenmedi.

10-Amifostin hem mitoksantron hem de idarubisin ile birlikte verildiğinde total GSH düzeyleri üzerinde olumlu bir artışa yol açtı.

11-Amifostin tek başına uygulandığında da miyokartta inflamasyon ve dejenerasyonu arttırdı.

12-Amifostin mitoksantronun yol açtığı inflamasyonu, dejenerasyonu, fibrozisi ve apoptozu azaltırken idarubisin ile birlikte verildiğinde yalnızca apoptozu azaltmaktaydı.

SONUÇLAR (VI)

Mitoksantronun yol açtığı akut kardiyotoksisitede lipid peroksidasyonu rol oynamaktadır. Miyokard kendini hem lipid peroksidasyonu hem de serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerinden korumak için katalaz ve GSH düzeylerini arttırmaktadır. Histopatolojik olarak miyokartta inflamasyon, dejenerasyon, fibrozis ve apoptozu uyarır. Amifostin ise mitoksantronun yol açtığı lipid peroksidasyonunu azaltıp katalaz ve GSH düzeylerini arttırarak mitoksantronun yol açtığı akut kardiyotoksisiteyi azaltabilir.

İdarubisinin ise miyokard dokusunda lipid peroksidasyonu, koruyucu enzimler ve GSH üzerine bir etkisi bulunmaz iken histopatolojik olarak yalnızca apoptozu uyardığı görüldü. Bu neden ile idarubisinin yol açtığı akut kardiyotoksisite başka mekanizmalarla ortaya çıkabilir. Amifostin ise GSH düzeylerini arttırıp, apoptozu azaltarak idarubisin üzerinde kısmen etkili olabilmektedir.

ÖZET (VII)

Giriş: İdarubisin (İDA) ve mitoksantron (MİTO) hematolojik maligniteler ve solid tümörlerin tedavisinde kullanılan antrasiklin gurubu antineoplastik ilaçlardır. En önemli yan etkileri ise kardiyotoksisite ve miyelosupresyondur. Antrasiklinlere bağlı kardiyotoksisitenin patogenezinde lipid peroksidasyonu ve serbest oksijen radikallerinin rolü olabileceği ileri sürülmektedir.

Amaç: Ratlarda İDA ve MİTO'nun yol açtığı akut kardiyotoksisite patogenezinde lipid peroksidasyonu, serbest oksijen radikal metabolizması ve koruyucu enzimlerin rolleri ve olası kardiyotoksisiteyi önlemede amifostinin etkinliği hem biyokimyasal hem de histopatolojik olarak araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Hayvan etik kurulu alınan ve Adnan Menderes Üniversitesi fonundan kısmen destek alınan bu çalışmaya ağırlıkları 156 ± 30 g olan 60 erkek Wistar rat çalışmaya alınarak 10 eşit guruba ayrıldı. 1.guruba serum fizyolojik, 2.guruba 200 mg/kg amifostin (AMİ), 3.guruba 2.5 mg/kg İDA, 4.guruba 5 mg/kg İDA, 5.guruba 200 mg/kg AMİ ve 30 dk. sonrasında 2.5 mg/kg İDA, 6.guruba 200 mg/kg AMİ ve 30 dk. sonra 5 mg/kg İDA, 7.guruba 2.5 mg/kg MİTO, 8.guruba 5 mg/kg MİTO, 9.guruba 200 mg/kg AMİ ve 30 dk. Sonra 2.5 mg/kg MİTO ve 10.guruba da 200 mg/kg AMİ ve 30 dk. sonra 5 mg/kg MİTO verildi. 0, 1 ve 8.günlerde kuyruk veninden electrochemiluminescence immunoassay yöntemi ile kardiyak enzimler kreatinin fosfokinaz-miyokardial band (CK-MB) ve troponin-T düzeylerine bakıldı. 8.günde ratlar servikal dislokasyon ile öldürülerek kalp dokusunun yarısında süperoksid dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (Gpx), total glutatyon (GSH) ve lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan malondialdehid (MDA) spektrofotometrik olarak incelendi. Kalp dokusunun diğer yarısında ise uygun skorlama sistemleri ile inflamasyon, dejenerasyon, fibrozis, kalsiyum birikimi ve apoptoz histopatolojik olarak ışık mikroskopunda değerlendirildi. Sonuçlar one-way ANOVA ve two-paired student's t testleri ile değerlendirildi.

Bulgular: Yalnızca İDA-2.5 gurubundaki 8.gün troponin-T düzeyleri amifostin ve kontrol gruplarından yüksek bulundu ($p < 0.05$). İDA gurubunda MDA düzeyleri kontrol ve amifostin gruplarından farklı bulunmaz iken ($p > 0.05$), MİTO 5 gurubunda daha belirgin olmak üzere her iki grupta lipid peroksidasyonu artmıştı ($p < 0.05$ ve $p < 0.001$). MİTO+AMİ gruplarındaki MDA düzeyleri kontrol ve amifostin gruplarından farklı bulunmaz iken ($p > 0.05$), MİTO-5 ile AMİ verildiğinde MDA düzeyleri azaldı ($p < 0.005$). MİTO gruplarında SOD ve Gpx düzeyleri etkilenmez iken ($p > 0.05$), katalaz ($p < 0.005$ ve $p < 0.001$) ve total GSH ($p < 0.001$ ve $p < 0.01$) düzeyleri kontrol ve AMİ gruplarından anlamlı derecede yüksekti. MİTO ile AMİ birlikte

