

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**SİPROFLOKSASİNİN SIÇANLARDA DOKSORUBİSİNİN
FARMAKOKİNETİĞİNE ETKİSİ: CYP1A1, CYP1A2,
CYP2J3 VE CYP3A1 GENLERİNİN ROLÜ**

ANDLEEB SHAHZADİ

**DANIŞMAN
PROF. DR. ZELİHA YAZICI**

**TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ FARMAKOLOJİ VE KLİNİK FARMAKOLOJİ
PROGRAMI**

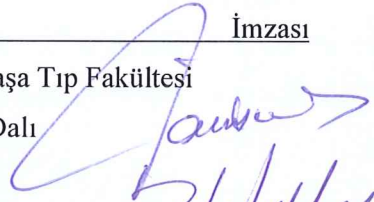
İSTANBUL-2014

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Lisansüstü Programında Andleeb SHAHZADI tarafından hazırlanan Sipprofloksasinin sıçanlarda doksorubisinin farmakokinetiğine etkisi: CYP1A1, CYP1A2, CYP2J3 ve CYP3A1 genlerinin rolü başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

22 / 08 / 2014

Tez Sınav Jürisi

<u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>	<u>İmzası</u>
1.Prof. Dr. A. Gökhan AKKAN İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	
2.Prof. Dr. Zeliha YAZICI (Danışman) İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	
3.Prof. Dr. Öner SÜZER (Tez izleme komitesi üyesi) İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	
4.Prof. Dr. H. Oktay SEYMEN (Tez izleme komitesi üyesi) İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	
5.Prof. Dr. Atilla KARAALP Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Andleeb
Shahzadi
Andleeb SHAHZADI

İTHAF

Sevgili Aileme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

During the course of this PhD study, several people from my professional and personal life have helped me for which I will try to acknowledge all of them. Firstly, I cannot but thank my promoter and esteemed supervisor, Prof. Dr. Zeliha YAZICI for accepting me as a PhD student. I still remember when I met her for the first time at Istanbul University, Medical Pharmacology department I immediately felt her warmth and friendliness. I always admire you for your immense experience, knowledge, enthusiasm and vision about the science. My heartfelt thanks, for your kind supervision, scholastic guidance, critical remarks on my drafts and patience to overcome bureaucratic hurdles. It was a great honor and pleasure to work with you, which shaped not only this project but also the course of my future career.

To Prof. Dr. Ahmet Gökhan AKKAN the chairman of Medical Pharmacology, Cerrahpasa Medical Faculty, I am deeply grateful for your irreplaceable help. I feel scarcity of words to express my emotions of appreciation and gratitude for your countless hours of support during day-to-day assistance. You are such a detailed person and I feel lucky to have had you on my side during this whole period. I have benefitted from your professional skills in scholastic suggestions. I cannot but thank you for incentive teaching and moral support.

I wish to express my earnest thanks and deep appreciation to Prof. Dr. Öner SÜZER for skilful guidance, for teaching and enabling me to operate Langendorff Technique, for constructive suggestions and above all your patience. Your professional skills and in particular your advice helped me to keep focused. I offer my sincere thanks for your scientific and personal support.

I would like to acknowledge Prof Dr. Mustafa ÖZEN chairman Medical Genetics department who enabled me in conducting the genetics part of this thesis in his laboratory and let me use the available resources. I would like to express my deepest thanks to Omer FARKUS and Esra GÜZEL from Medical Genetics department for their endless support in conducting the genetics experiment. Thank you for your moral support and encouragement.

I offer my sincere thanks to Prof. Dr. Cihat KÜÇÜKHÜSEYİN, Prof. Dr. Mustafa Aydın BARLAS, Prof. Dr. Dündar Okan YILLAR and Prof. Dr. Sibel Özmen ÖZYAZGAN for kind support in improving my theoretical background of pharmacology, for incentive teaching, dynamic supervision and moral support.

I deem it utmost pleasure to avail the opportunity to express my deep sense of devotion to my committee members Prof. Dr. Hakkı Oktay SEYMEN and Prof. Dr. Atila KARAALP.

My sincere indebtedness is extended to Dr. Ali Boray BASÇI for useful discussions and valuable suggestion and indispensable support and guidance in conduction of the Langendorff experiments.

I would like to acknowledge Ceren EYİLETEN for our discussions about Langendorff Technique and your kind help in conducting these experiments. All of above giving your precious time for the traslation and manuscript editing.

I am also thankful to Çağla KARAKULAK and İkbāl SÖNMEZ for their help in conducting the remaining experiments of this project, thesis writing, travelling together, cheerful company and social gatherings.

Special thanks Dr. Enes KARABULAT for your help in translating of this project from English to Turkish. To Hande ERDAL, Tuğçe USKUR and Semih CANAN for your friendship and help in sorting out my problems and thanks for your endless encouragement– sincere thanks to all my friends for everything you have done for me. Special thanks to thanks to Oruc ALLAHVERDIYEV, Burak ÖNAL and Cemre KANDIL who helped me in taking the quotations required to purchase the different experimental materials and their help in conducting ELISA experiments.

To Esmā KARAASLAN for nice and cheerful company during the past four years. Thanks for being co-sharer of my struggle, arranging New Year & birthday parties, lunchtime company, nice jokes and countless cups of Turkish coffee we shared during this whole period. I wish you all the health and prosperity.

I appreciate the support of local staff– Necmi TÜRKER, İbrahim KOÇER, Faruk ÇAĞMAN and Osman TATLI for analytical and labor work.

I wish to record my sincere appreciation to my brothers Adeel HUSSAIN and Adil HUSSAIN for their endless support, for your cheerful company and cracking nice jokes.

Last but not least I want to thank my affectionate parents, my father always inspired me and guided me in every field of life. Due to his kind support and guidance today I am able to complete my Ph.D. studies. I very much appreciate the inspiring discussions and your motivational support throughout my life. I have greatly benefitted from your pleasant company and optimistic approach. My mother, she always remain aside me for moral support and guide me to the right path in an affectionate way. I am really thankful to my parents who stood aside me in every matter of my life. Words do not come out easy for me to mention the feelings of obligation towards my parents for the love, care, and patience which enabled me to acquire this long adhered aim.

This Project was funded by İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi. Proje No: 29224.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	Vİİİ
TABLolar LİSTESİ.....	Xİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	Xİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	XVİ
ÖZET	XVİİ
ABSTRACT.....	XİX
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. DOKSORUBİSİN (Dokso).....	4
2.1.1. Genel Bilgi	4
2.1.2. Moleküler Yapısı.....	5
2.1.3. Etki Mekanizması	5
2.1.4. Toksik Etkileri.....	6
2.1.4.1. Kardiyotoksisite	6
2.1.4.2. Doz ve Kardiyotoksisite	7
2.1.4.3. Kardiyotoksisite Tipleri	8
2.1.4.4. Kardiyotoksisite Mekanizmaları	8
2.1.4.5. Kardiyotoksisiteye Tedavisel Yaklaşımlar	10
2.1.5. Troponinler (Kardiyak İşaretçiler)	11
2.1.6. Farmakokinetik	14
2.1.6.1. İlaç - İlaç Etkileşimleri.....	15
2.1.6.2. Farmakogenetik.....	16
2.2. SİPROFLOKSASİN (Sipro).....	19
2.2.1. Genel Bilgi	19
2.2.2. Moleküler Yapısı.....	20
2.2.3. Etki Mekanizması	21

2.2.4. Toksik Etkileri.....	22
2.2.4.1. Kardiyotoksisite	22
2.2.4.2. Kardiyotoksisitenin Mekanizması.....	24
2.2.5. Farmokokinetik	24
2.2.6. İlaç- İlaç Etkileşimleri.....	25
2.3. DOKSORUBİSİN –SİPROFLOKSASİN ETKİLEŞİMLERİ	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. DENEY HAYVANLARI	27
3.2. ETİK FAKTÖRLER.....	27
3.3. KİMYASALLAR	27
3.4. METOD	28
3.4.1. Deney Tasarımı	28
3.5. DENEY AŞAMASI.....	29
3.5.1. Doksorubisin Plazma Konsantrasyonu	29
3.5.2. Gen Ekspresyonu	30
3.5.3. RNA Ekstraksiyonu ve cDNA Sentezi	30
3.5.4. Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (PCR).....	33
3.5.5. Eva Green Boyası.....	34
3.5.6. Gerçek-Zamanlı Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (qPCR).....	34
3.5.7. Kalp Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi.....	35
3.5.8. Langendorff Düzeneği	36
3.5.9. Langendorff Düzeneğinin Parçaları	37
3.5.10. Modifiye Tyrode Solüsyonu	37
3.5.11. Langendorff Deney Protokolü	37
3.5.12. Langendorff Düzeneğinde Hesaplanan Parametreler	38
3.5.13. Kardiyak Troponin (cTnI) Konsantrasyonunun Ölçülmesi	39
3.5.14. Lokomotor Aktivitenin Değerlendirmesi.....	39
3.5.15. Organ Ağırlıkları.....	40
3.6. İSTATİKSEL ANALİZ	40
4. BULGULAR.....	41
4.1. FARMAKOKİNETİK	41
4.2. KARDİYAK TOKSİSİTE	44
4.2.1. Kardiyak Troponin (cTnI) Plazma Konsantrasyonu	44

4.2.2. Kalp Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi.....	47
Langendorff Parametreleri	47
4.2.2.1. Perfüzyon/Koroner Basınç (KB).....	47
4.2.2.2. Kalp Atım Hızı (KAH).....	48
4.2.2.3. dp/dt_{max}	49
4.2.2.4. dp/dt_{min}	49
4.2.2.5. Kontraksiyon Süresi	50
4.2.2.6. Ejeksiyon Süresi.....	51
4.2.2.7. İkili çarpan (Sol ventrikül basıncı (VB) x Kalp atım hızı (KAH))	52
4.3. GEN EKSPRESYONU.....	53
4.3.1. CYP1A2	53
4.3.1.1. Karaciğer	53
4.3.1.2. Kalp	56
4.3.2. CYP2J3	58
4.3.2.1. Karaciğer	58
4.3.2.2. Kalp	60
4.3.3. CYP3A1	62
4.3.3.1. Karaciğer	62
4.3.3.2. Kalp	64
4.4. GENEL DURUM.....	66
4.4.1. Lokomotor Aktivite.....	67
4.4.2. Yaşam Süresi.....	68
4.4.3. Vücut Ağırlığı	68
4.4.4. Organ Ağırlıkları.....	70
4.5. KORELASYON	75
5. TARTIŞMA	78
6. KAYNAKLAR	86
ETİK KURUL KARARI	112
ÖZGEÇMİŞ	114

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. TnI ve TnT performans karşılaştırması	13
Tablo 3.1. Deney Protokolü	29
Tablo 3.2. cDNA Reaksiyonu Protokolü	32
Tablo 3.3. Sıcaklık Döngüsü Programı	32
Tablo 3.4. CYP1A1, CYP1A2, CYP2J3, CYP3A1, GAPDH genlerin analizi için primer dizisi ve bağlanma sıcaklığı	33
Tablo 3.5. Gerçek Zamanlı PCR Karışım Protokolü	35
Tablo 3.6. Gerçek Zamanlı PCR Isı Protokolü	35
Tablo 4.1. Kronik uygulamada doksorubisinin plazma konsantrasyonu	42
Tablo 4.2. Akut uygulamada doksorubisinin plazma konsantrasyonu	42
Tablo 4.3. Kronik ve akut gruplarda doksorubisin konsantrasyonunun karşılaştırılması	43
Tablo 4.4. Kronik ve akut gruplarda plazma cTnI konsantrasyonu (ng/mL)	45
Tablo 4.5. Kronik uygulamada sıçanların lokomotor aktivitesi	67
Tablo 4.6. Dokso ve Sipro tedavi süresinde Sprague Dawley sıçanlarının toplam vücut ağırlığındaki değişimler	69
Tablo 4.7. Kronik tedavide Dokso ve Dokso + Sipro'nun kalp ağırlığına etkisi	70
Tablo 4.8. Kronik tedavide Dokso ve Dokso + Sipro'nun karaciğer ağırlığına etkisi ...	71
Tablo 4.9. Kronik tedavide Dokso ve Dokso + Sipro'nun dalak ağırlığına etkisi	72
Tablo 4.10. Kronik tedavide Dokso ve Dokso + Sipro'nun böbrek ağırlığına etkisi	73
Tablo 4.11. Kronik tedavide Dokso ve Dokso + Sipro'nun testis ağırlığına etkisi	74

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1. Dokso'nun moleküler yapısı	5
Şekil 2-2. Dokso'nun Etki Mekanizması	6
Şekil 2-3. Kümülatif Dokso dozu ile kalp yetmezliği gelişme riski arasındaki ilişki.	8
Şekil 2-4. Miyozin filamentine bağlı Troponin–Tropomiyozin kompleksi.....	13
Şekil 2-5. Miyokardiyal hasar için kardiyak belirteçler (Per Lagman'a ait bir illüstrasyon)	14
Şekil 2-6. Siprofloksasin'nin moleküler yapısı.....	20
Şekil 2-7. Sipro'nun etki mekanizması.....	22
Şekil 3-1. Dokso standart eğrisi.....	30
Şekil 3-2. Toplam RNA izolasyonu protokolü	31
Şekil 3-3. High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit kullanılarak toplam RNA'dan tek şeritli cDNA'nın sentezlenmesi.....	33
Şekil 3-4. EvaGreen® boyasının DNA bağlama mekanizması	34
Şekil 3-5. Bu çalışmada kullanılan Langendorff düzeneğinin temel bir gösterimi	36
Şekil 3-6. Aktivite cihazı	40
Şekil 4-1. Kronik olarak Dokso (1 veya 2,5 mg/kg) ve Dokso + Sipro (20 mg/kg) uygulanan gruplarda doksorubisinin plazma konsantrasyonları.....	42
Şekil 4-2. Akut olarak Dokso (6 ve 15 mg/kg) ve Dokso + Sipro (20mg/ kg) uygulanan gruplarda doksorubisinin plazma konsantrasyonları	43
Şekil 4-3. Kronik ve akut grupların karşılaştırılması.....	44
Şekil 4-4. Dokso'nun tek başına ve Dokso + Sipro'nun birlikte verilmesinin cTnI plazma konsantrasyonu üzerine etkisi	45
Şekil 4-5. Kronik gruplarda Dokso'nun tek başına ve Dokso + Sipro'nun birlikte verilmesinin cTnI plazma konsantrasyonu üzerine etkisi.....	46
Şekil 4-6. Akut gruplarda Dokso'nun tek başına ve Dokso + Sipro'nun birlikte verilmesinin cTnI plazma konsantrasyonu üzerine etkisi.....	46
Şekil 4-7. A, B: Kontrol ve tedavi gruplarında koroner basınç	47
Şekil 4-8. A,B: Kontrol ve tedavi gruplarında kalp atım hızı.....	48
Şekil 4-9. A, B: Kontrol ve tedavi gruplarında dp/dt_{max} değerinin karşılaştırılması	49
Şekil 4-10. A, B: Kontrol ve tedavi gruplarında dp/dt_{min} değerinin karşılaştırılması.....	50