uygulandığında katalaz ($p<0.001$) ve total GSH düzeyleri ($p<0.001$ ve $p<0.005$) kontrol ve AMI gruplarından fazlaydı. İDA gruplarında SOD, Gpx, katalaz ve total GSH düzeyleri kontrol gruplarından farklı bulunmadı ($p>0.05$). İDA ile AMİ birlikte verildiğinde total GSH düzeylerini arttırmaktaydı ($p<0.001$). Histopatolojik değerlendirmede inflamasyon MİTO-2.5 gurubunda daha belirgin olmak üzere her iki MİTO gurubunda (sırasıyla $p<0.001$ ve $p<0.05$) kontrol gruplarından fazla iken AMİ ile birlikte verildiğinde MİTO-2.5 gurubundan azdı (sırasıyla $p<0.05$ ve $p<0.001$). Billigham skoru ile değerlendirilen dejenerasyon MİTO gruplarında (sırasıyla $p<0.001$ ve $p<0.01$) kontrol gruplarından yüksek iken, MİTO-5+AMİ gurubunda MİTO-2.5 gurubundan az idi ($p<0.005$). MİTO-2.5 gurubundaki fibrozis skoru kontrol ve MİTO-5 ($p<0.005$) gruplarında yüksek iken, MİTO-5 +AMİ gurubunda MİTO-2.5 gurubundan daha azdı ($p<0.05$). MİTO-2.5 gurubunda apoptoz skoru MİTO-5 ($p<0.05$) ve kontrol ($p<0.001$) gruplarından, MİTO-2.5+AMİ gurubunda da kontrol gurubundan fazla idi ($p<0.005$). İDA gruplarında inflamasyon ve fibrozis etkilenmemişti ve AMİ eklenmesi de bu skorları değıştirmede ($p>0.05$). İDA-5 gurubundaki dejenerasyon kontrol ($p<0.001$) ve İDA-2.5 ($p<0.005$) gruplarından fazlaydı. Amifostinin tek başına kullanımı kontrol gurubuna göre hem dejenerasyona hem de inflamasyona yol açtı ($p<0.001$). İDA-5 gurubundaki apoptoz kontrol ($p<0.005$) ve İDA 2.5 ($p<0.05$) gruplarından fazla idi. İDA-5 ile birlikte AMI verilince ise apoptoz kontrol gurubundan farklı değil iken ($p<0.05$), İDA 5 gurubundan daha azdı. Kalsiyum birikimi ise hiçbir ratta yoktu ve amifostinin de bir etkisi görölmedi ($p>0.05$).

Sonuçlar: Mitoksantronun yol açtığı akut kardiyotoksisitede lipid peroksidasyonunda rol oynamaktadır. Miyokard kendini hem lipid peroksidasyonu hem de serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerinden korumak için katalaz ve GSH düzeylerini arttırmaktadır. Histopatolojik olarak miyokardda inflamasyon, dejenerasyon, fibrozis ve apoptozu uyarır. Amifostin ise mitoksantronun yol açtığı lipid peroksidasyonunu azaltıp katalaz ve GSH düzeylerini arttırarak mitoksantronun yol açtığı akut kardiyotoksisiteyi azaltabilir. İdarubisinin ise miyokard dokusunda lipid peroksidasyonu, koruyucu enzimler ve GSH üzerine bir etkisi bulunmaz iken histopatolojik olarak yalnızca apoptozu uyardığı görölüdü. Bu neden ile idarubisinin yol açtığı akut kardiyotoksisite başka mekanizmalarla ortaya çıkabilir. Amifostin ise GSH düzeylerini arttırıp, apoptozu azaltarak idarubisin üzerinde kısmen etkili olabilmektedir.

Anahtar kelimeler: Amifostin, idarubisin, kardiyotoksisite, mitoksantron, rat.

KAYNAKLAR (VIII)

- 1) Wojtacki J, Lewicka-Nowak E, Lesniewski-Kmak K. Anthracycline-induced cardiotoxicity: clinical course, risk factors, pathogenesis, detection and prevention - review of the literature. *Med Sci Monit*, 2000;6(2):411-420
- 2) Wojtacki J: Powiklania kardiologiczne chemioterapii przeciwnowotworowej. *Pol Arch Med Wew*, 1998;100:470-482 (abstr).
- 3) Hochster H, Wasserheit C, Speyer J: Cardiotoxicity and cardioprotection during chemotherapy. *Curr Opin Oncol*, 1995; 7:304-309
- 4) Meriwether WD, Bachur NR. Inhibition of DNA and RNA metabolism by daunorubicin and adriamycin in L1210 mouse leukemia. *Cancer Res* 1972;32:1137-1142.
- 5) Tewey KM, Rowe TC, Yang L, et al. Adriamycin-induced DNA damage mediated by mammalian DNA topoisomerase II. *Science* 1984;226:466-468.
- 6) Doroshow JH. Effect of anthracycline antibiotics on oxygen radical formation in rat heart. *Cancer Res* 1983;43:460-472.
- 7) Rajagopalan S, Politi PM, Sinha BK, et al. Adriamycin-induced free radical formation in the perfused rat heart: Implications for cardiotoxicity. *Cancer Res* 1988;48:4766-4769.
- 8) Doroshow JH, Akman S, Chu F-F, et al. Role of the glutathione peroxidase cycle in the cytotoxicity of the anticancer quinones. *Pharmacol Ther* 1990;47:359-370
- 9) Doroshow JH, Davies KJ. Redox cycling of anthracyclines by cardiac mitochondria. II . Formation of superoxide anion, hydrogen peroxide, and hydroxyl radical. *J Biol Chem* 1986;261:3068-3074.
- 10) Fukuda F, Kitada M, Horie T, et al. Evaluation of adriamycin-induced lipid peroxidation. *Biochemical Pharmacology* 1992;44:755-760.
- 11) Faulds D, Balfour J.A, Chrisp P and Langtry H.D. Mitoxantrone. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and Therapeutic potential in the chemotherapy of cancer. *Drugs* 1991;41:400-449
- 12) Shan K, Lincoff AM, Young JB. Anthracycline-induced cardiotoxicity. *Ann Intern Med* 1996;125:47-58.
- 13) Andersson BS, Eksborg S, Vidal RF, et al. Anthraquinone-induced cell injury: acute toxicity of carminomycin, epirubicin, idarubicin and mitoxantrone in isolated cardiomyocytes. *Toxicology* 1999;135:11-20
- 14) Diwakar Jain MD. Cardiotoxicity of doxorubicin and other anthracycline derivatives. *Journal of nuclear cardiology* 2000; 7:53-62.
- 15) Kim E, Giri SN, Pessah IN. Antithetical actions of mitoxantrone and doxorubicin on ryanodine-sensitive Ca^{++} release channels of rat cardiac sarcoplasmic reticulum: evidence for a competitive mechanism. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;268:1212-21.
- 16) Borchmann P, Hubel K, Schnell R, et al. Idarubicin: a brief overview on pharmacology and clinical use. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1997;35:80-83.
- 17) Herman EH, Zhang J, Hasinoff BB, et al. Comparison of the structural changes induced by doxorubicin and mitoxantrone in the heart, kidney and intestine and characterization of the Fe(III)-mitoxantrone complex. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29:2415-30.
- 18) Viglione PN, Praprotnik A, Pinto JEB. In vitro evaluation of acute effects of mitoxantrone (Novantrone) in rat and guinea pig atria. *Pharmacol Toxicol* 1993;72:208-12.
- 19) Anderlini P, Benjamin RS, Wong FC, et al. Idarubicin cardiotoxicity: a retrospective study in acute myeloid leukemia and myelodysplasia. *J Clin Oncol* 1995;13:2827-34.