Şekil 4-11. A, B: Kontrol ve tedavi gruplarında kalp kontraksiyon sürelerinin karşılaştırılması.....	51
Şekil 4-12. A, B: Kontrol ve tedavi grupları arasında ejeksiyon sürelerinin karşılaştırılması.....	52
Şekil 4-13. A, B: Kontrol ve tedavi grupları arasında ikili çarpan değerinin karşılaştırılması.....	53
Şekil 4-14. a: Akut uygulamada karaciğerde CYP1A2 gen ekspresyonu	54
Şekil 4-14. b: Akut uygulamada karaciğerde CYP1A2 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi.....	54
Şekil 4-15. a: Kronik uygulamada karaciğerde CYP1A2 gen ekspresyonu	55
Şekil 4-15. b: Kronik uygulamada karaciğerde CYP1A2 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi.....	55
Şekil 4-16. a: Akut uygulamada kalpte CYP1A2 gen ekspresyonu	56
Şekil 4-16. b: Akut uygulamada kalpte CYP1A2 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi.....	56
Şekil 4-17. a: Kronik uygulamada kalpte CYP1A2 gen ekspresyonu	57
Şekil 4-17. b: Kronik uygulamada kalpte CYP1A2 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi.....	57
Şekil 4-18. a: Akut uygulamada karaciğerde CYP2J3 gen ekspresyonu.....	58
Şekil 4-18. b: Akut uygulamada karaciğerde CYP2J3 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi.....	58
Şekil 4-19. a: Kronik uygulamada karaciğerde CYP2J3 gen ekspresyonu	59
Şekil 4-19. b: Kronik uygulamada karaciğerde CYP2J3 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi.....	59
Şekil 4-20. a: Akut uygulamada kalpte CYP2J3 gen ekspresyonu.....	60
Şekil 4-20. b: Akut uygulamada kalpte CYP2J3 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi.....	60
Şekil 4-21. a: Kronik uygulamada kalpte CYP2J3 gen ekspresyonu	61
Şekil 4-21. b: Kronik uygulamada kalpte CYP2J3 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi.....	61
Şekil 4-22. a: Akut uygulamada karaciğerde CYP3A1 gen ekspresyonu	62

Şekil 4-22. b: Akut uygulamada karaciğerde CYP3A1 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi.....	62
Şekil 4-23. a: Kronik uygulamada karaciğerde CYP3A1 gen ekspresyonu	63
Şekil 4-23. b: Kronik uygulamada karaciğerde CYP3A1 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi.....	63
Şekil 4-24. a: Akut uygulamada kalpte CYP3A1 gen ekspresyonu	64
Şekil 4-24. b: Akut uygulamada kalpte CYP3A1 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi.....	64
Şekil 4-25. a: Kronik uygulamada kalpte CYP3A1 gen ekspresyonu	65
Şekil 4-25. b: Kronik uygulamada kalpte CYP3A1 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi.....	65
Şekil 4-26. Dokso veya Dokso + Sipro'nun sıçanların genel durumuna etkisi	66
Şekil 4-27. Sprague Dawley sıçanlarında lokomotor aktivite mesafesi; cm olarak gösterildi	67
Şekil 4-28. 3 hafta kronik ilaç uygulamasının yaşam süresine etkisi (Kaplan –Meier Plot).....	68
Şekil 4-29. Dokso ve Sipro tedavi süresinde Sprague Dawley sıçanlarının toplam vücut ağırlığındaki değişiklikler	69
Şekil 4-30. Dokso ve Dokso + Sipro'nun kalp ağırlığına etkisi	70
Şekil 4-31. Kronik tedavide Dokso ve Dokso + Sipro'nun karaciğer ağırlığına etkisi ..	71
Şekil 4-32. Kronik tedavide Dokso ve Dokso + Sipro'nun rölatif dalak ağırlığına etkisi	72
Şekil 4-33. Kronik tedavide Dokso ve Dokso + Sipro'nun rölatif böbrek ağırlığına etkisi	73
Şekil 4-34. Kronik tedavide Dokso ve Dokso + Sipro'nun rölatif testis ağırlığına etkisi	74
Şekil 4-35. Akut tedavide Dokso konsantrasyonu ile plazma cTnI korelasyonu	75
Şekil 4-36. Kronik tedavide Dokso konsantrasyonu ile plazma cTnI korelasyonu.....	75
Şekil 4-37. Kronik tedavide Dokso plazma konsantrasyonu ile ikili çarpan (KAH x VB) korelasyonu	76
Şekil 4-38. Akut tedavide plazma cTnI değerleri ile kalp CYP3A1 izoenzimi ekspresyonu korelasyonu	76

Şekil 4-39. Kronik tedavide lokomotor aktivite ile dokso plazma konsantrasyonu korelasyonu.....	77
Şekil 4-40. Kronik tedavide cTnI plazma değerleri ile kalpte CYP3A1 gen ekspresyonu korelasyonu.....	77

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

Dokso	: Doksorubisin
Sipro	: Siprofloksasin
DOX	: Doxorubicin
CIP	: Ciprofloxacin
cTnI	: Kardiyak Troponin I
DDI	: İlaç İlaç Etkileşimleri
ELISA	: Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assays
i.p.	: İntraperitoneal
PCR	: Polimeraz Zincirleme Tepkimesi
rt-PCR	: Real Time/Gerçek-Zamanlı- Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (PCR)
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
COX	: Sitokrom c Oksidaz
CYP	: Sitokrom
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
FN	: Febril Nötropeni
sEH	: Epoksit Hidrolaz
EET	: Epoxyeicosatrienoic
20-HETE	: 20-Hidroksieikosatetraenoik
AhR	: Aril Hidrokarbon Reseptörünü

ÖZET

Shahzadi, Andleeb (2014). Siprofloksasin'in Sıçanlarda Doksorubisinin Farmakokinetiğine Etkisi: CYP1A1, CYP1A2, CYP2J3 Ve CYP3A1 Genlerinin Rolü. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi. İstanbul.

Amaç: Bu çalışmada Dokso ile Sipro arasındaki etkileşim, Dokso plazma konsantrasyonu, hepatik ve kardiyak CYP1A1, CYP1A2, CYP2J3 ve CYP3A1 enzimlerinin mRNA ekspresyonları, kardiyak fonksiyonlar ve cTnI plazma seviyeleri ölçülerek değerlendirildi.

Materyal ve Metod: Yetişkin erkek Sprague Dawley sıçanlara Dokso ve/veya Sipro akut ve 3 hafta kronik olarak uygulandı. Dokso ve cTnI plazma seviyeleri ELISA yöntemi kullanılarak ölçüldü. Kalp fonksiyonları Langendorff tekniği kullanılarak değerlendirilirken, kalp ve karaciğerdeki CYP1A1, CYP1A2, CYP2J3 ve CYP3A1 gen ekspresyonları real time-PCR kullanılarak ölçüldü.

Bulgular: Dokso'nun plazma konsantrasyonu Sipro ile akut ve kronik uygulamalarda düşük dozda % 26,8 - % 23,5, yüksek dozda % 16,4 - % 14,3 oranlarında anlamlı olarak yükseldi. cTnI plazma seviyelerinde akut ve kronik ilaç tedavisi uygulanan gruplarda kontrole göre % 137-% 248 arası oranlarında anlamlı artış saptandı ($p < 0,0001$). İkili çarpan kalp fonksiyon değerleri tüm tedavi gruplarında kontrole göre % 33 ile % 70 oranlarında azaldı. Karaciğerde Dokso ve/veya Sipro ile CYP1A2 ve CYP2J3 gen ekspresyonları akut ve kronik uygulamalarda azaldı, CYP3A1 ekspresyonu ise akut uygulamada arttı ($p < 0,05$). Kalpte Dokso ile CYP2J3, CYP1A2 ve CYP3A1 gen ekspresyonunu anlamlı bir şekilde artarken Sipro ile azaldı ($p < 0,05$). Sipro'nun varlığında daha da azaldı. Dokso ile tedavi edilen sıçanlarda görülen diyare, iştahsızlık, vücut, kalp, dalak ve testis ağırlıklarındaki azalma, gibi etkiler Sipro verildiğinde belirgin olarak düzeldi.

Sonuç: Bu çalışmada Dokso'nun kardiyak hasarların biyomarkeri cTnI plazma düzeylerini doza bağlı olarak artırdığını, Sipro'nun da aynı yönde etki gösterdiğini saptadık. Dokso ile azalan kalp fonksiyonları (kalp atım hızı, sol ventrikül basıncı ve

ikili çarpan değerleri). Bu araştırma Sipro ile Dokso etkileşimini değerlendiren ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: Doksorubisinin, Kardiyotoksisite, Siprofloksasin ve İlaç İlaç Etkileşim

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 29224.

ABSTRACT

Shahzadi, Andleeb (2014). Effect of ciprofloxacin on the pharmacokinetics of doxorubicin: The role of: CYP1A1, CYP1A2, CYP2J3 and CYP3A1 in rat model. Istanbul University, Institute of Health Sciences, Medical Pharmacology, Cerrahpaşa Faculty of Medicine. Doctorate (Ph.D.) Thesis. Istanbul.

Objective: The present study was designed to investigate the interaction between Doxorubicin (DOX) and Ciprofloxacin (CIP) along with estimation of DOX plasma concentration, hepatic and cardiac CYP1A1, CYP1A2, CYP2J3 and CYP3A1 mRNA expression, cardiac function and cTnI plasma levels.

Materials & Methods: Adult male Sprague Dawley rats followed 3-week administration of DOX and/or CIP in chronic and acute manner. The DOX and cTnI plasma levels were measured by using enzyme-linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) technique. Cardiac functions were assessed by Langendorff technique, cardiac and liver CYP1A1, CYP1A2, CYP2J3 and CYP3A1 gene expression were determined by real time PCR.

Results: The DOX plasma concentration was increased by 26.8 - 23.5 % (low dose) and 16.4 - 14.3 % (high dose) after the addition of CIP in both the acute and chronic groups. All the treated groups, following acute or chronic dose protocol showed significant increase of 137 to 248 % in cTnI plasma level than that of control ($p < 0.0001$). Double product data showed an overall decrease (33-70%) in cardiac functions of chronic group. The administration of DOX and/or CIP following acute and chronic dose protocol showed decreased hepatic CYP1A2 and CYP2J3 whereas, acute group showed an increase in CYP3A1 liver gene expression ($p < 0.05$). DOX significantly increased the cardiac CYP2J3, CYP1A2 and CYP3A1 gene expression and was decreased with the addition of CIP ($p < 0.05$). The rats treated with DOX showed diarrhea, lack of appetite, body, heart, spleen and testis weight loss, these effects were significantly improved with addition of CIP.

Conclusion: Cardiac injury biomarker cTnI levels were increased after the addition of DOX, similar trend was observed with CIP. The heart functions (heart rate, left ventricular pressure and double product) were reduced by DOX, while the addition of Cipro rigorously decreased these functions. This is the first research showing the interaction between DOX and CIP.

Key Words: Cardiotoxicity, Ciprofloxacin, Doxorubicin and Drug-Drug Interaction

This Project was funded by İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi. Proje No: 29224.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanserin farmakolojik tedavisi tıbbi tedavinin en zor konularından biridir. Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötik ilaçların birçok yan etkisi vardır. Her ne kadar bu yan etkilerin çoğu ilacın kendi toksisitesi ile ilişkili olsa da ilaç etkileşimleri de bu yan etkilerin ortaya çıkmasına ya da şiddetlenmesine neden olabilir.

Doksorubisin (Dokso) birçok neoplastik hastalık ve kanser türünün tedavisinde geniş kullanım alanına sahip bir kemoterapötiktir (Arcamone ve ark. 1969). Buna rağmen klinik kullanımı, doza bağlı kardiyotoksisitesi ve nötropeni nedeniyle kısıtlıdır (Yeh ve ark. 2007). Dokso'ya bağlı kardiyotoksisite, özellikle kronik uygulamalarda kardiyak fonksiyon bozukluğunun gelişmesine sebep olmaktadır (Simoncikova ve ark. 2008). Bu nedenle Dokso tedavisi gören hastaların kardiyak fonksiyon bulgularının görüntülenmesi önerilmektedir (Aiken ve ark. 2009).

Kardiyotoksisite geçici kan basıncı değişikliği, aritmiler, sol ventriküler disfonksiyon veya konjestif kalp yetmezliğine yol açabilecek miyokardiyal iskemi/enfarktüs gibi ciddi hayati tehlike oluşturan bozukluklara sebep olabilir (Shakir ve Rasul 2009). Bu bozukluklar kemoterapi uygulanma sürecinde ortaya çıkabildiği gibi hemen sonrasında da, bazense birkaç gün içinde veya birkaç hafta içinde kendini gösterebilir. Ancak bazı durumlarda aylar hatta yıllarca fark edilemeyebilir. Dokso'ya bağlı toksisitenin moleküler yapısı kompleks bir yapıya sahiptir. Bunlar serbest radikallerin artışı (Zhang ve ark. 2009), lipid peroksidasyonu (Hrelia ve ark. 2002), kardiyomiyo-sit apoptozisi (Andrieu-Abadie ve ark. 1999; Konorev ve ark. 2002), kalsiyum dinamiklerinde değişiklikler (Solem ve ark. 1994), mitokondride abnormalite (Zhou ve ark. 2001; Lebrecht ve ark. 2003), kardiyak iyonların değişmesi (Kawasaki ve ark. 1996; Tokarska-Schlattner ve ark. 2006; 2005), DNA'da geri dönüşü olmayan hasar (Gewirtz 1999) ve varsayılan başka mekanizmalar dahil olmak üzere çoğunlukla hücrel geçiş yollarıdır. Mekanizmanın patogenezi tam olarak bilinmemektedir.

Dokso'ya bağlı kardiyotoksisitenin erkek sıçanlarda CYP450 kardiyak enzimlerini modüle ettiği belirtilmiş ve bu enzimlerin kardiyovasküler hastalıkların patogenezindeki rolü araştırılmıştır (Roman 2002; Elbekai ve El-kadi 2006). Yapılan yeni bir çalışma H9C2 hücrelerinde çoklu CYP genlerinin ekspresyonu olduğunu ortaya koymuştur. Bu genlerin sıçan kalbindeki seviyeleri büyükten küçüğe CYP1B1,

CYP2B1, CYP2J3, CYP1A1, CYP2C11, CYP2C23, CYP2E1, CYP1A2 ve CYP2B2 olarak sıralanır (Zordoky ve El Kadi 2007).

Dokso tedavisi genellikle çoklu, uzun süren nötropeniye ve dolayısıyla bakteriyel enfeksiyon riskinin artmasına sebep olur (Crawford ve ark. 2004). Hayati tehlike yaratan enfeksiyonlara neden olabilecek nötropeni, antikanser ilaçlarının en önemli hematolojik yan etkisidir ve bu durum kanser tedavisinin etkilerini geciktirebilir. Dolayısıyla son on yıldır florokinolonların, kemoterapiye bağlı nötropeni profilaksisinde kullanımı giderek artmıştır. Florokinolonlarla tedavi edilen nötropenili 1408 hastanın meta-analizlerinde, gram negatif bakteriyel enfeksiyonların ve total enfeksiyonların görülme sıklığının gözle görülür derecede azaldığı belirtilmiştir (Engels ve ark. 1999).

Siprofloksasin (Sipro), florokinolon grubundan sıkça kullanılan geniş-spektrumlu bir antimikrobiyal ajandır. Sipro, Dokso ve epuribisinin etkisini artırarak insanlarda kolorektal, mesane ve prostat kanserini engeller (Aranha ve ark. 2003; Gurtowska ve ark. 2010; Herold ve ark. 2002; Van Weert ve ark. 2006). Buna rağmen son çalışmalar, karaciğer ve kalp toksisitesinin Sipro kullanımı ile ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır (Adikwu ve Bramaifa 2012). Hayvan çalışmalarında olduğu gibi klinik uygulamalarda da Sipro'ya bağlı kardiyotoksitenin QT, QTC aralığında ve aksiyon potansiyelinde belirgin uzamaya sebep olduğu gösterilmiştir (Knorr ve ark. 2008; Prabhakar ve Krahn 2004).

Dokso CYP2D6, CYP3A4 ve p-glikoprotein substratıdır. Sipro p-glikoproteininin substratı (Park ve ark. 2011), CYP1A2 izoenziminin güçlü, CYP3A4 izoenziminin ise zayıf inhibitörüdür (Badyal ve Garg 2000; Jerling ve ark. 1994). Bu etkilere bağlı oluşacak farmakokinetik etkileşim nedeniyle, ayrı ayrı verildiklerinde dahi kardiyotoksositeye neden olan Dokso ve Sipro'nun birlikte kullanıldıklarında oluşturabilecekleri kardiyotoksitenin incelenmesi yararlı olacaktır.

Özetle polifarmasiyle tedavi edilen kanser hastalarında, ilaç etkileşimi riski yüksektir. Kemoterapi esnasında hastanın, immünsüpresyonla birlikte değişik enfeksiyonlara olan duyarlılığı artmaktadır. Sipro bu tip enfeksiyonların tedavisinde kullanılır. Biz bu çalışmamızda, yetişkin erkek sıçanlarda Sipro'nun Dokso'nun farmakokinetiği üzerindeki etkisini ve etkileşimde rol oynayabilecek hepatik ve kardiyak CYP1A1, CYP1A2, CYP2J3 ve CYP3A1 enzimlerinin mRNA

ekspresyonlarında Dokso ve/veya Sipro'nun etkilerini araştırdık. Ayrıca kardiyotoksisite ile ilişkilendirilen her iki ilacın plazma cTnI seviyelerine ve Langendorf tekniği ile ölçölen kalp fonksiyonlarına etkilerini değerlendirdik.

2. GENEL BİLGİLER

Kanserli hastaların kemoterapisinde, sitosidal antineoplastik ajanlarının kullanımı önemli bir yer tutmaktadır (Riddick ve ark. 2005). İlaç taşıyıcılar ve ilaç metabolize eden enzimler, terapötik ajanların farmokinetiklerinin belirlenmesinde önemli role sahiptir (Riddick ve ark. 2005).

Kanserli hastalar ilaç-ilaç etkileşimleri için yüksek risk grubundadırlar. Kanser ilaçları karmaşık farmakolojik profile sahip olmanın yanı sıra kısıtlı terapötik etkilere ve dik toksisite-doza eğrilerine sahiptirler (Beijnen ve Schellens 2004). Kemoterapide ilaçların kullanımı gittikçe artmaktadır. PUBMED literatür araştırması ilaç sinerjisi (drug synergy) anahtar kelimesine 7738 sonuç, kanser ve sinerji kelimelerinin birlikte kullanımına (cancer, synergy) 3414 sonuç vermektedir. Bu bize kanser alanında ilaç etkileşimi çalışmalarının, kanser ile alakalı olmayan farmakolojik, toksikolojik, epidemik alanlarda, birlikte kullanım çalışmalarındaki orana benzer bir şekilde gelişmekte olduğunu göstermektedir.

Bugünlerde her yıl binlerce ilaç-ilaç etkileşimleri çalışılmakta, değişik ilaçların birlikte kullanımındaki basit ve kompleks etkileşimler konusunda yeni bilgiler elde edilmektedir. Kanser tedavisinde ilaçların tek başına veya birlikte kullanımı başka tip rastlanmamış toksisiteler içerebilir. Dolayısıyla klinik çalışmalar, antikanser ilaçların kullanımına bağlı toksisitenin tespiti için, farmakokinetik-farmakodinamik araştırmalara ve genetik faktörlere bağlı farmakokinetik-farmakodinamik etkilerin ortaya konması üzerine yoğunlaşmıştır.

2.1. DOKSORUBİSİN

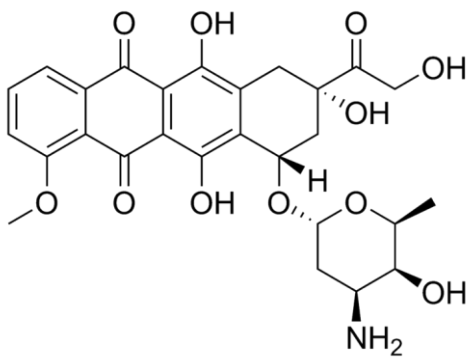
2.1.1. Genel Bilgi

Doksorubisin (Dokso), geniş spektrumlu antitümör aktiviteye sahip, pek çok kanserin tedavisinde kullanılan antrasiklin bir antibiyotiktir (Suresh ve ark. 2003). İlk olarak *Streptomyces peucetius* var. *caesius* mantarından izole edilmiştir (Bagchi ve ark. 1995; Wallace 2003).

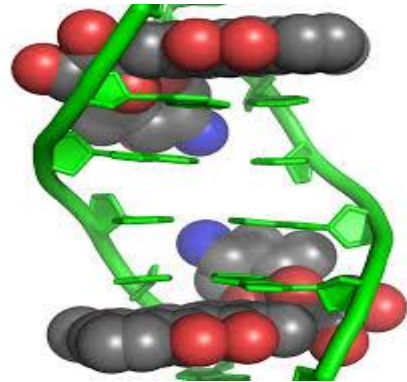
Dokso, hematolojik malignitelere ve katı tümörlere karşı son derece etkili bir antineoplastik ilaç olup (Xu ve ark. 2001), akut lösemi, Hodgkin hastalığı (Ganey ve ark. 1991; Keizer ve ark. 1990), non-Hodgkin lenfoma, meme kanseri (Chularojmontri ve ark. 2005) ve yumuşak doku sarkomalarını (Ganey ve ark. 1991) içeren insan malignant neoplazmalarına karşı güçlü aktiviteye sahiptir (Keizer ve ark. 1990). Dokso ile tedaviye daha iyi cevap veren tümörler; meme ve özafagus karsinomları, osteosarkoma, yumuşak doku sarkoması, Hodgkin ve non-Hodgkin sarkomalarıdır. Tedaviye daha az cevap vermelerine rağmen, gastrik, hepatik, pankreatik ve endometriyal karsinomlar da Dokso ile tedavi edilmektedir (Quiles ve ark. 2002).

2.1.2. Moleküler Yapısı

Antrasiklin molekülü, tetrasiklik çekirdek ve amino şekerden (daunosamin) oluşur (Şekil 2.1). Tetrasiklik çekirdek, ilaca kırmızı rengini verir. Grubun tüm üyelerinin tetrasiklik halkaya komşu kinon ve hidrokinon grupları vardır (Aubel-Sadron ve Londos-Gagliardi 1984). Daunorubisin molekülündeki 14. karbonunun hidroksil grubu alması ile doksorubisin meydana gelir. Dokso'nun kimyasal ve uzaysal düzlemdeki yapıları Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



A. Kimyasal



B. Uzaysal Düzlemde

Şekil 2-1. Dokso'nun moleküler yapısı

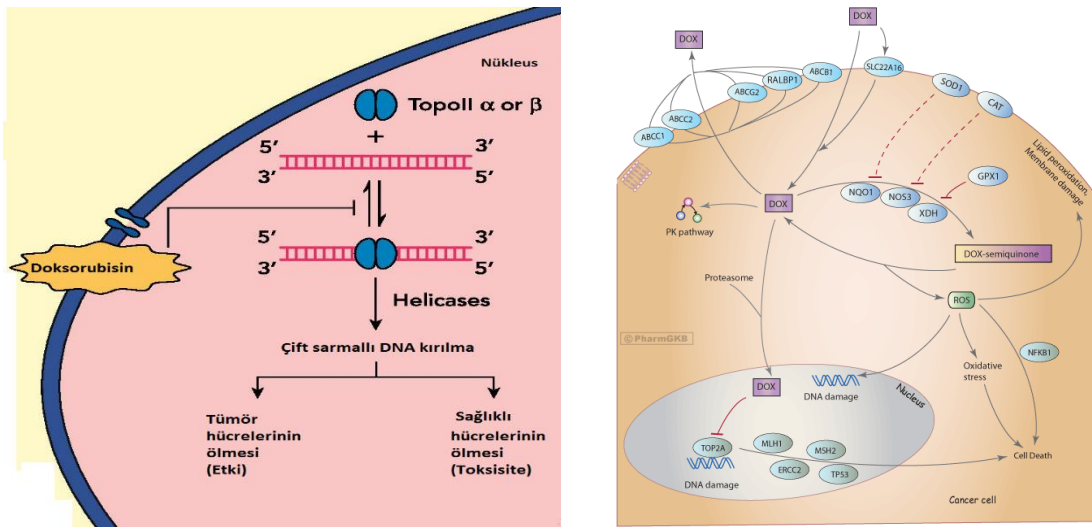
2.1.3. Etki Mekanizması

A). Kompleks oluşturarak deoksiribonükleik aside (DNA) bağlanma: DNA' nın içine girip, DNA topoizomerez-II, DNA-antrasiklin kompleksini oluşturur (Şekil 2.2). DNA replikasyonunu, RNA transkripsiyon ve sentezini inhibe eder. DNA zincirinde kırıklara da neden olur (Cutts ve ark. 1996).

B). DNA ve RNA polimerazların inhibisyonu: DNA ve RNA polimerazların fonksiyonlarını engelleyerek DNA replikasyonunu ve RNA transkripsiyonunu bozar (Şekil 2.2).

C). Hücre membranı üzerine etkileri: Hücre membranına bağlanarak membran fonksiyonunu bozar (Hideg ve Kalai 2007; Muggia ve Green 1991) (Şekil 2.2).

D). Serbest radikal oluşturma: Mikrozomlardaki CYP450 redüktaz enzimi ile reaksiyona girer ve serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşturur (Karagoz ve ark. 2008; Mordente ve ark. 2001) (Şekil 2.3).



Şekil 2-2. Dokso'nun Etki Mekanizması

2.1.4. Toksik Etkileri

2.1.4.1. Kardiyotoksisite

Dokso'nun klinik kullanımı, yaygın sistemik toksisiteye neden olur ve en önemli advers etkisi kardiyotoksisitedir (Jung ve Reszka, 2001; Xu ve ark. 2001). Uzun periyotlarda kullanıldığında doza bağımlı akut ve kronik kardiyotoksisiteye neden olur (Childs ve ark. 2002; Jang ve ark. 2004). Özellikle Dokso'nun kardiyak ve diğer organ ve dokulardaki toksik etkisi sebebiyle klinikte uygulamada sınırlı dozda verilmesine neden olur (Ahmed ve ark. 2005; Dowd ve ark. 2001; Olson ve ark. 1988; Rigatos ve ark. 2002). Bununla beraber, Dokso kadar etkili fakat kardiyotoksik etkisi daha az antineoplastik ajanlar geliştirmek için yoğun çalışmalar yapılmaktadır (Llesuy ve Arnaiz 1990).

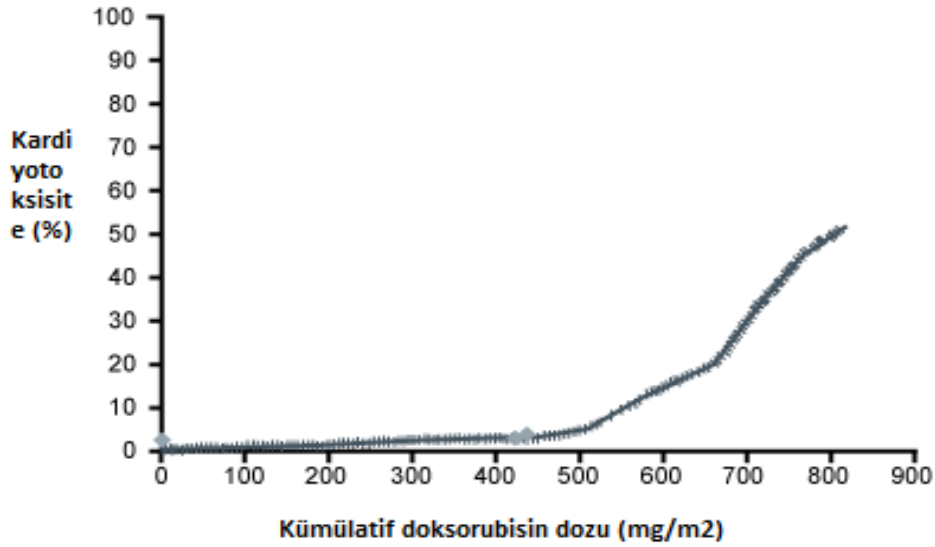
Kardiyotoksisite geçici kan basıncı değişikliği, aritmiler, sol ventriküler disfonksiyon veya konjestif kalp yetmezliğine yol açabilecek miyokardiyal iskemi/enfarktüs gibi ciddi hayati tehlike oluşturan rahatsızlıklara sebep olabilir (Shakir ve Rasul 2009).