- 20) Myers CE, McGuire WP, Liss RH, et al. Adriamycin: The role of lipid peroxidation in cardiac toxicity and tumor response. *Science* 1977;197:165-7.
- 21) Gianni L, Myers CE. The role of free radical formation in the cardiotoxicity of anthracycline. In: Muggia FM, Green MD, Speyer JL (eds). *Cancer treatment and the heart*. 1st edition. Baltimore. Johns Hopkins University Press 1992:9-46.
- 22) Chautan M, Leonardi J, Calaf R, et al. Heart and liver membrane phospholipid homeostasis during acute administration of various antitumoral drugs to the rat. *Biochem Pharmacol* 1992;44:1139-47
- 23) Minotti G, Menna P, Salvatorelli E, et al. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacol Rev* 2004;56:185-229
- 24) Van Dalen EC, van der Pal HJH, Bakker PJM, et al. Cumulative incidence and risk factors of mitoxantrone-induced cardiotoxicity: a systematic review. *Eur J Cancer* 2004;40:643-652
- 25) Ghalie RG, Edan G, Laurent M, et al. Cardiac adverse effects associated with mitoxantrone (Novantrone) therapy in patients with MS. *Neurology* 2002;59:909-913
- 28) Santini V, Giles F. The potential of amifostine: from cytoprotectant to therapeutic agent. *Haematologica* 1999;84:1035-42
- 29) Capizzi RL. The preclinical basis for broad-spectrum selective cytoprotection of normal tissues from cytotoxic therapies by amifostine. *Seminars in Oncology* 1999;26(Suppl.7):3-21.
- 30) Yuhas JM, Storer JB. Differential chemoprotection of normal and malignant tissues. *J Natl Cancer Inst* 1969;42:331-5.
- 31) Yuhas JM, Culo F. Selective inhibition of the nephrotoxicity of cis-dichlorodiammineplatinum (11) by WR-2721 without altering its antitumor properties. *Cancer Treat Rep* 1980;64:57-64.
- 32) Foster-Nora JA, Siden R. Amifostine for protection from antineoplastic drug toxicity. *Am J Health-Syst Pharm* 1997;54:787-800.
- 33) Shaw LM, Bonner HS, Brown DQ. Metabolic pathways of WR-2721 (ethiol, amifostine) in the BALB/c mouse. *Drug Metab Disp* 1994;22:895-902.
- 34) Bolaman Z, Akalin N, Koseoglu MH, et al. Effect of amifostine pre-treatment against adriamycine-induced lipid peroxidation in rat heart. *Haema* 2003;6:61-4.
- 35) Nazeyrollas P, Frances C, Prevost A, et al. Efficiency of amifostine as a protection against doxorubicin toxicity in rats during a 12-day treatment. *Anticancer Res* 2003;23:405-410.
- 36) Links M, Lewis C. Chemoprotectants: a review of their clinical pharmacology and therapeutic efficacy. *Drugs* 1999;57:293-308.
- 37) Dobric S, Dragojevic-Simic V, Bokonjic D, et al. The efficiency of selenium, WR-2721, and their combination in the prevention of adriamycine-induced cardiotoxicity in rats. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 1998; 17: 291-299.
- 38) Weiss RB. The anthracyclines: will we ever find a better doxorubicin? *Semin Oncol* 1992;19:670-686.
- 39) Robert J. Epirubicin. Clinical pharmacology and dose-effect relationship. *Drugs* 1993;45:20-30.
- 40) Toffoli G, Sorio R, Aita P, et al. Dose-finding and pharmacologic study of chronic oral idarubicin therapy in metastatic breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2000;6:2279-2287.
- 41) Jonsson-Videsater K, Andersson G, Bergh J, and Paul C. Doxorubicin resistant, MRP1-expressing U-1285 cells are sensitive to idarubicin. *Ther Drug Monit* 2003;25:331-339.
- 42) Gonsette RE. Mitoxantrone in progressive multiple sclerosis: when and how to treat? *J Neurol Sci* 2003;206:203-208.
- 43) Koh E, Ueda Y, Nakamura T, et al. Apoptosis in young rats with adriamycin-induced cardiomyopathy—comparison with pirarubicin, a new anthracycline derivative. *Pediatr Res* 2002;51:256-259.

- 44) Dhingra K, Frye D, Newman RA, et al. Phase II clinical and pharmacological study of pirarubicin in combination with 5-fluorouracil and cyclophosphamide in metastatic breast cancer. *Clin Cancer Res* 1995;1:691–697.
- 45) Niitsu N, Yamazaki J, Nakayama M, and Umeda M. Pirarubicin-induced myocardial damage in elderly patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Nippon Ronen Igakkai Zasshi* 1998;35:358–362.
- 46) Case DC Jr, Ervin TJ, Boyd MA, et al. Phase II study of aclarubicin in acute myeloblastic leukemia. *Am J Clin Oncol* 1987;10:523–526
- 47) Ehninger G, Schuler U, Proksch B, et al. Pharmacokinetics and metabolism of mitoxantrone. A review. *Clin Pharmacokinet.* 1990 May;18(5):365-80.
- 48) Rosenberg LJ, Hittelman WN. Direct and indirect clastogenic activity of anthracenedione in Chinese hamster ovary cells. *Cancer Research* 1983;43:3270-3275.
- 49) Fidler JM, DeJoy QS, Gibbons Jr JJ. Selective immunomodulation by the antineoplastic agent mitoxantrone. Suppression of B lymphocyte function. *Journal of Immunology* 1986a;137:727-732.
- 50) Jamison JM, Krabill K, Flowers DG, et al. Enhancement of the antiviral activity of poly r(A-U) by ametantrone and mitoxantrone. *Life Sciences* 1990;46:653-661.
- 51) Ehninger G, Proksch B, Heinzl G, et al. Clinical pharmacology of mitoxantrone. *Cancer Treatment Reports* 1986;70:1373-1378.
- 52) Alberts DS, Peng YM, Bowden GT, et al. Mechanism of action and pharmacokinetics of Novantrone in intravenous and intraperitoneal therapy. *Proceedings of the Symposium on the current status of Novantrone* 1985b;21-24,
- 53) Lu K, Savaraj N, Loo LT. Pharmacological disposition of 1,4-dihydroxy-5,8-bis([2-[(2-hydroxymethyl)amino]ethyl]amino}-9,10-anthracenedione dihydrochloride in the dog. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 1984;13:63-66.
- 54) Alberts DS, Balcerzak SP, Bonnet JD, et al. Phase II trial of mitoxantrone in multiple myeloma: a Southwest Oncology Group Study. *Cancer Treatment Reports* 69: 1321-1323, 1985a
- 55) Smyth JF, Macpherson JS, Warrington PS, et al. The clinical pharmacology of mitoxantrone. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 1986;17:149-152.
- 56) Brusamolino E, Bertini M, Guidi S, et al. CHOP versus CNOP (N = mitoxantrone) in non-Hodgkin's lymphoma: an interim report comparing efficacy and toxicity. *Haematologica* 1988;73:217-222.
- 57) Brodie GN, Elefanty A. Breast cancer. Advances in management. *Drugs* 1988;35:584-595.
- 58) Kantarjian HM, Walters RS, Keating MJ, et al. Treatment of the blastic phase of chronic myelogenous leukemia with mitoxantrone and high-dose cytosine arabinoside. *Cancer* 1988;62:672-676.
- 59) Edward J, Fox MD. Mechanism of action of mitoxantrone *NEUROLOGY* 2004;63:15-18
- 60) Lejeune C, Tubiana N, Gastaut JA, et al. High-dose cytosine arabinoside and mitoxantrone in previously-treated acute leukemia patients. *European Journal of Haematology* 1990;44:240-243.
- 61) Amrein PC, Davis RB, Mayer RJ, et al. Treatment of relapsed and refractory acute myeloid leukemia with diaziquone and mitoxantrone: a CALGB phase I study. *American Journal of Hematology* 1990;35:80-83
- 62) Coleman R, Clarke J, Gore M, et al. A phase II study of mitoxantrone in advanced carcinoma of the ovary. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 1989;24:200-202.
- 63) Lai K-H, Tsai Y-T, Lee S-D, et al. Phase II study of mitoxantrone in unresectable primary hepatocellular carcinoma following hepatitis B infection. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 1989;23:54-56.

- 64) Markman M, George M, Hakes T, et al. Phase II trial of intraperitoneal mitoxantrone in the management of refractory ovarian cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1990;8:146-150.
- 65) Shepherd FA, Ewans WK, Blackstein ME, et al. Hepatic arterial infusion (HAI) of mitoxantrone (MIT) in the treatment of primary hepatocellular carcinoma (HCG). Abstract S-70-10. 14th International Congress of Chemotherapy, Kyoto, Japan, 1985;239:23-28.
- 66) Luo SK, Li J, Hong WD, et al. Preliminary report of fludarabine, mitoxantrone and dexamethasone in treating refractory or relapsed multiple myeloma. *Ai Zheng*. 2005 Dec;24(12):1518-21
- 67) M.I. Gharib, A.K. Burnett Chemotherapy-induced cardiotoxicity: current practice and prospects of prophylaxis. *European Journal of Heart Failure* 2002;4:235-242
- 68) Lawton PA, Ostrowski MJ, Young T, et al. Efficacy and toxicity of single agent chemotherapy in advanced breast carcinomas. Abstract. *British Journal of Cancer* 1990;61:177.
- 69) Longueville J. Mitoxantrone: review of effectiveness and side effects. *Proceedings of the International Symposium on Senology, Belgium*. pp. 1985;343-363.
- 70) Falkson G, Klein B, Falkson H. Hematological toxicity: experience with anthracyclines and anthracenes. *Experimental Hematology* 1985;13 (Suppl. 16):64-71
- 71) Ventura GJ, Keating MJ, Castellanos AM, et al. Reversible bilateral lateral rectus muscle palsy associated with high dose cytosine arabinoside and mitoxantrone therapy. *Cancer* 1986;58:1633-1635.
- 72) Kumar L, Kochipillai V. Mitoxantrone induced hyperpigmentation. *New Zealand Medical Journal* 1990;103:55.
- 73) Peters FTM, Beijnen JH, ten Bokkei Huinink WW. Mitoxantrone extravasation injury. *Cancer Treatment Reports* 1987;71:992-993.
- 74) Griffiths KD, Parry DH. Hypomagnesaemia and hypocalcaemia after treatment with mitoxantrone. *British Medical Journal* 1988;297:488.
- 75) Taylor WB, Cantwell BMJ, Roberts JT, et al. Allergic reactions to mitoxantrone. Correspondence. *Lancet* 1986;1: 1439.
- 76) Shenkenberg TD, Von Hoff DD. Possible mitoxantrone-induced amenorrhea. *Cancer Treatment Reports* 1986b;70:659.
- 77) Arlin Z, Case Jr DC, Moore J, et al. Randomized multicenter trial of cytosine arabinoside with mitoxantrone or daunorubicin in previously untreated adult patients with acute nonlymphocytic leukemia (ANLL). *Leukemia* 1990;4:177-183.
- 78) Crossley RJ. Clinical safety and tolerance of mitoxantrone *Seminars in Oncology* 1984;11 (Suppl. 1):54-58.
- 79) Villani F, Galimberti M, Crippa F. Evaluation of ventricular function by echocardiography and radionuclide angiography in patients treated with mitoxantrone. *Drugs Under Experimental and Clinical Research* 1989;15:501-506.
- 80) Carmo-Pereira J, Costa FO, Henriques E, et al. Primary chemotherapy with mitoxantrone and prednisone in advanced breast carcinoma. A phase II study. *European Journal of Cancer and Clinical Oncology* 1988;24:473-476.
- 81) Cassidy J, Merrick MV, Smyth JF, et al. Cardiotoxicity of mitoxantrone assessed by stress and resting nuclear ventriculography. *European Journal of Cancer and Clinical Oncology* 1988;24:935-938.
- 82) Poirier TL. Mitoxantrone. *Drug Intelligence and Clinical Pharmacy* 1986;20: 97-105.
- 83) Dukart G, Iatropoulos MJ, Yacobi A. Comment on mitoxantrone. *Drug Intelligence and Clinical Pharmacy* 1985;19:216-218.
- 84) Henderson IC, Allegra JC, Woodcock T, et al. Randomized clinical trial comparing mitoxantrone with doxorubicin in previously treated patients with metastatic breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* 1989;7:560-571.