Konjestif kalp yetmezliği genellikle, Dokso tedavi döngüsünü takip eden 4 –18 hafta içerisinde gerçekleşir (Chan ve ark. 1999). Konjestif kalp yetmezliği gelişme riski, toplam dozaj 400mg/m² altındayken % 0,14 kadar düşüktür. Toplam dozaj 550 mg/ m² seviyesine geldiği zaman risk % 7'ye, toplam dozaj 700 mg/m² seviyesine geldiği zaman ise % 30'a çıkmaktadır (Lefrak ve ark. 1973; Chan ve ark. 1999). Her ne kadar Dokso'nun infüzyon süresinin uzatılması belirgin olarak kongestif kalp yetmezliği riskini azaltıyor olsa da, uzatılmış infüzyon süresi mukozit ve miyelosüpresyon etkilerini ve sıklığını arttırmaktadır (Bielack ve ark. 1989; Danesi ve ark. 2002). Önerilen maksimum Dokso toplam dozu 480 mg/m²'dir (Cresta ve ark. 2004).

Bu bozukluklar kemoterapi uygulanma sürecinde ortaya çıkabildiği gibi hemen sonrasında, birkaç gün içinde veya birkaç hafta içinde de kendini gösterebilir. Ancak bazı durumlarda aylar hatta yıllarca fark edilemeyebilir. Kümülatif toplam doz, günlük uygulanan doz, uygulama hızı ve takvimi, yaş, cinsiyet, diğer ilaçlarla kardiyotoksik ajanların birlikte kullanımı gibi birçok etken kardiyotoksisiteyi etkileyebilir.

2.1.4.2. Doz ve Kardiyotoksisite

Miyokardiyal hasar, düşük kümülatif dozlarda da (180 mg/m²) gelişmektedir (Colon ve ark. 1992). Morfolojik değişiklikler kümülatif dozdan bağımsızdır. Fonksiyonel değişikliklerin doz ve kalp yetmezliği ile ilgisi zayıftır. Dokso'nun 400 mg/m² dozda kullanımında kalp yetmezliği insidansı % 0,14'tür ve 400-500 mg/m² 'lik kümülatif doz kullanımı sonrası hastaların % 2-4'ünde semptomatik kardiyotoksisite gelişmektedir. Buna karşın 550 mg/m² kullanımda % 7, 600 mg/m²'de % 15, 700 mg/m²'de % 30-40, 1000 mg/m²'de % 50 hastada konjestif kalp yetmezliği gelişmektedir. Kardiyotoksik doz için kısıtlama, son çalışmalarda 550 mg/m² doz olarak belirlenmiştir (Şekil 2.3) (Mettler ve ark. 1977). Dolayısıyla Dokso'nun doz modifikasyonu kardiyotoksisiteye engel olabilecek en önemli değişkendir (Leondro ve ark. 1994).



Şekil 2-3. Kümülatif Dokso dozu ile kalp yetmezliği gelişme riski arasındaki ilişki.

2.1.4.3. Kardiyotoksisite Tipleri

Dokso ile indüklenen iki tip kardiyotoksisite vardır; akut ve kronik. Akut kardiyotoksisite, genellikle Dokso kullanımının hemen sonrasında başlar, hafif aritmiler ve hipertansiyon olarak belirir (Takemura ve Fujiwara 2007; Zhang ve ark. 2009). Diğer taraftan kronik kardiyotoksisite, genellikle kümülatif dozun tamamlanmasından sonra ortaya çıkar ve kanser hastalarının % 1,7'sini etkiler (Von Hoff ve ark. 1979). Bu kronik kardiyotoksisite dozdan bağımsızdır ve geri alınamaz. Ayrıca kronik kardiyotoksisite, kalp alanının büyümesine ve dilate kardiyomiyopatiyle birlikte ventrikül duvarlarının incelmeye sebep olur (Buja ve ark. 1973; Takemura ve Fujiwara 2007).

2.1.4.4. Kardiyotoksisite Mekanizmaları

Dokso'nun kansere karşı mekanizmaları ile kardiyotoksisite mekanizmaları birbirinden farklıdır. Ancak hala kardiyotoksisite mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır.

Antrasiklin toksisitesini tam olarak açıklayan hipotez, serbest radikal hipotezidir. Radikal hipotezinin kardiyotoksisite için geçerliliğini destekleyen iki önemli delil vardır; Birincisi, in vivo çalışmada Dokso'nun kardiyotoksisitesinin demir şelatlayıcıların yanında, serbest radikal süpürücüleri tarafından kısmen azaltılabilmektedir. İkincisi ise; 5-aminodaunorubisin gibi antrasiklin analoglarının daha az kardiyotoksisite gösterdiği fakat redoks döngüsüne uğramadığıdır. Bu durum, antrasiklin analogunun, semikuinon anyonları oluşturmadığını göstermektedir ve 1970'lerin başından beri kuinon içeren ilaçların, serbest oksijen radikalleri ürettiği bilinmektedir (Jung ve Reszka 2001). Serbest radikal üretimi ve oksidatif stresin Dokso'nun hem anti-tümör etkisi hem de kardiyotoksisitesi ile ilgili olduğu kabul edilmektedir. Bu yüzden Dokso'nun oksidatif strese yol açtığı ve lipid peroksidasyonuna neden olduğu rapor edilmiştir (Quiles ve ark. 2002). Dokso'nun serbest radikal oluşumuna yol açtığı iki farklı mekanizma bilinmektedir; 1. Redoks döngüsü ile serbest radikal mekanizması 2. Dokso-demir kompleks aracılı serbest radikal mekanizması (Quiles ve ark. 2002).

Antrasiklinlerin kardiyotoksik etkilerine ait bilgiler, hücrel toksisitenin temel hedefi olarak mitokondriyal membranları işaret eder. Floresans ölçümleri antrasiklinlerin membranın hem lipid hem de protein yapılarına bağlanabildiğini göstermektedir. Antrasiklinler, proteinlerle doğrudan etkileşerek bazı enzimatik fonksiyonları inhibe edebilirler. Mitokondriyal enzimatik aktivitenin tamamen inhibe edildiğini gösteren mekanizma, antrasiklinlerin enzimlerin fonksiyonları için gerekli lipid çevrelerine bağlandığını göstermektedir. Özellikle bazı mitokondriyal enzim aktivitesinin, lipid bağımlı olduğu gözlenmiştir. NADH dehidrogenaz, sitokrom c oksidaz (COX) ve sitokrom c redüktaz fonksiyonları için belirli miktarda kardiyolipine gereksinim duyarlar (Jung ve Reszka 2001). Kardiyolipin, kalpte mitokondrinin iç membranında bulunan bir fosfolipittir (Goormaghtigh ve ark. 1990; Horenstein ve ark. 2000; Wallace 2003). Mitokondriyal enzim ve transfer edici aktivitelerin allosterik düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (Wallace 2003). Dokso, kardiyolipin bağımlı enzimlerin aktiviteleri için gerekli kardiyolipin ile kompleks oluşturarak bu enzimleri inhibe edebilir. Böylece mitokondri membran yapı ve fonksiyon bozukluğuna neden olur (Valls ve ark. 1994). Dokso, kardiyolipine karşı çok yüksek afiniteye sahip (Quiles ve ark. 2002; Valls ve ark. 1994; Wallace 2003), kardiyotoksik bir bileşiktir (Goormaghtigh ve ark. 1990).

Dokso, COX aktivitesinin inhibisyonundan sorumludur. Bu gözlenen inhibisyon, doğrudan ilaç enzim etkileşimi ile değil enzimin lipid ile kompleksleşmesiyle gerçekleşir. İlaç-lipit kompleksinin oluşumu, COX'nun gerekli kardiyolipin çevresinden yoksun kalmasına neden olur. Mitokondri solunum zinciri, süperoksitin en önemli kaynağı olarak bilinir. Süperoksit, kendi kendine hasar oluşturabilir. Ayrıca daha reaktif oksidantlar da oluşturabilir. Sonuç olarak mitokondri, hücrenin diğer kısımlarından daha çabuk oksidatif hasarı biriktirebilir. Oksijen bulunması durumunda ilk olarak süperoksit serbest radikali ve daha sonra diğer reaktif oksijen radikalleri redoks döngüsüne katılır. Bu döngü, daha sonra çoklu doymamış lipidlerin peroksidasyonuna neden olur (Jung ve Reszka 2001). Bu bilgiler, mitokondrinin diğer hücre kompartmanları ile karşılaştırıldığında, antrasikline bağlı oksidatif strese olan hassasiyetini açıklamaktadır. Çünkü antrasiklin antibiyotikler, daha çok mitokondriyal enzim aktivitesi ile redoks döngüsüne katılır ve mitokondride daha çok serbest radikal ortaya çıkar. Bu yüzden Dokso, 20 alternatif elektron akseptörü olarak davranır ve elektron solunum zincirinin taşıyıcıları olan doğal akseptörlerle yarışır. Bu durum Dokso'nun elektron akışını durdurduğu ve elektron akışını kendi indirgenmesi lehine yönlendirdiği anlamına gelmektedir. Flavin içeren bazı enzimlerin (NADPH: sitokrom P450 redüktaz, NADH dehidrogenaz ve ksantin oksidaz) ve kuinon içeren bazı ilaçların elektron indirgenmesini katalize edebilirler. Bu enzimler ayrıca antrasiklinlerin serbest radikal türlerine aktivasyonundan sorumludur (Jung ve Reszka 2001).

2.1.4.5. Kardiyotoksisiteye Tedavisel Yaklaşımlar

Günümüzde Dokso çalışmaları, Dokso kardiyotoksisitesini azaltmak, Dokso'nun kalp fonksiyonları üzerindeki etkilerinin minimuma indirmek ve kansere karşı optimum etkinliğini sağlamayı amaçlamaktadır. Birkaç çalışmada Dokso doz ayarlaması ile mitokondriyal hasar azaltılmış, anlamlı sonuçlar elde edilmiştir (Creech ve ark. 1980; Erttmann ve ark. 1988). Başka bir çalışmada, sıçan modellerinde kronik Dokso toksisitesinde mitokondriyal DNA'nın tüketimini engellemek için serbest demir şelatlarının kullanımı kalbi korumada anlamlı bulunmuştur (Hasinoff 1990; Lebrecht ve ark. 2007; Schroeder ve Hasinoff 2005). Dokso kardiyotoksisitesinin azaltılmasında, dekstrazonun demir ile ilgili reaktif oksijen radikalleri üretiminin inhibisyonunda etkili olduğu görülmüştür (Seifert ve ark. 1994). Ayrıca Dokso ile indüklenen

kardiyotoksistide antioksidan enzim seviyelerinin, transgenik farelerde etkin bir şekilde azalmış olduğu gözlemlenmiştir (Simunek ve ark. 2005).

Dokso tedavisinden önce iki hafta boyunca resveratrolün profilaktik kullanımı reaktif oksijen radikalleri üretimini azaltmada ve glutatyon/katalaz enzimlerinin işlevlerini arttırmada etkili olmuştur. Bu durum, Dokso indüklenen kardiyotoksisteyi azalttığını ortaya koymuştur (Tatlidede ve ark. 2009). Benzer bir şekilde, Dokso ile sildenafil kullanımının kanser hücrelerinde reaktif oksijen radikallerini arttırırken, sağlıklı hücrelerde daha düşük reaktif oksijen radikalleri seviyesini korumada yardımcı olduğu görülmüştür (Das ve ark. 2010). Son çalışmalar ayrıca eritroportin ile yapılan profilaktik tedavinin, Dokso ile indüklenen apoptozdan korunmada yardımcı olduğunu göstermiştir (Ramond ve ark. 2008).

2.1.5. Troponinler (Kardiyak İşaretçiler)

Troponinler, iskelet ve kalp kasında aktin ve miyozin arasındaki ilişkiyi düzenleyen, kalsiyuma bağımlı yapısal proteinlerdir ve üç alt grubu ayrılırlar. Bunlar; Troponin I (TnI, 24 kDA), Troponin T (TnT, 37 kDA) ve Troponin C (TnC, 18 kDA)'dır (Sarko ve Pollack 2002). Troponinler kana T, I, C kompleksleri (cTnT-I-C üçlü ve cTnI-C ikili kompleksi) şeklinde ve serbest alt gruplar halinde salınırlar. Farklı genler tarafından kodlandıkları için, çizgili kaslarda Troponin kompleksi benzer şekilde yer alsa da, TnT ve TnI'nın izoformları kalp kasında farklıdır. Kardiyak izoformlara karşı oluşturulan spesifik antikorlar, hassas TnT ve TnI testleri için esas oluştururlar (Christenson ve ark. 1998). TnT ile bağlantılı olarak TnI, kas kontraksiyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. İskelet ve kardiyak kaslarda TnI'nın üç değişik dokuda spesifik şekli tanımlanmıştır (Leszyk ve ark. 1988).

Kardiyak Troponinler, miyozit içinde iki bölgede bulunurlar. Sitozolde serbest olarak bulunan Troponinler, miyokard hasarını izleyen dönemde salınırlar ve Troponinlerin % 3-5'ini oluştururlar. Bu nedenle hasarın erken döneminde plazmaya geçen Troponin miktarı daha azdır. Fakat kontraktıl yapıya bağlı durumda bulunan Troponinler, daha fazladır ve daha yavaş plazmaya salınırlar. Bu ikinci bölge nedeniyle, miyosit hasarından sonra Troponin düzeyleri uzun süre yüksek kalır (Saffe ve Davidenka 2001). Diğer kardiyak belirteçlerin tersine Troponinler sağlıklı bireylerde tespit edilmezler. Troponinler miyositlerin travma, toksinler, inflamasyon ve koroner

vasküler yatakta tıkanma gibi nekroz durumlarında hasar görmesi sebebiyle salınırlar. Bu nedenle Troponinlerin kan değerindeki ufak artışları bile miyokard hasarını göstermesi açısından önemlidir. (Newby ve ark. 1999).

Amerikan Kardiyoloji Koleji ve Amerikan Kardiyoloji Topluluğu risk sınıflamasına göre, ST aralığının EKG’de yükselmeyen, koroner arter hastalığı olan hastalarda, kardiyak TnI’nın 0,1-1,5 ng/ml orta, 1,5 ng/ml üstü ise yüksek riskli hastaları belirlemede kullanılır (Braunwald ve ark. 2000). Amerikan Kardiyoloji Topluluğunun belirlediği akut miyokardiyak enfarktüsler için kriterler şu şekildedir:

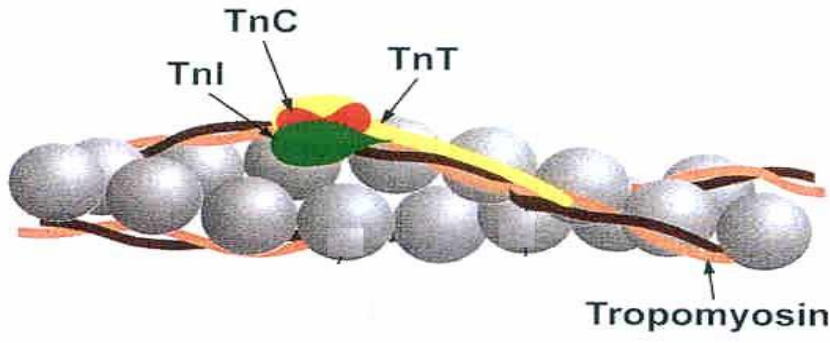
1. Miyokardiyal nekroz için aşağıdakilerden en az biri ile belirgin risk oluşması ve biyokimyasal belirtilerin kademeli olarak düşmesi (Troponinler veya serum kreatin kinaz-MB):

- İskemik semptomlar
- EKG’de patolojik Q dalgalarının oluşması
- Miyokardiyal iskemiye gösteren EKG değişimleri
- Koroner arterlerin üst üste binmesi

2. Miyokardiyak enfarktüslerin patolojik bulguları

TnT ve TnI, miyokardiyal hasar ve enfarktüsün teşhisinde kullanılan hassas ve özel belirteçler olmaları dışında, kanıtlar TnT ve TnI’nın, şiddetli akciğer embolisi, kronik obstruktif akciğer hastalığı, kalp yetmezliği ve solunum yetmezliği görülen hastalarda önemli bir prediktör olabileceği düşünülmektedir (Ohman ve ark. 1996; Ooi ve ark. 1999).

EKG’de patolojik Q dalgaları belirlenerek akut miyokard enfarktüs tanısı konan hastalarda, kardiyak Troponinlerin seri ölçümleri büyük önem taşır (Alpert ve ark. 2000). Özellikle kararsız anjina ve non-Q akut miyokard enfarktüsünde, serum kreatin kinaz-MB düzeyleri normal sınırlardayken, yüksek TnI düzeyleri saptanması, TnI’nın minimal miyokard hasarı için oldukça duyarlı bir belirteç olduğunu göstermektedir (Antman 2002).

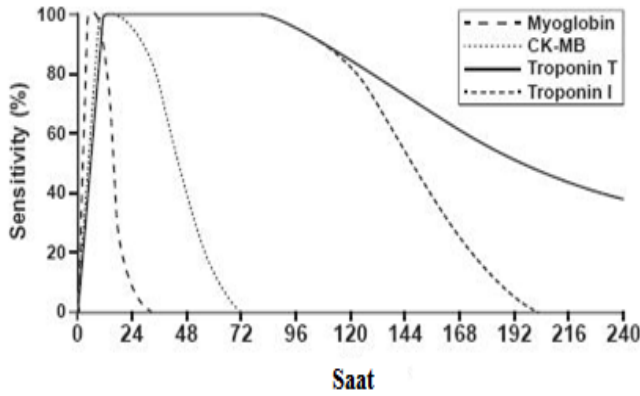


Şekil 2-4. Miyozin filamentine bağlı Troponin–Tropomiyozin kompleksi.

Tablo 2.1. TnI ve TnT performans karşılaştırması

Troponin I	Troponin T
23500 kD	33500 kD
İskelet kası miyopatili hastalarda artışın olmaması	Miyopatili hastalarda yanlış pozitif sonuç vermesi
Birden fazla üretici	Bir üretici
Tahliller arasında bir standardizasyonun bulunmaması	Standardize sonuçlar
Farklı tahlil sonuçlarının karşılaştırılmasının zor olması	-

Troponin yükselmesi miyokardiyal hasardan yaklaşık 6 saat sonra görülür ve 12-24 saat içinde en yüksek noktaya ulaşır (Şekil 2.5). TnI'nın yükselmesi 5-9 gün arası sürerken, TnT yükselmesi miyokardiyal hasardan sonra, 14 gün boyunca devam edebilir (Bodor ve ark. 1992). TnI ve TnT'nin büyük çoğunluğu miyofibrillere bağlıdır. Ancak, TnI'ların % 3'ü ve TnT'lerin % 6'sı sitoplazmada serbest haldedir ve miyokardiyal hasardan sonra sitoplazmadaki serbest havuza salınırlar. Miyokardiyal hücre nekrozundan sonra Troponin seviyesindeki sürekli artış, hasarlı miyofibrillerin devamlı salınımından kaynaklanır (Wu ve ark. 1999).



Şekil 2-5. Miyokardiyal hasar için kardiyak belirteçler (Per Lagman'a ait bir illüstrasyon)

TnI veya TnT seviyesinin artması, miyokardiyal hasarın nedenini açıklayamadığı gibi, iskemik miyokardiyal hasarın kesin tanısı olarak görülmesi yanlıştır. Kardiyak travma, konjestif kalp yetmezliği, solunum yetmezliği, sepsis, kritik hastalık, amiloidosis, ilaç toksisitesi gibi kardiyak stresine yol açabilecek hastalıklarda da kardiyak Troponinlerde artış tespit edilebilir (Urbanova ve ark. 2006).

2.1.6. Farmakokinetik

Dokso hidroklorid klinik kullanım için 3 ile 7 pH değerleri arasında sulu ve stabil olan çözünürlükte kullanılan kırmızı-turuncu bir tozudur. Eski yayınlar (Speth ve ark. 1987) Dokso'nun damar içine uygulandığında hızlı ve geniş etkisi birçok örnekte göstermiştir. Dokso'nun %50-85'i plazma proteinlerine bağlanır (Speth ve ark. 1987). Dokso konsantrasyonları Dokso'nun damar yoluyla 30mg/m² 'lık uygulamasından sonraki 1,5-5 saat aralığında ciğer, lenf bezi, kan hücresi nükleoitid'inde, kolon ve meme kanseri durumlarında buradaki plazmalara 5-30 kat daha yoğun etkili olmaktadır (Gabizon ve ark. 1989). Dokso'nun farmakokinetiği başlangıç hızlı doku dağılım fazı (yarılanma ömrü [$t_{1/2}$], 10dk) ve uzun zamanlı eliminasyon fazından ($t_{1/2}$, 30 s) oluşur. Dokso CYP2D6, CYP3A4, ve p-glikoprotein substratıdır. Diğer taraftan CYP2B6, CYP2D6 ve CYP3A4 izoenzimlerinin inhibitörüdür (Baumhakel ve ark. 2001; Flockhart 2007). Sıçanlarda insan CYP3A4 izoenziminin analogu CYP3A1 izoenzimidir (Kirita ve Matsubara 1993).

Eliminasyon fazının başlangıcındaki dokso konsantrasyonu, pik plazma ilaç konsantrasyonunun sadece %2'sini oluşturmaya rağmen, total ilaç miktarının %75'i kalan eliminasyon fazına denk gelir (Greene ve ark. 1983; Warren ve ark. 2000). Tedavilerinde Dokso'nun 50mg/m² uygulandığı lenfoma hastalarında Dokso konsantrasyonu mononükleer kan hücrelerinde 24 saat sonra 5µM yoğunluğunda olup bu normal plazmalardan 350 kat daha yoğundur (Andersen ve ark. 1999). Tümör çeşitleri ve nükleotidli alyuvarlardaki birikim klinik kemoterapideki antikanser ve akut hematolojik zehirlenmeler şeklinde kendini gösterir (Nencioni ve ark. 2013).

Dokso atılımı kompleks bir metabolik durumdur. Hızla faz-1 durumuna geçerek, hidrofilik metabolit doksorubisinol öncelikli olarak, kriptoplazmatik NADPH tabanlı karbonil redüktaz'lar ve aldo-keto redüktaz'lar tarafından katalize edilir (Blanco ve ark. 2008; Behnia ve Boroujerdi 1999; Choi ve ark. 2006; Cusack ve ark. 1988; Forrest ve ark. 2000; Kaiserova ve Kvasnickova 2005; Kassner ve ark. 2008; Ohara ve ark. 1995; Olson ve ark. 2003).

2.1.6.1. İlaç - İlaç Etkileşimleri

Tedavide kullanılan yaygın kemoterapi ilaçlarının büyük kısmı (yaklaşık %90'ı) hastalarda ilaç-ilaç etkileşimi göstermektedir. Son yapılan incelemeler kanser hastalarının yaklaşık %55'inde farmokokinetik ilaç etkileşimleri görülmüştür (Riechelmann ve ark. 2007).

Warren ve ark. (2000) dört tane yetişkin Rhesus maymun üstünde flukonazolün Dokso'nun Pk'sında yarattığı etkileri incelemek için farmakokinetik çalışmalar yürütmüşler. Çalışmanın sonucu bu ajanlar arasında herhangi bir farmakokinetik etkileşim göstermemiştir. Daha erken yıllarda Colombo ve ark. (1999) CDFI erkek farelerde, Dokso ile birlikte verildiğinde paklitakselin (Taksanlar, kemoterapide kullanılan mitotik inhibitör) kremofor dağılımını ve metabolizmasını değiştirdiğini, kalp de dahil olmak üzere çoğu dokuda Dokso seviyesini yükselttiğini göstermişlerdir. Taksanlar ile birlikte Dokso uygulamaları intoksikasyona neden olmuştur. PLD'nin (polietilen glikol kaplı lipozomal Dokso, Caelyx) plazma kinetiği, tek ajan olarak veya taksanla (paklitaksel veya doksataksel) ile kombinasyon halinde verilip 19 kanser hastasında incelenmiştir. Paklitaksel ve daha düşük dozda doksataksel ile kombinasyon halinde olduğunda daha yüksek seviyede bir PLD plazması

konsantrasyonu saptanan bu çalışmanın sonucu farmakokinetik bir etkileşimin varlığını göstermiştir (Briasoulis ve ark. 2004). Bu farmakokinetik bilgi klinik önem taşımaktadır ve taksanlar ile yapılan PLD kombinasyonu terapilerinde kullanılmaktadır (Briasoulis ve ark. 2004). Benzer olarak paklitaksel, seansların faz I ve II sonuçlarında Dokso mükemmel bir antitümör etki göstermiştir. Buna karşılık konjestif kalp yetmezliğinin yüksek olasılığı daha fazla araştırma gerektirmektedir. Paklitakselin aynı zamanda Dokso-farmakokinetiklerin nonlinearlığını artırdığı ve hem Dokso hem de doksorubisinol'un sistemik klerensini azalttığı gösterilmiştir. Paklitaksel/Dokso etkileşiminde, paklitaksel veya Dokso plazma konsantrasyonları değişir. Bu değişimde p-glikoproteinlerinin de rolü olduğu belirtilmiştir. Doksataksel/Dokso kombinasyonlarının faz I ve II denemeleri, antrasiklin ile indüklenen konjestif kalp yetmezliği riski olmaksızın, daha yüksek antitümör aktivite göstermiştir. Doksataksel kombinasyon halindeyken kullanıldığında Dokso'nun farmakokinetik profillerinde minimal değişimler gözlenmiştir. Metastatik meme kanserinin tedavisinde hem paklitaksel hem de doksataksel Dokso ile etkili bir şekilde kombinasyon haline getirilebilse de, paklitaksel ve Dokso arasındaki ilaç-ilac etkileşimleri güvenli kullanım için bazı belirli sınırlamalar gerektirmektedir (Holmes ve Rowinsky 2001).

İlaçların tesir etmediği maligniteleri bulunan 33 hasta üstünde yapılan başka bir çalışmada ise 15 dakika Dokso infüzyonunu takiben, ilk döngüde paklitaksel infüzyonu 1 saat uygulanmıştır. İkinci döngüde hastalar P-glikoprotein inhibitörü valspodarı (PSC 833) ile günde dört defa oral olarak paklitakselin azaltılmış dozunu (5 mg/kg) almıştır. Sonuçlar PSC 833'ün Dokso ve paklitaksel ile güvenli olarak alınabileceğini göstermiştir (Advani ve ark. 2001).

2.1.6.2. Farmakogenetik

İlaç yanıtının bireyler arası değişkenliğinden sorumlu bir çok faktörler arasında yaş, vücut ağırlığı, eliminasyon organ hastalıkları, ilacın veriliş yolu, çevresel faktörler, beslenme alışkanlıkları ve ilacın plasebo etkisi bulunmaktadır. Ancak ilaç yanıtının bireyler arası değişkenliğine yol açan daha önemli bir etkenin genetik faktörler olduğu son zamanlarda anlaşılmıştır. Birçok ilacın etkinliği ve toksisitesindeki bireyler arası farklılıklar ilaç metabolize eden enzimler, transport proteinleri, reseptörler ve diğer ilaç hedeflerinde gözlenen genetik polimorfizmlerle ilişkilidir. Normal bir popülasyonda varyant ya da mutant genlerin % 1'den daha sık görülmesine genetik polimorfizm adı

verilir. Bu tür polimorfizmlerle ilgili araştırmalar farmakogenetik disiplininin çalışma konuları arasında yer almaktadır. Farmakogenetik, genetik kontrollü farklılıklar sonucu ilaç yanıtında gözlenen bireyler arası değişiklikleri araştıran bir bilim dalıdır. Farmakogenetik alışmalar sayesinde ilaç dispozisyonu ve etkisindeki bireyler arası farklılıkların kalıtsal doğası hızla aydınlanmaktadır. Bu tür çalışmalar bir yandan yeni ilaç geliştirilmesine katkı sağlarken diğer yandan hastaların genetik yapıları temel alınarak, ilaç dozunun optimal düzeyde uygulanmasına yardımcı olmaktadır. Farmakogenetik alanındaki moleküler çalışmalar, esas olarak sitokrom P450 2D6'nın (CYP2D6) karakterize edilmesi ve klonlanması ile başlamış ve günümüzde 20'den fazla ilaç metabolize edici enzim, ilaç reseptörleri ve çeşitli ilaç transport sistemlerinin de içerisinde bulunduğu diğer insan genlerinin tanımlanmasıyla genişleyerek devam etmektedir (Ulusoy 2004).