- 85) Banning JW, Abramson HN, Wormser HC, et al. TH. Relative cardiotoxicity and cytotoxicity of anthraquinonyl glucosaminosides. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 1987;19:207-212.
- 86) Lisa M, Hollingshead and Diana Faulds. Idarubicin: A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential in the chemotherapy of cancer. *Drugs* 1991;42:690-719
- 87) Lazzarino G, Viola AR, Mulieri L, et al. Prevention by fructose-1, 6-biphosphate of cardiac oxidative damage induced in mice by subchronic doxorubicin treatment. *Cancer Research* 1987;47:6511-6516.
- 88) Capranico G, Riva A, Tinelli S, et al. Markedly reduced levels of anthracycline-induced DNA strand breaks in resistant P388 leukemia cells and isolated nuclei. *Cancer Research* 1987;47:3752-3756.
- 89) Cairo MS, Toy C, Sender L, et al. Effect of idarubicin and epirubicin on *in vitro* polymorphonuclear function: diminished superoxide radical formation compared to their parent compounds daunorubicin and doxorubicin. *Journal of Leukocyte Biology* 1990;47:224-233.
- 90) Penco S, casazza AM, Franchi G, et al. Synthesis, antitumor activity, and cardiac toxicity of new 4-demethoxyanthracyclines. *Cancer Treatment Reports* 1983;67:665-673.
- 91) K. Savaraj N, Kavanagh J, Feun LG, et al. Clinical pharmacology of 4-demethoxydaunorubicin (DMDR). *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 1986;17:143-148.
- 92) Gillies HC, Herrion D, Liang R, et al. Pharmacokinetics of idarubicin (4-demethoxydaunorubicin; IMI-30; NSC 256439) following intravenous and oral administration in patients with advanced cancer. *British Journal of clinical Pharmacology* 1987;23:303-310.
- 93) Reid JM, Pendergrass TW, Krailo MD, et al. Plasma pharmacokinetics and cerebrospinal fluid concentrations of idarubicin and idarubicinol in pediatric leukemia patients: a childrens cancer study group report. *Cancer Research* 1990;50:6525-6528.
- 94) Stewart DJ, GrewaalD, Green RM, et al. Bioavailability and pharmacology of oral idarubicin. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 1991;27:308-314.
- 95) Elbaek K, Ebbelohj E, Jakobsen A, et al. Pharmacokinetics of oral idarubicin in breast cancer patients with reference to antitumor activity and side effects. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 1989;45:627-634.
- 96) TamassiaV, Pacciarini MA, Moro E, et al. Pharmacokinetic study of intravenous and oral idarubicin in cancer patients. *International Journal of Clinical Pharmacology Research* 1987;7:419-426.
- 97) Martin S, Tallman D, Gary Gilliland and Jacob M. Rowe. Drug therapy for acute myeloid leukemia. *Blood*, 2005;volume 106:number 4
- 98) Pastore D, Specchia G, Carluccio P, et al. FLAG-IDA in the treatment of refractory/relapsed acute myeloid leukemia: single center experience. *Ann Hematol.* 2003;82:231-235
- 99) Yavuz S, Paydas S, Disel U, et al. IDA-FLAG regimen for the therapy of primary refractory and relaps acute leukemia: A single-center experience. *American Journal of therapeutics* 2006;13:389-393
- 100) Engert A, Schnell R, Kupper F, et al. A phase II study with idarubicin, ifosfamide and VP-16 (IIVP-16) in patients with refractory or relapsed aggressive and high grade non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 1997;24:513-522
- 101) Abalı H, Koç Y, Oyan B, et al. IIVP salvage regimen induces high response rates in patients with relapsed HD or NHL prior to autologous HSCT. *Blood*. 2002;100:4714a

- 102) Oyan B, Koç Y, Özdemir E, et al. Ifosfamide, idarubicin and etoposide in relapsed / refractory hodgkin disease or non hodgkin lymphoma: A salvage regimen with high response rates before autologous stem cell transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 2005;11:688-697
- 103) D. Crivellari, D. Lombardi, G. Corona, et al. Innovative Schedule of oral idarubicin in elderly patients with metastatic breast cancer: comprehensive results of a phase II multi-institutional study with pharmacokinetic drug monitoring. *Annals of Oncology* 2006;17:807-812
- 104) R. Frenk, P. Schneider, M. Kropff, et al. High dose idarubicin, cyclophosphamide and melphalan as conditioning for autologous stem cell transplantation increases treatment-related mortality in patients with multiple myeloma: results of a randomised study. *British J of Haematology*, 2005;130: 588-594
- 105) Cook G, Clark RE, Morris TC, et al. A randomized study (WOS MM1) comparing the oral regime Z-dex (idarubicin and dexametasone) with vincristine, adriamycin and dexametasone as induction therapy for newly diagnosed patients with multiple myeloma. *British J of Haematology*, 2004;126:792-798
- 106) Glasmacher A, Goldschmidt H, Mezger J, et al. Oral idarubicin, dexametasone and vincristine in the treatment of multiple myeloma: final analysis of a phase II trial. *Haematologica*, 2004;89:371-373
- 107) Salva-Martin KM, Wiernik PH. Focus on idarubicin: an anthracycline analogue with significant activity against acute leukemia. *Hospital Formulary* 1990;25:143-1156.
- 108) Cavalli F, Kaplan S, Varini M, et al. Phase-I trial with 4-demethoxydaunorubicin. In Muggia F. et al. (Eds) *Anthracycline antibiotics in cancer therapy*. Martinus Nijhoff, The Hague. 1982;495-503.
- 109) Anderlini P, Benjamin RS, Wong FC, et al. Idarubicin cardiotoxicity: a retrospective study in acute myeloid leukemia and myelodysplasia. *J Clin Oncol* 1995;13:2827-34.
- 110) Steinherz L, Steinherz P, Tan Ch et al. Cardiac toxicity 4 to 20 years after completing anthracycline therapy. *JAMA* 1991;266:1672-1677
- 111) Drzewoski J, Kasznicki J. Kardiotoxyczne leków przeciwnowotworowych. *Acta Haematologica Polonica* 1992;23:79-86 (Abstract).
- 112) Allen A. The cardiotoxicity of chemotherapeutic drugs. *Semin Oncol*, 1992;19:529-542.
- 113) Von Hoff D, Rozenweig M, Piccart M. The cardiotoxicity of anticancer agents. *Semin Oncol* 1982;9:23-33
- 114) Freiss G, Boyd J, Geer M, et al. Effects of first-dose doxorubicin on cardiac rhythm as evaluated by continuous 24-hour monitoring. *Cancer*, 1985;56:2762-2764
- 115) Lacasse Y, Bolduc P. Sudden death in leukemic patients treated with doxorubicin. *Can J Cardiol*, 1992;8:53-56
- 116) Lipshultz S, Colan S, Gelber R et al. Late cardiac effects of doxorubicin therapy for acute lymphoblastic leukemia in childhood. *N Eng J Med*, 1991;324:808-815
- 117) Steinherz LJ, Steinherz PG, Tan C. Cardiac failure and dysrhythmias 6-19 years after anthracycline therapy: a series of 15 patients. *Med Pediatr Oncol*. 1995 Jun;24(6):352-61
- 118) Evans SA, Cooke JN. Cardiac effects of anthracycline treatment and their implications for aeromedical certification. *Aviat Space Environ Med*. 2003 Sep;74(9):1003-8
- 119) Doroshow J. Doxorubicin-induced cardiac toxicity. Editorial. *N Eng J Med* 1991;324:843-845
- 120) Ito H, Miller S, Billingham M et al. Doxorubicin selectively inhibits muscle gene expression in cardiac muscle cells in vivo and in vitro. *Proc Natl Acad Sci*, 1990;87:4275-4279
- 121) Decorti G, Candussio L, Bartoli-Klugman F et al. Adriamycin-induced histamine release from heart tissue in vitro. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1997;40:363-366