Bu bilim dalından son on yılda evrimleşen farmakogenomik çalışmalar ise insan genomu hakkındaki bilgi artışına dayanarak geleneksel ilaç geliştirme sürecini değiştirmektedir. Polimorfik metabolizma yollarının belirlenmesi yakın bir gelecekte DNA testleri desteğinde kişiye-özęü ilaç tasarımına ve dozlarının belirlenmesine olanak verecektir (Goodman ve Gilman's 1996). Ancak, hastaların genotipi ile ilgili bilginin kime ve ne kadar bildirilebileceği etik tartışmalara yol açan bir konudur.

2.1.6.2.1. CYP Ekspresyonu

İnsan ve fare sitokromu P450 (CYP) gen üst familyası genomlarında sırasıyla 57 ve 102 adet protein-kodlu gen barındırmaktadır. Karaciğerden kalbe kadar, hemen hemen tüm hücrelerde eksprese edilirler (Nebert ve ark. 2006). Kültür kardiyak miyositlerde ve H9c2 hücrelerinden elde edilmiş kültürde olduğu gibi birçok alışma, CYP enzimlerinin canlı organizmadaki kardiyak dokularda da olabileceğini düşündürmüştür (Fulton ve ark. 1995; Geetha ve ark. 1991; McCallum ve ark. 1993; Thum ve Borlak, 2000a; Yamada ve ark. 1992; Zordoky ve El-Kadi, 2007). CYP enzimlerinin ekspresyonuna dair gerekli bilgi aşağıdaki gibi özetlenmiştir.

2.1.6.2.2. CYP1 Familyası

CYP1A2, CYP1 ailesinin tek hepatik üyesidir. CYP1A1 ve CYP1B1 bu ailenin diğer enzimleridir. CYP1A1 insandaki en büyük ekstrahepatik CYP formudur. Bu ailenin tüm üyelerinin AhR-reseptörü tarafından düzenlendiği bilinmektedir.

Detoksifikasyonun yanısıra, CYP1 ailesi üyeleri sıklıkla polisiklik aromatik hidrokarbonların (PAH) ve aromatik aminlerin metabolik aktivasyonundan sonra CYP1 üretiminden sorumlu tutulmuş ve bu yolla kimyasal karsinogenezle ilişkilendirilmiştir (Corchero ve ark. 2001; Ioannides ve Lewis 2004). CYP1A1 ve CYP1A2 genleri zıt yerleşimlidir ve 5' düzenleyici bölgesi iki gen arasında ortaktır.

Karma fonksiyonlu oksidaz sistemi sitokrom P450 üyesi olan CYP1A2, vücutta ksenobiyotiklerin metabolizmasına katılır. İnsanlarda, CYP1A2 enzimi CYP1A2 geni tarafından kodlanır. CYP1A2 ekspresyonu çeşitli besin bileşenleri ile uyarılmaktadır. Sitokrom P450 proteinleri ilaç metabolizması ve kolesterol, steroid ve diğer lipidlerin sentezini içeren birçok reaksiyonu katalizleyen monooksigenazlardır.

Genişlemiş kardiyomiyopati hastalarında sağ ventrikül ve sol atriyumda ve sağlıklı bireylerin sol ventrikülünde CYP1A1 mRNA saptanmıştır (Thum ve Borlak 2000b; 2002). Eksplante edilmiş insan kalbinin sol ventriküler dokusunda CYP1A1 mRNA bulunmuştur (Michaud ve ark. 2010). β -naftoflavon ve Aroclor 1254'ün kalpteki CYP1 enziminin indüksiyonunda önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Brauze ve ark. 2006; Thum ve Borlak 2000a). CYP1B1'in, eksplante edilmiş insan kalbinde, ikinci en verimli eksprese edilen CYP geni olduğu düşünülmektedir (Bieche ve ark. 2007). Benzo(a)piren (BaP) içeren sigara da fare kalbindeki CYP1A1 ve CYP1B1'i indükler (Aboutal ve ark. 2009). CYP1A1 ve CYP1B1'i düzenleyen bir transkripsiyonel faktör olan aril hidrokarbon reseptörü kalpte yüksek oranda eksprese edilir (Korashy ve El-Kadi 2006). CYP1A1, pulmoner aortta da tespit edilmiştir (Thum ve Borlak 2000b; 2002). CYP1A1 insan koroner arteri düz kas hücrelerinde saptanırken (Dubey ve ark. 2004) CYP1A2 büyük ölçüde karaciğerde eksprese edilir ve uyarılabilir (çoğunlukla karaciğer, akciğer, pankreas, gastrointestinal (GIS) sistem ve beyinde olmak üzere). Birçok ilaç CYP1A2 tarafından metabolize edilir (Jorge-Nebert ve ark. 2010).

2.1.6.2.3. CYP2 Familyası

CYP2 alt familyasının CYP2A, CYP2B, CYP2C, CYP2D, CYP2E ve CYP2J gibi altfamilyaları insandaki kardiyovasküler dokularda bulunmaktadır (Delozier ve ark. 2007; Thum ve Borlak 2000b). EET'lerin üretiminden sorumlu izoenzimlere bağlı olarak, CYP2C8, CYP2C9 ve CYP2J2'nin kardiyak dokudaki epoksigenaz etkinliğinden sorumlu oldukları görülmektedir. Tüm bu izoformlar CYP2J2'nin en çok sentezlenen enzim olarak üretildiği normal insan kalbinde oluşmaktadır (Thum ve

Borlak 2002; Bieche ve ark. 2007; Delozier ve ark. 2007). Buna karşılık CYP2J2 normal kalplerde CYP2C8 ve CYP2C'dan 1000 kat fazla olmak üzere, önemli ölçüde daha çok üretilir (Delozier ve ark. 2007). CYP2J3 farelerde çok fazla bulunur (Wu ve ark. 1997). CYP2J3 mRNA'sı daha çok karaciğerde oluşmaktadır. Kalpte, akciğerde, böbrekte, batında ince bağırsak ve kolonda çok daha az rastlanır (Wu ve ark. 1997).

2.1.6.2.4. CYP3 Familyası

İnsan CYP3 ailesi karaciğerdeki toplam P450 miktarının yaklaşık %50'sini temsil eder ve ilaçların biyotransformasyonunda en önemli CYP alt ailesi olarak değerlendirilir. Bu aile CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 ve bir pseudoprotein olan CYP3A4 olmak üzere 3 fonksiyonel protein içermektedir (Burk ve Wojnowski 2004). Bu enzimlerin katalitik özellikleri örtüşmekte ancak dokulardaki ekspresyon şekilleri farklıdır. CYP3A5 insan karaciğerindeki en az polimorfizm gösteren CYP şeklidir (Wrighton ve ark. 1990). Fakat karaciğer dışındaki dokularda (böbrek, karaciğer, kolon ve özofagus) sürekli eksprese edilmektedir (Williams ve ark. 2002). İnsan enzimi olan CYP3A4'ün fare analogları CYP3A1 ve CYP3A2'dir. Daha çok karaciğerde bulunur. Fakat CYP3 familyasının kardiyovasküler dokulardaki varlığı açık bir şekilde bilinmemektedir. Buna rağmen Thum ve Borlak (2000a) kardiyomiyositten CYP3A1 mRNA'yı izole etmiştir. Bu nedenle konu hakkında daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

2.2. SİPROFLOKSASİN

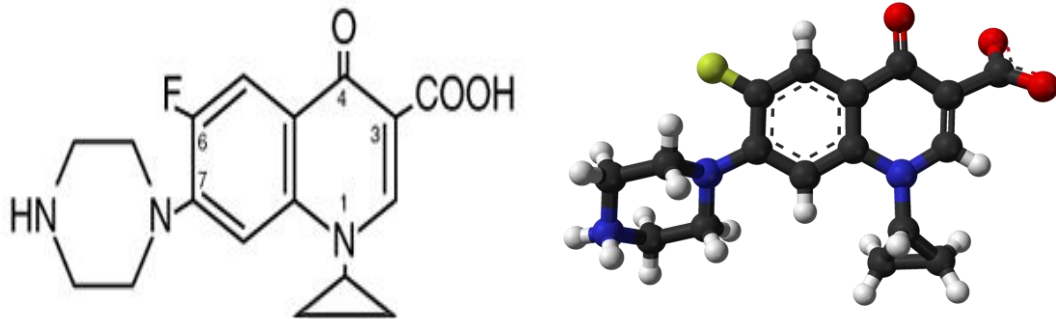
2.2.1. Genel Bilgi

Florokinolonlar, çok çeşitli gram-pozitif ve gram-negatif organizmalara karşı aktif olan geniş spektrumlu aktibiyotiklerdir (Hooper ve Wolfson 1991). Florokinolonlar siprofloksasin, enrofloksasin, gatifloksacin, levofloksasin, lomefloksasin, norfloksasin, ofloksasin vb. içerirler. Siprofloksasin (Sipro) en yaygın kullanılan kinolonlardanıdır (Von-Moltke ve ark. 1996). Sipro, gram-negatif ve bazı gram-pozitif bakterilerin yanı sıra bazı klamidya, mikoplazma ve birçok mikobakteriyum türlerine karşı üstün antibakteriyal aktiviteye sahiptir (Campoli-Richards ve ark. 1988; Hyatt ve ark. 1994; Neu ve ark. 1987). İdrar yolu enfeksiyonlarının (Talan ve ark. 2004), kadınlarda karmaşık olmayan akut sistitlerin

(Hooton ve ark. 2005), kronik bakteriyel prostatın (Weidner ve ark. 2008), üst ve alt solunum yolu enfeksiyonlarının (Simoensa ve ark. 2005), cilt ve yumuşak doku enfeksiyonlarının (Brunner ve ark. 1999; Gillis 1997; Segev ve ark. 1999), kemik ve eklem enfeksiyonlarının (Darley ve MacGowan 2004), karmaşık enfeksiyonlarının (Dimitrios ve ark. 2006), basilli dizanterinin (Murphy ve ark. 1993), tifo ateşinin (Enteric Fever), karmaşık olmayan servikal ve üretral bel soğukluğunun ve pyelonefritin ve benzerlerinin tedavisinde kullanılır.

Son 10 yıl boyunca, florokinolonlar giderek artan şekilde kemoterapiyle ilişkili nötropeniye bağlı enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılmaktadır (Engels ve ark. 1999). 1408 nötropenik hastanın toplu analizi gram-negatif bakteriyel enfeksiyonlarının insidansında, toplam enfeksiyonlarda ve florokinolonların tedavisini takiben oluşan ateşli episodlarda dikkate değer bir azalma olduğunu göstermiştir (Engels ve ark. 1999). Sipro ve roksitiromisin gibi antibiyotiklerinin hastalıklardan korunmak için iki plaseboya karşı siklofosamid, Dokso ve etoposide ile beraber kullanılması febril nötropeninin (FN) insidansını, farklı türde enfeksiyonlara maruz kalmayı, başka antibiyotiklerin kullanımını, FN'ye bağlı hastaneye yatırılma sayısını %50 düşürmüş ve küçük hücreli akciğer kanseri hastalarında enfeksiyona bağlı daha az ölüm rapor edilmiştir (Tjan-Heijnen ve ark. 2001). Siprofloksasin ayrıca kemoterapi esnasında oluşan nötropeniye bağlı enfeksiyonu, mesane kanserini, kolorektal kanseri veya prostat kanserini tedavi etmekte yaygın biçimde kullanılır (Aranha ve ark. 2003; Gurtowska ve ark. 2010; Herold ve ark. 2002; Van Weert ve ark. 2006).

2.2.2. Moleküler Yapısı



Şekil 2-6. Siprofloksasin'nin moleküler yapısı

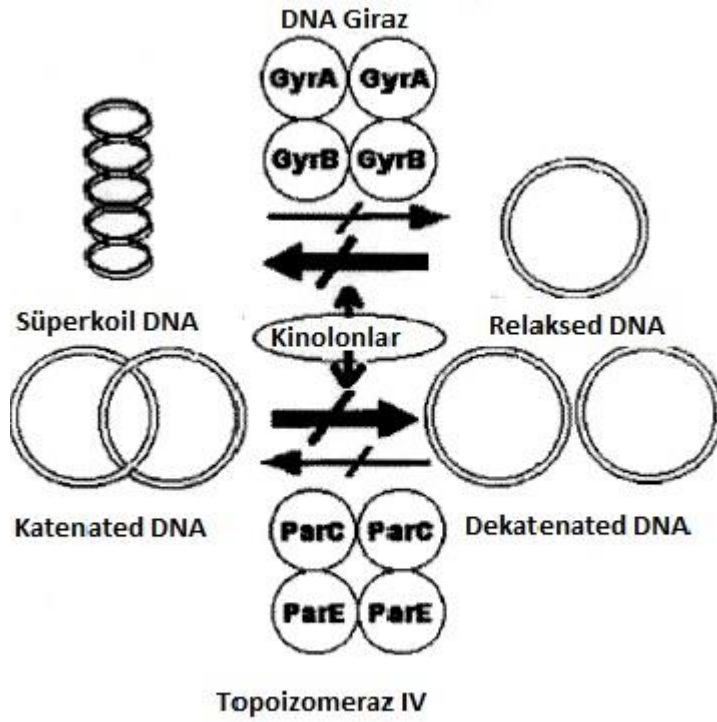
Sipro, 1-siklopropil - 6-fluoro - 1,4-dihidro - 4-oxo - 7-(1-piperazinil) - 3-kinolinkarboksilik asittir. Deneysel formülü C₁₇H₁₈FN₃O₃'tür ve moleküler ağırlığı 331.5'tir. Hafif sarımsı ile açık sarı arasında kristal bir maddedir (Imran ve ark. 2007).