- 122) Wang YM, Madanat FF, Kimball JC, et al. Effect of vitamin E against Adriamycin-induced toxicity in rabbits. *Cancer Res* 1980;40:1022-1027
- 123) Herman EH, Ferrans VJ. Amelioration of chronic anthracycline cardiotoxicity by ICRF-187 and other compounds. *Cancer Treat Rev* 1987;14:225-229
- 124) Dresdale AR, Barr LH, Bonow Ro, et al. Prospective randomized study of the rol of N-acetyl cysteine in reversing doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Am J Clin Oncol* 1982;5:657-663
- 125) Akimoto H, Bruno NA, Slate DL, et al. Effect of verapamil on doxorubicin cardiotoxicity: Altered muscle gene expression in cultured neonatal rat cardiomyocytes. *Cancer Res* 1993;53:4658-4664
- 126) Dorr RT. Cytoprotective agents for anthracyclines. *Semin Oncol* 1996;23:23-34
- 127) Legha SS, Wang Ym, Mackay B, et al. Clinical and pharmacologic investigation of the effects of α tocopherol on Adriamycin cardiotoxicity. *Ann N Y Acad Sci* 1982;393:411-418
- 128) Stroo We, Olson RD, Boerth RC. Efficacy of sulfhydryl compounds as inhibitors of iron-dependent doxorubicin-enhanced lipid peroxidation. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1985;48:291-303
- 129) Doroshow JH. Prevention of doxorubicin-induced killing of MCF-7 human breast cancer cells by oxygen radical scavengers and iron chelating agents. *Biochem Biophys Res Commun* 1986;135:330-335
- 130) Speyer JL, Gren MD, Zeleniuch-Jacquotte A, et al. ICRF-187 permits longer treatment with doxorubicin in women with breast cancer. *J Clin Oncol* 1992;10:117-127
- 131) Siveski-Iliskovic N, Kaul N, Singal PK. Probucol promotes endogenous antioxidants and provides protection against adriamycin-induced cardiomyopathy in rats. *Circulation*. 1994;89:2829-35.
- 132) Narin F, Demir F, Akgün H et al. Doxorubicin-induced experimental cardiotoxicity and effect of l- tryptophan on cardiotoxicity. *Erciyes Medical Journal* 2005;27:7-16.
- 133) Demir F, Narin F, Akgün H, et al. Doxorubicin-induced experimental cardiotoxicity and effect of melatonin on cardiotoxicity. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2004;47:260-268
- 134) Davidson DE, Grenan MM, Sweeney TR. Biological characteristics of some improved radioprotectors, In Anonymous Radiation Sensitizers. New York, NY, Masson 1980; pp:309-320.
- 135) Yuhas JM, Spellman JM, Culo F. The role of WR-2721 in radiotherapy and/or chemotherapy, in Bradley LW (ed): Radiation Sensitizers. New York, NY, Masson, 1980:303-308.
- 136) Millar JL, McElwain TJ, Clutterbuck RD, et al. The modification of melphalan toxicity in tumor bearing mice by WR2721. *Am J Clin Oncol* 1982;5:321-328.
- 137) Pierson MG, Moller AR. Prophylaxis of kanamycin-induced ototoxicity by a radioprotectant. *Hear Res* 1981;4:79-87
- 138) Allalunis-Turner MJ, Siemann DW. Modification of cyclophosphamide-induced pulmonary toxicity in normal mice. *NCI Monogr* 1988;6:51-53.
- 139) Down JD, Laurent GJ, McAnulty RJ, et al. Oxygen-dependent protection of radiation lung damage in mice by WR2721. *Int J Radiat Biol* 1984;46:597-607.
- 140) Muller LJ, Moorer-Van Delft CM, Treskes M, et al. Properties of WR2721 as modulator of cisplatin-induced neurotoxicity studied at the ultrastructural level in the pond snail *Lymnaea stagnalis*. 1993;2:701-710.
- 141) Kataoka Y, Basic I, Perin J, et al. Antimutagenic effects of radioprotector WR2721 against fission-spectrum neutrons and ^{60}Co gamma-rays in mice. *Int J Radiat Biol* 1992;61:387-392.