2.2.3. Etki Mekanizması

Antibakteriyal maddelerin çalışma mekanizmaları dört kategoriye ayrılır:

1. Hücre duvarları sentezinin inhibisyonu
2. Hücre membran fonksiyonuna hasar
3. Nükleik asit sentezinin ya da fonksiyonunun önlenmesi
4. Protein sentezinin önlenmesi

Sipro, nükleik asit sentezini önleyen ve diğer florokinonlarla aynı çalışma mekanizmasını paylaşan bir bakterisidal antibiyotiktir. (Prescott ve Baggot 1988). DNA giraz DNA replikasyonu, rekombinasyonu ve onarımında görev alır. Topoizomeraz IV ise replikasyon sırasında oluşan yavru DNA iplikçiklerinin birbirinden ayrılarak yavru hücrelere geçmelerine yardım eder (Drlica ve Zhao 1997; Hooper ve Wolfson 1991). Tip II topoizomerazlardan olan bu iki enzim kinolon grubu antibiyotiklerin hedefini oluşturmaktadır. Topoizomeraz-DNA kompleksine bağlanan kinolonlar DNA sentezini hızla inhibe ederler. Kinolonların bakterisidal etkilerinin ortaya çıkmasında DNA sentezinin inhibisyonu temel olmakla birlikte farklı mekanizmaların da hücre ölümünde rol oynadığı sanılmaktadır (Roca 1995) (Şekil 2,7).



Şekil 2-7. Sipro'nun etki mekanizması

2.2.4. Toksik Etkileri

2.2.4.1. Kardiyotoksite

Yapılan son çalışmalar insanlarda ve hayvanlarda Sipro kullanımına bağlı toksik etkiler olduğunu göstermiştir (Adikwu ve Barmbaifa 2012). Sipro, orsades de pointes ile sonuçlanan QT ve QTc intervalinin ve aksiyon potansiyelinin uzamasına, bradikardiye neden olarak kardiyotoksitite oluşturur (Falagas ve ark. 2007). Ayrıca FDA tarafından, kardiyotoksititenin yanı sıra hepatotoksitite, fototoksitite ve tendinopati gibi diğer toksik etkileri sebebiyle temafloksasin, trovafloksasin, grapafloksasin ve sparfloksasinin ruhsatları iptal edilmiştir (Adikwu ve Barmbaifa 2012). Bu raporlara rağmen Sipro'nun klinik kullanımında bir artış söz konusudur.

Hayvan deneyleri Sipro'nun kardiyotoksititeye sebep olabileceğini göstermiştir. Kobaylarda elektrokardiyogram (EKG) değişikliklerine neden olduğu rapor edilmiştir (Pispirogos ve Chrysanthopoulos 2001).

Sipro'nun 25 ve 50 mg/kg dozunda juvenil farelerde bir hafta boyunca kullanımında serum biyokimyasal parametrelerinin, malondialdehit ve nitrik oksit

seviyelerinin arttığı gözlenmiştir (Saracoglu ve ark. 2009). Yine yapılan bir çalışmada Sipro'nun 1-30mg/kg doz aralığında tavşanda doza bağlı bradikardiye neden olduğu gösterilmiştir (Frothingham 2001). Ayrıca Sipro'nun 20mg/kg dozunda farelerde QT ve QTc intervalinin uzamasına sebep olduğu gösterilmiştir (Adikwu ve Brambaifa 2012).

Kobayların izole sağ ventrikül miyositleri üzerinde yapılan çalışmada, Sipro'nun diğer florokinolonlara göre toksik etkisinin daha fazla olduğu gözlenmiştir (Kahn 2000).

Patmore ve ark. (2000) Sipro'nun kalbin sol ve sağ ventrikül purkinje liflerinde aksiyon potansiyeli süresinin doza bağlı olarak büyük ölçüde uzattığını ortaya koymuşlardır. Başka bir çalışma da benzer bir şekilde Sipro'nun QT interval indüklemeye ve aksiyon potansiyeli uzatma özelliği desteklenmiştir (Milberg ve ark. 2007). Ayrıca sağlıklı köpeklerde Sipro'nun 10mg/kg dozunda kullanımında elektrokardiyogramda QT, QTc, PR ve QRS intervalinde, kalp atışında, ST segmentte, T dalgası amplitütünde belirgin değişiklikler gözlemlenmiştir (Ghaffari ve Parsamehr 2009).

İnsanlarda Sipro'nun kardiyotoksikite potansiyeli Prabhakar ve Krahn (2004) tarafından yapılan klinik deneyde incelenmiştir. Bu çalışmada iki hastada QT interval uzamasıyla beraber torsades de pointes gözlemlenmiştir. Bu sebeple hastalarda bilinç kaybı oluşmuştur. Her iki vakada da QT aralığı Sipro'nun kesilmesiyle normale dönmüştür. Buna rağmen başka bir çalışmada 38 hastaya Sipro ya da levofloksasin kullanımında, hiçbir taban çizgisi üzerinde QTc'de belirgin uzama yapmamıştır (Makaryus ve ark. 2006). Knorr ve ark. (2008) Crohn hastalığı ve kalın bağırsak iltihabı olan bir pediatri hastasında Sipro tedavisiyle (400mg ×2) QT interval uzaması ve bradikardi gelişmesi rapor edilmiştir. Sipro durdurulduğunda QT intervali normale dönmüştür. Nair ve ark. (2008) metadon tedavisi gören bir hastanın Sipro ilavesi sonrası QT interval uzaması ve torsades de pointes geliştirdiğini rapor etmiştir.

Benzer olarak, (Arce ve ark. 2010) Sipro'ya bağlı QT interval uzaması ve torsade de pointes gözlemlendi. Bunun nedeni ventriküler taşikardi ve uzun QT ile belirgin olmasıdır. Başka bir çalışmada Sipro'nun bırakılmasından 72 saat sonra kalple ilgili repolarizasyondaki değişikliklerin kaybolduğu not edilmiştir (Arce ve ark. 2010). Flanagan ve ark. (2006) 22 yaşında sağlıklı bir denizciye pnömoni için intravenöz verilmiş Sipro sebebiyle oluşan QT interval uzamasına bağlı ventriküler taşikardi ve torsade de pointes gözlenmiştir.

Benzer bir şekilde, torsade de pointes tanısı konulmuş bir hastanın elektrokardiyogramında ciddi olarak uzamış QT interval gözlenmiştir. Bu durumda Sipro kullanımı bırakıldığında kardiyotoksite problemi çözülmüştür (İbrahim ve Omar 2012). Konstantino ve ark. (2006) olanzapin alan bir hastada Sipro verilmesinden sonra QT interval uzaması kaydetmiştir. Benzer bir şekilde Sipro azimilid ile birlikte implant kardiyoverter defibrilatörü olan bir hastaya verildiğinde QT uzamasının olduğu rapor edilmiştir (Singh ve ark. 2002).

Bunlara ek olarak, kinolonların gecikmiş düzeltici potasyum akımını doza bağlı olarak engellediği rapor edilmiştir. Bu durum elektrofizyolojik aksiyon QT interval uzaması ve torsade de pointes oluşumuna neden olabilir. Sonuç olarak literatürde belirgin bir şekilde QT aralığının uzaması Sipro ile ilişkili olarak gözükmemektedir (Katrisis ve Camm 2003).

2.2.4.2. Kardiyotoksisitenin Mekanizması

Yüksek dozda florokinolon ve serum konsantrasyonunun, QT uzaması ve arkasından da torsade de pointes riski oluşturduğu gösterilmiştir (Patenes ve ark. 2008). Ayrıca, Sipro halkasının 5 pozisyonundaki radikallerin QTC uzamasından sorumlu olduğu belirtilmiştir. Bu pozisyonundaki bir protonun da ayrıca Sipro'daki QT uzaması ile bağlantılı olduğu belirtilmiştir (Iannini ve Tittoson 2001). Sipro oksidatif stresi harekete geçirerek mikardiyotoksisiteyi ortaya çıkarabilir ve nitrik oksit bu toksisiteden sorumludur (Saracoglu ve ark. 2009). Bu değerlendirme Sipro'nun kardiyotoksik potansiyeli olduğunu göstermiştir.

2.2.5. Farmokokinetik

Sipro tablet formunda gastrointestinal sistemden kolay absorbe edilmektedir. Oral biyoyararlanımı yaklaşık olarak %70'tir. 500 mg Sipro için maksimum serum konsantrasyonu 2.4 µg mL⁻¹'dir ve eğri altındaki alan 11.6 µg hr mL⁻¹'dir. Normal renal fonksiyonlu kişilerde yarılanma ömrü serum eliminasyonu yaklaşık olarak 4 saattir (Boelaert ve ark. 1985). Serum maksimum konsantrasyonlarına oral uygulamayı takiben 1-2 saat içinde ulaşılır (Boelaert ve ark. 1985).

Sipro'nun, serum proteinlerine %20-40 oranında bağlanmaktadır ki bu, diğer ilaçlarla önemli protein bağlanımı etkileşimlerine yol açacak kadar yüksek değildir. Sipro oral verilişinden sonra iyice dağıtılır. Sipro ayrıca akciğer, deri, yağ, kas, kıkırdak

ve kemikte de bulunmuştur (Kelly ve ark. 1992). Sipro p-glikoproteininin substratıdır (Park ve ark. 2011). CYP1A2 izoenziminin güçlü, CYP3A4 izoenziminin ise zayıf inhibitörüdür. (Badyal ve Garg 2000; Jerling ve ark. 1994). Sıçanlarda da CYP1A2 izoenzimi insanlardaki ile aynıdır (Ikeya ve ark. 1989).

Oral alınmış bir dozun yaklaşık olarak %40 ila %50'si değişmemiş ilaç olarak idrarla atılır. 250 mg'lık bir oral dozdan sonra, Sipro'nun idrar konsantrasyonları genellikle ilk iki saat içinde 200 µg/mL aşar ve alınmasından sonraki 8 ila 12 saat içinde yaklaşık olarak 30 µg mL⁻¹'dir. Sipro'nun renal klerensi yaklaşık olarak 300 mL/dakikadır ve bu 20 mL/dakika olan normal glomerüler filtrasyon değerini aşar.

2.2.6. İlaç- İlaç Etkileşimleri

Sipro'nun CYP1A2 izoenzimiyle metabolize edilen ilaçlarla beraber verilmesi, bu ilaçların plazma konsantrasyonlarında artma veya azalmaya neden olur. Bu durum klinik olarak önemli fakat istenmeyen durumların oluşmasına neden olabilir. Doksorubisin ve etoposid ile beraber kullanılması febril nötropeninin (FN) insidansını, farklı türde enfeksiyonlara maruz kalmayı, başka antibiyotiklerin kullanımını, FN'ye bağlı hastaneye yatırılma sayısını %50 düşürmüştü ve küçük hücreli akciğer kanseri hastalarında enfeksiyona bağlı daha az ölüm rapor edilmiştir (Tjan-Heijnen ve ark. 2001). Başka bir çalışmada doksitaksel, adriamisin ve siklofosfamid kullanan Koreli meme kanseri hastalarında profilaktik olarak oral yolla kullanılan siprofloksasinin fibral nötropenide etkili olduğu düşünülmektedir (Suh 2006). Benzer bir şekilde GEPARTRIO klinik çalışmasında aynı ilaç kombinasyonunu kullanan meme kanserli hastalarda siprofloksasinin 4. derece nötropenide ve fibral nötropenide suboptimal koruma sağladığı gösterilmiştir (von Minckwitz ve ark. 2008). Bu çalışmaların aksine ise yine Suh tarafından 2008'de aynı şekilde meme kanseri hastalarında yapılan çalışmada ise siprofloksasinin nötropeni ya da sistemik enfeksiyonda koruyucu etkisi görülmemiştir.

Otolog kök hücre transplantasyonu yapılmış yüksek doz kemoterapi gören hastalarda siprofloksasinin profilaktik olarak intravenöz kullanımı enfeksiyon oluşumunu azaltmıştır (Wolska ve ark. 2012).

2.3. DOKSORUBİSİN –SİPROFLOKSASİN ETKİLEŞİMLERİ

Kanserin farmakolojik tedavisi tıbbi tedavinin en zor konularından biridir. Tedavide kullanılan sitotoksik kemoterapötik ilaçlar kompleks farmakolojik profilleri olan, dar terapötik pencereye sahip ve bir arada kullanıldıklarında bireyler arasında farmakokinetik ve farmakodinamik farklılıklar gösteren çok güçlü ajanlardır.

Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötik ilaçların birçok yan etkisi vardır. Her ne kadar bu yan etkilerin çoğu ilacın kendi toksisitesi ile ilişkili olsa da ilaç etkileşimleri de bu yan etkilerin ortaya çıkmasına ya da şiddetlenmesine neden olabilir.

Kemoterapötik uygulamalarda; Dokso ve Sipro birlikte yaygın kullanılan bir protokoldür. Dokso ve Sipro birlikte kullanımında etkileşim olabilme olasılığı oldukça yüksektir. Çünkü; Dokso ve Sipro biyotransformasyonunda CYP450 enziminin aktif rol aldığını düşünülmekte ve iki ilaç birlikte kullanıldığında CYP gen ekspresyonlarını değiştirmektedir. Şimdiye kadar Dokso ve Sipro ile ilgili yapılan çalışmalar; bu ilaçların etkileşim mekanizmalarını belirlemek için yetersizdir. Biz de yaptığımız bu çalışmada CYP enzimlerinin gen ekspresyonlarına bakarak Dokso ve Sipro arasındaki etkileşimleri göstermek istedik.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. DENEY HAYVANLARI

Çalışmamızda herbiri 250-300 g ağırlığında olan 80 adet sağlıklı erkek Sprague Dawley sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nden temin edildi. Deney hayvanları İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Laboratuvarı'nda 4'erli gruplar halinde ayrı polikarbonat kafeslerde, normal çevresel koşullarda (21°C ve 12 saat gece/gündüz döngüsü), su ve yeme erişimi sınırsız şekilde barındırıldı. Yem için standart sıçan pelletleri kullanılırken, su ihtiyacı musluk suyu olarak sağlandı.

3.2. ETİK FAKTÖRLER

Bu çalışmaya, İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onay verildi (Karar No:2012/167 ve 19.11.2012).

3.3. KİMYASALLAR

- High Capacity cDNA Ters Transkripsiyon Kit Applied Biosystem (Foster City, CA),
- Gene Matrix Universal RNA izolasyon kiti (EURx, Poland)
- Eva green sıcak FIREPol DNA içeren boya (Solis Biodyne, Estonya)
- Integrated DNA Technologies Inc (San Diego, CA)
- Real-time PCR primerleri (Solis Biodyne, Estonya)
- Kardiyak Troponin (cTn-I) (East Biopharm, China)
- Adriyamisin Elisa Kiti (East Biopharm, China)
- Diğer tüm kimyasallar (NaCl, KCl, CaCl₂, MgCl₂, NaHCO₃, NaH₂PO₄ ve glukoz) Merck Kimyasallar, Türkiye'den satın alındı.
- Doksorubisin (i.p.) Adriblastina[®], 10 mg flakon (Deva Farma Limited, Türkiye)

- Sipro (i.p.) Ciproxin[®], 400 mg flakon (Bayer İlaçları, Almanya) ticari preparatı kullanıldı.