- 142) Littlefield LG, Joiner EE, Colyer Sp, et al. Concentration-dependent protection against X-ray induced chromosome aberrations in human lymphocytes by the aminothiol WR1065. *Radiat Res* 1993;133:88-93
- 143) Calabro-Jones PM, Aguilera JA, Ward JF, et al. Uptake of WR-2721 derivatives by cells in culture: Identification of the transported form of drug. *Cancer Res* 1988;48:3634-3640.
- 144) Smoluk GD, Fahey RC, Calabro-Jones PM, et al. Radioprotection of cells in culture by WR-2721 and derivatives: Form of the drug responsible for protection. *Cancer Res* 1988;48:3641-3647.
- 145) Utley JF, Seaver N, Newton GL, et al. Pharmacokinetics of WR-1065 in Mouse tissue following treatment with WR-2721. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1984;10:1525-1528.
- 146) Mangold DJ, Huelle BK, Miller MA, et al. Pharmacokinetics and disposition of WR1065 in the rhesus monkey. *Drug Metab Disp* 1990;18:281-287.
- 147) Utley JF, Marlowe C, Waddell WJ. Distribution of S-labeled WR -2721 in normal and malignant tissues of the mouse. *Radiat Res* 1976;68:284-291.
- 148) Rasye JS, Grunbaum Z, Krohn KA, et al. Biodistribution of the radioprotective drug S-labeled 3-amino-2-hydroxypropyl phosphorothioate (WR77913). *Radiat Res* 1985;102:130-137.
- 149) Yuhas JM. Active versus passive absorption kinetics as the basis for selective protection of normal tissues by S-2-(3 aminopropylamino)-ethylphosphorothioic acid. *Cancer Res* 1980;40:1519-1524.
- 150) Calabro-Jones PM, Fahey RC, Smoluk GD, et al. Alkaline phosphatase promotes radioprotection and accumulation of WR-1065 in V79-171 cells incubated in medium containing WR-2721. *Int J Radiat Biol* 1985;47:23-27.
- 151) Yang JL, Fernandes DJ, Speicher L, et al. Biochemical determinants of the cytoprotective effect of amifostine. *Proc AM Assoc Cancer Res* 1996;36:290.
- 152) Capizzi RL. Amifostine: the preclinical basis for broad-spectrum selective cytoprotection of normal tissues from cytotoxic therapies. *Semin Oncol* 1996;23:2-17.
- 153) McCauley DL. Amifostine: a novel cytoprotective agent. *Cancer Pract* 1997;5:189-191.
- 154) Paine GD, Taylor CW, Lopez MH, et al. Effects of amifostine and paclitaxel on growth of human ovarian carcinoma xenografts in the severe combined immune-deficient mouse: preliminary results. *Semin Oncol* 1996;23:35-39.
- 155) Treskes M, van der Vijgh WJ. WR 2721 as a modulator of cisplatin- and carboplatin-induced side effects in comparison with other chemoprotective agents: A molecular approach. *Cancer Chemother Pharmacol* 1993;33:93-106.
- 156) Treskes M, Nijtmans LG, Fichtinger-Schepman AM, et al. Effects of the modulating agent WR2721 and its main metabolites on the formation and stability of cisplatin-DNA adducts in vitro in comparison to the effects of thiosulphate and diethyldithiocarbamate. *Biochem Pharmacol* 1992;43:1013-1019.
- 157) Ramakrishnan N, Catravas GN. WR-1065 protects thymocytes from programmed cell death. *J Immunol* 1992; 148:1817-1821.
- 158) Ohnishi ST, Ohnishi T, Glick JH, Schein PS. In vitro study on the antioxidant activities of amifostine (WR-2721). *Proc Am Assoc Cancer Res* 1992;33:419 (abstr).
- 159) Bhanumathi P, Saleesh ED, Vasudevan DM. WR-1065 as a chemoprotector in adriamycin chemotherapy. *Cancer Letters* 1994;81:171-175.
- 160) Rigatos S, Stathopoulos G, Dontas I, et al. Investigation of doxorubicin tissue toxicity: Does amifostine provide chemoprotection? An experimental Study. *Anticancer Research* 2002;22:129-134.
- 161) Griggs JJ. Reducing the toxicity of anticancer therapy: new strategies. *Leuk Res* 1998;22:27-33.

- 162) Kemp G, Rose P, et al. Amifostine pretreatment for protection against cyclophosphamide-induced and cisplatin-induced toxicities. *J Clin Oncol* 1996;14:2101-2112.
- 163) Alberts DS, Speicher LA, Krutzsch M, et al. Wr-1065, the active metabolite of amifostine, does not inhibit the cytotoxic effects of a broad range of standard anticancer drugs against human ovarian and breast cancer cells. *Eur J Cancer* 1996; 32:17-20.
- 164) Buresh CM, Baker KS. Fever and rash after amifostine therapy. *J Pediatr Hematol Oncol* 1998;20:361-363.
- 165) Capizzi RL. Clinical status and optimal use of amifostine. *Oncology* 1999;13:47-59.
- 166) Spencer C, Goa K. Amifostine. *Drugs* 1995;50:1001-1035.
- 167) Ma TY, Hollander D, Freeman D, et al. Oxygen free radical injury of IEC-18 small intestine cell monolayers. *Gastroenterology* 1991;100:1533-43.
- 168) Keshavarzian A, Sedghi S, Kanofsky J, et al. Excessive production of oxygen metabolites by inflamed colon: Analysis by chemiluminescence probe. *Gastroenterology* 1992;103:177-85.
- 169) Simmonds NJ, Rampton DS. Inflammatory bowel disease- A radical view. *Gut* 1993;34:855-68.
- 170) Kadıköylü G, Yazanel O, Ayyıldız O, et al. Serbest oksijen radikalleri ve inflamatuvar barsak hastalığı. *Klinik seriler* 1994;4:47-50.
- 171) Allen RG, Venkatraj VS. Oxidant and antioxidants in development and differentiation. *J Nutr* 1992; 122:631-5
- 172) Tamer L, Polat G, Eskandari G, et al. Serbest radikaller. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2000;1:52-8.
- 173) Billingham ME, Mason JW, Bristow MR, et al. Anthracycline cardiomyopathy monitored by morphological changes. *Cancer Treat Rep* 1978;62:865-72.
- 174) Herman EH, Zhang J, Chadwick DP, et al. Age dependence of the cardiac lesions induced by minoxidil in the rat. *Toxicology* 1996;110:71-83.
- 175) Nebot C, Moutet M, Huet P, et al. Spectrophotometric assay of superoxide dismutase activity based on the activated autooxidation of a tetracyclic catechol. *Analytic Biochemistry* 1993;214:442-51.
- 176) F. Ursini, M. Maiorino, R. Brigellius-Flohe, et al. Flohe Meth In *Enzymol.* 1995;252:38-53.
- 177) Fossati P, Perencipe L, Berti G. Use of 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid/4-aminophenazone chromogenic system in direct enzymic assay of uric acid in serum and urine. *Clin Chem* 1980;26:227-31.
- 178) Erdelmeier İ, Gerard – Monnier D, Yadan JC, et al. Reactions of N-methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals. Mechanistic aspects of the colorimetric assay of lipid peroxidation. *Chem Res Toxicol* 1998;11:1184-94.
- 179) Gerard – Monnier D, Erdelmeier İ, Regnard K, et al. Reactions of 1-Methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals. Analytical applications to a colorimetric assay of lipid peroxidation. *Chem Res Toxicol* 1998;11:1176-83.
- 180) Meister, A. And M.E. Anderson, Glutathione, *Annual Review of Biochemistry*, 1983;52:711-760.
- 181) Kalender S, Kalender Y, Ates A, et al. Protective role of antioxidant vitamin E and catechin on idarubicin-induced acute cardiotoxicity in rats. *Braz J Med Biol Res* 2002;35:1379-1387.
- 182) Herman EH, Zhang J, Rifai N, et al. The use of serum levels of cardiac troponin T to compare the protective activity of dexrazoxane against doxorubicin- and mitoxantrone-induced cardiotoxicity. *Cancer Chemother Pharmacol* 2001;48:297-304.
- 183) Koutinos G, Stathopoulos GP, Dontas I, et al. The effect of doxorubicin and its analogue mitoxantrone on cardiac muscle and on serum lipids: an experimental study. *Anticancer Research* 2002;22:815-820.

- 184) Kang W, Weiss M. Modelling the metabolism of idarubicin to idarubicinol in rat heart: effect of rutin and phenobarbital. *Drug Metab Dispos* 2003;3:462-468.
- 185) Kang W, Weiss M. Caffeine enhances myocardial uptake of idarubicin but reserves its negative inotropic effect. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2003;367:151-155.
- 186) Platel D, Pouna P, Bonoron-Adele S, et al. Comparative cardiotoxicity of idarubicin using the isolated perfused rat heart model. *Anticancer Drugs* 1999;10:671-676.
- 187) Weiss M, Giessler C, Kang W. Effects of idarubicin and idarubicinol on rat coronary resistance and vasoconstrictor responsiveness of isolated aorta and mesentery. *Anticancer Drugs* 2006;17:69-74.
- 188) Plande J, Platel D, Tariosse L, et al. Experimental study of dexrazoxane-anthracycline combinations using the model of isolated perfused rat heart. *Toxicol Lett* 2006;161:37-42.
- 189) de Campos Nebel M, Larripa I, Gonzalez-Cid M. Differential antigenotoxic and cytoprotective effect of amifostine in idarubicin-treated mice. *Environ Mol Mutagen.* 2002; 39:3-9.
- 190) Bouhour JB, Chiffolleau S, Delajarte AY. Experimental study of the subacute toxicity of mitoxantrone and doxorubicin in rats (subcutaneous and/or intraperitoneal route). *Arch Mal Coeur Vaiss* 1986;79:1238-1244.
- 191) Jackson JA, Reeves JP, Muntz KH, et al. Adriamycin-induced free radical effects and catecholamine alterations in adriamycin cardiotoxicity. *Am J Pathol* 1984;117:140-153.
- 192) Bolaman Z, Cicek C, Kadikoylu G, et al. The protective effects of amifostine on adriamycin-induced acute cardiotoxicity in rats. *Tohoku J Exp Med* 2005;207:249-253.
- 193) Cigremis Y, Parlakpınar H, Polat A, et al. Beneficial role of aminoguanidine on acute cardiomyopathy related to doxorubicin-treatment. *Mol Cell Biochem* 2006; DOI: 10.1007/s11010-005-9072-8.
- 194) Minotti G, Cairo G, Monti E. Role of iron in anthracycline cardiotoxicity: new tunes for an old song) *FASEB Journal* 1999;13:199-212.
- 195) Kang YJ, Chen Y, Epstein PN. Suppression of doxorubicin cardiotoxicity by overexpression of catalase in heart of transgenic mice. *J Biol Chem* 1996;271:12610-12616.
- 196) Kirkman HN, Rolfo M, Ferraris AM, Gaetani GF. Mechanisms of protection of catalase by NADPH. Kinetics and stoichiometry. *J Biol Chem* 1999; 274:13908-13914.
- 197) Doroshow JH, Locker GY, Myers CE. Enzymatic defenses of the mouse heart against reactive oxygen metabolites: alterations produced by doxorubicin. *J Clin Invest* 1980; 65:128-135.
- 198) Chen Y, Saari JT, Kang YJ. Weak antioxidant defenses make the heart a target for damage in copper-deficient rats. *Free Radical Biol Med* 1994;17:529-536.
- 199) Yen HC, Oberly TD, Vichitbandha S, et al. The protective role of manganese superoxide dismutase against adriamycin-induced acute cardiac toxicity in transgenic mice. *J Clin Invest* 1997;98:1253-1260.
- 200) Ursini F, Maiorino M, Brigelius-Flohe R, et al. Diversity of glutathione peroxidases. *Methods Enzymol* 1995;252:38-53.
- 201) Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006;160:1-40.
- 202) Dorr RT, Lagel K, McLean S. Cardioprotection of rat heart myocytes with amifostine (ethyol) and its free thiol, WR-1065, in vitro. *Eur J Cancer* 1996;32A (suppl.4):S23-S25.
- 203) Kojima S, Icho T, Hayashi M, et al. Inhibitory effect of 5,6,7,8-tetrahydroneopterin on adriamycin-induced cardiotoxicity. *J Pharmacol Exp Ther* 1993;266:1699-1704.
- 204) Pritsos CA, Sokoloff M, Gustafson DL. PZ-51 (Ebselen) in vivo protection against adriamycin-induced mouse cardiac and hepatic lipid peroxidation and toxicity. *Biochem Pharmacol* 1992;44:839-841.

- 205) Nazeyrollas P, Prevost A, Baccard N, et al. Effects of amifostine on perfused isolated rat heart and on acute doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Cancer Chemother Pharmacol* 1999; 43:227-232.
- 206) Jahnukainen K, Jahnukainen T, Toivo T, et al. Amifostine protects against but not late toxic effects of doxorubicin in infant rats. *Cancer Research* 2001;61:6423-6427.
- 207) Nazeyrollas P, Frances C, Prevost A, et al. Efficiency of amifostine as a protection against doxorubicin toxicity in rats during a 12-day treatment. *Anticancer Research* 2003;23:405-409.
- 208) Toko H, Zhu W, Takimoto E, et al. Csx/Nkx2-5 is required for homeostasis and survival of cardiac myocytes in adult heart. *J Biol Chem* 2002;277:24735-24743.
- 209) Dragojevic-Simic VM, Dobric SLJ, Bokonjic DR, et al. Amifostine protection against doxorubicin cardiotoxicity in rats. *Anti-Cancer Drugs* 2004;15:169-178.