3.4. METOD

3.4.1. Deney Tasarımı

Bu çalışma akut ve kronik gruplar olmak üzere iki ana gruba ayrılarak tasarlandı. Her iki grup da kendi içerisinde 5 alt gruba ayrıldı (Tablo. 3.1). İlaçlar intraperitoneal (i.p.) olarak uygulandı.

Akut Grup: Bu grup toplamda 40 adet erkek Sprague Dawley sıçandan oluşmaktadır. Herbiri rastgele seçilen 8'er sıçandan oluşan 5 gruba ayrıldı. Grup-I Kontrol grubu; ilaç uygulanan diğer gruplarla aynı miktarda serum fizyolojik çözeltisi uygulandı. Grup-II (6 mg/kg Dokso): tek doz olarak bir seferde 6 mg/kg Dokso uygulandı. Grup-III (15 mg/kg Dokso): tek doz olarak bir seferde 15 mg/kg Dokso uygulandı. Grup-IV (6 mg/kg Dokso + 20 mg/kg Sipro): tek doz olarak 6 mg/kg Dokso ve eş zamanlı olarak da 20 mg/kg Sipro vücut ağırlığına uygun olarak uygulandı. Grup-V (15 mg/kg Dokso + 20 mg/kg Sipro): tek doz olarak 15 mg/kg Dokso ve eş zamanlı olarak da 20 mg/kg Sipro vücut ağırlığına uygun olarak uygulandı.

Kronik Grup: Bu grup da akut grup ile aynı şekilde toplamda 40 adet erkek Sprague Dawley sıçandan oluşmaktadır. Herbiri rastgele seçilen 8'er sıçandan oluşan 5 gruba ayrıldı. Grup-VI (Kontrol grubu): Bu gruptaki sıçanlara da ilaç uygulanması yapılan hayvanlarla aynı süre boyunca, vücut ağırlığına göre hesaplama yapılarak serum fizyolojik uygulandı. Grup-VII (1 mg/kg Dokso): sıçanlara 3 hafta boyunca haftada iki kez olacak şekilde 1 mg/kg Dokso uygulandı. Grup-VIII (2,5 mg/kg Dokso): sıçanlara 3 hafta boyunca haftada iki kez olacak şekilde 2,5 mg/kg Dokso uygulandı. Grup-IX (1 mg/kg Dokso + 20 mg/kg Sipro): sıçanlara 3 hafta boyunca haftada iki kez olacak şekilde 1 mg/kg Dokso uygulandı. Bu süre boyunca hergün 20 mg/kg Sipro uygulandı. Grup-X (2,5 mg/kg Dokso + 20 mg/kg Sipro): sıçanlara 3 hafta boyunca haftada iki kez olacak şekilde 1 mg/kg Dokso uygulandı.

Tablo 3.1. Deney protokolü

Deney Grupları	Sıçan Sayısı
Akut uygulama	
I- Serum Fizyolojik	8
II- 6 mg/kg Dokso (tek doz)	8
III- 15 mg/kg Dokso (tek doz)	8
IV- 6 mg/kg Dokso + 20 mg/kg Sipro (tek doz)	8
V- 15 mg/kg Dokso + 20 mg/kg Sipro (tek doz)	8
Kronik uygulama	
VI- Serum Fizyolojik	8
VII- 1 mg/kg Dokso (3 hafta boyunca haftada iki kez)	8
VIII- 2,5 mg/kg Dokso (3 hafta boyunca haftada iki kez)	8
IX- 1 mg/kg Dokso (3 hafta boyunca haftada iki kez) + 20 mg/kg Sipro (günde 1 kez)	8
X- 2,5 mg/kg Dokso (3 hafta boyunca haftada iki kez) + 20 mg/kg Sipro (günde 1 kez)	8

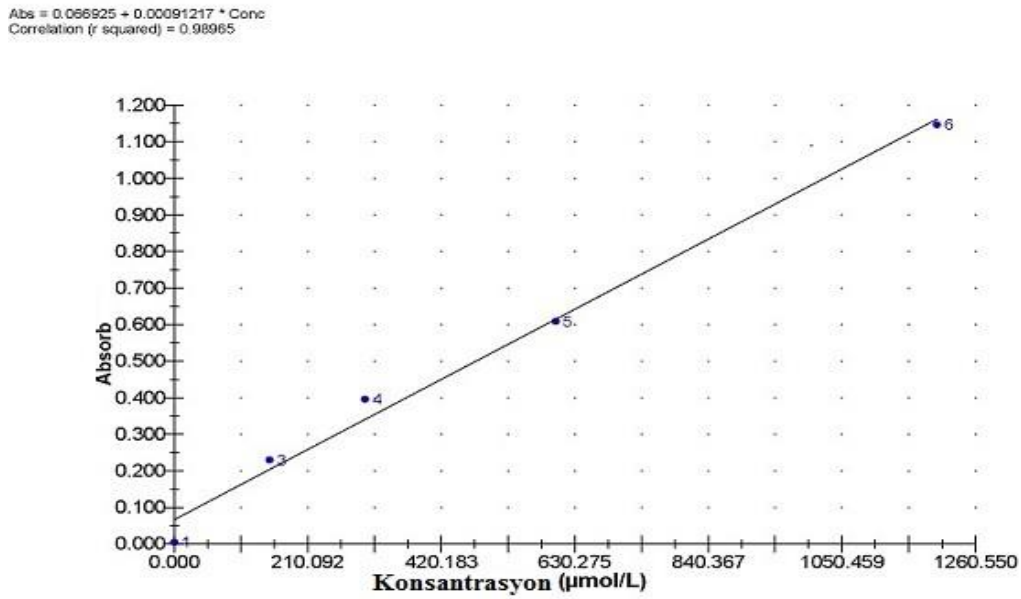
3.5. DENEY AŞAMASI

3.5.1. Doksorubisin Plazma Konsantrasyonu

Akut ve kronik gruplara ilaç verildikten sonra bir yarı ömür geçmesi beklendi (48 saat), sıçanların kan örnekleri toplandı ve plazma ekstraksiyonu için microtranier EDTA tüpler kullanıldı. Toplanan plazmadan Dokso'nun konsantrasyonu ölçüldü ya da

daha sonra ölçülmesi için -20 °C’de saklandı. Dokso’nun plazma seviyeleri ticari olarak satılan Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assays (ELISA) kitleri (East Biopharm, China) ile ölçüldü.

İkili olarak çalışılacak olan 0, 75, 150, 300, 600, 1200 µmol/L konsantrasyonlarda Dokso standartları hazırlandı. Standartların konsantrasyonları ELISA ile ölçülerek kalibrasyon grafiği için eğri üzerine yerleştirildi (Şekil 3.1). 0-1200 µmol/L aralığında, eğri lineerdir ve kalibrasyon eğrisi Şekil 3.1’de gösterildi.



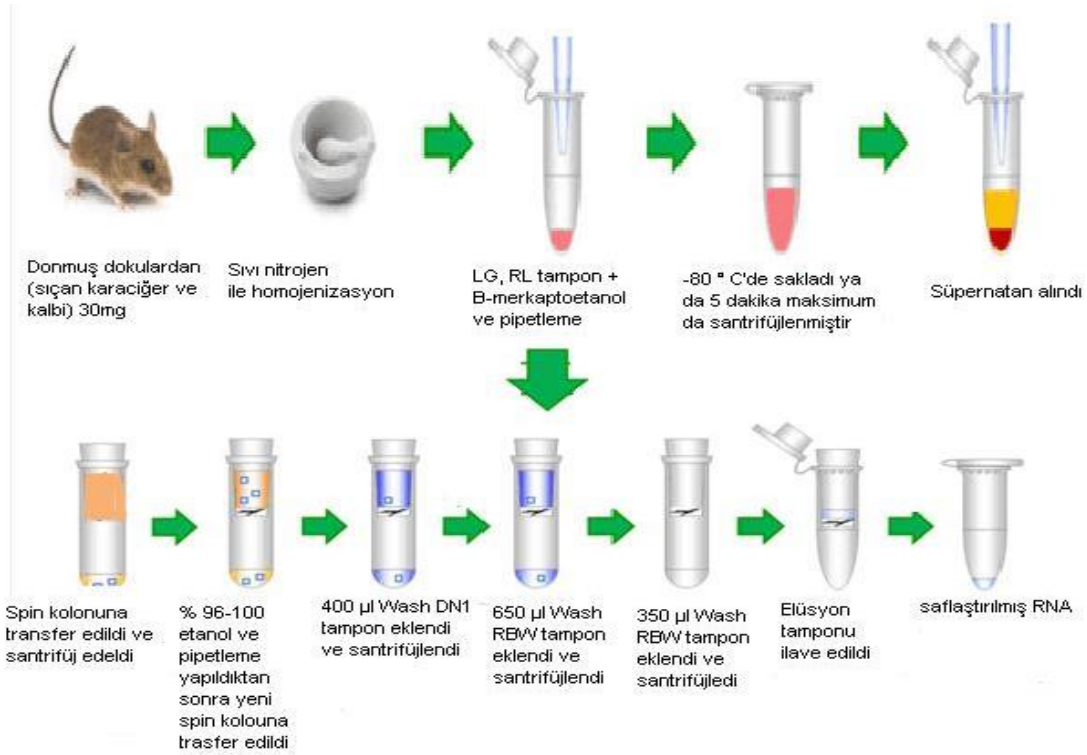
Şekil 3-1. Dokso standart eğrisi

3.5.2. Gen Ekspresyonu

Xie ve ark. (2003)’nın geliştirdiği teknik üzerinde bazı değişiklikler yapılarak gerçek-zamanlı-PCR kullanıldı.

3.5.3. RNA Ekstraksiyonu ve cDNA Sentezi

Toplam RNA, donmuş dokulardan (karaciğer ve kalp) Gene MATRIX Universal RNA purification (EURx, Poland) kiti ile izole edildi. Deney protokolü şekil 3.2’de gösterildi.



Şekil 3-2. Toplam RNA izolasyonu protokolü

Örnekler havanda sıvı azotla toz haline getirildikten sonra ependorf tüpünün yaklaşık 200 µL'lik seviyesine gelecek şekilde dolduruldu. Sıvı azot uçar uçmaz 500 µL ekstraksiyon tamponu (300 µL LG ve 200 µL LG tamponu) eklendi. Üzerine 500 µL fenol-kloroform eklenerek karıştırıldı. 14 000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.

Süpernatant spin kolon tüpüne aktarıldı ve alt üst edilerek, 1 dakika 14000 rpm'de santrifüj edildi. Oluşan çökeltiye 250 µL etanol eklenerek yeni tüpe aktarıldı, 1 dakika 11000 rpm'de santrifüj edildi. Sonrasında 400 µL washDN1 tamponu eklendi ve 1 dakika 11000 rpm'de santrifüj edildi. 600 µL wash RBW tamponu ile 1 dakika daha 11000 rpm'de santrifüj edildi ve son olarak 350 µL wash RBW tamponu eklenerek, 1 dakika 11000 rpm'de santrifüj edildi. Spin kolonun üzerine 30 µL'lik Rnase free water eklenerek kullanıma hazır hale getirildi.

Bütün örneklerin, RNA konsantrasyon ve saflığı, Nano Drop 2000c (Thermo Scientific, USA) ile 260/280 nm absorbansta ölçüldü. RNA örnekleri, direk olarak High Capacity cDNA Synthesis Kit (Applied Biosystem, USA) kullanılarak doğrudan çalışıldı ya da -80°C'de daha sonra ölçülmesi için saklandı.

cDNA eldesi için gereken materyallerin miktarları belirlenerek, 2 χ RT Master Mix (20 μ L reaksiyon başına) ile aşağıdaki protokole göre hazırlandı. (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. cDNA reaksiyonu protokolü

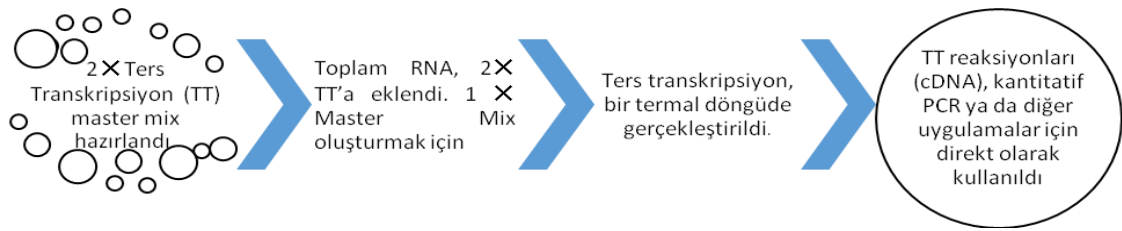
1 Örnek İçin	Miktar
10 χ RT Buffer	2,0 μ L
25 χ dNTP Mix (100 mM)	0,8 μ L
10 χ RT Random Primers	2,0 μ L
MultiScribe™ Reverse Transcriptase	1,0 μ L
RNase Inhibitor	1,0 μ L
Nuclease-free H ₂ O	3,2 μ L
Toplam	10 μL

2 χ RT Master Mix'den her 0,2 μ L PCR tüpüne aktarıldı ve pipetle karıştırıldı. Daha sonra üzerine her RNA örneğinden 10 μ L eklenerek, cDNA karışımı ile RNA karıştırıldı. Oda sıcaklığında (25°C'de) 10 dakika bekletildi. Aşağıda belirtilen programa göre 'thermal cycler'da cDNA reaksiyonu gerçekleştirildi.

Tablo 3.3. Sıcaklık döngüsü programı

Sıcaklık	Süre (Dakika)	Döngü Sayısı
25 °C	10	1
37 °C	120	1
85 °C	5	1
4 °C	∞	1

cDNA örnekleri PCR için kullanımdan hemen önce RNAase free water ile 10 kez seyreltildi ya da daha sonra kullanılmak üzere -80°C sıcaklıkta saklandı. Toplam RNA'dan tek şeritli cDNA'nın sentezlenmesi aşamaları Şekil 3. 2'de gösterildi.



Şekil 3-3. High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit kullanılarak toplam RNA'dan tek şeritli cDNA'nın sentezlenmesi

3.5.4. Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (PCR)

Amplifikasyon reaksiyonları aşağıdaki gibi gerçekleştirildi:

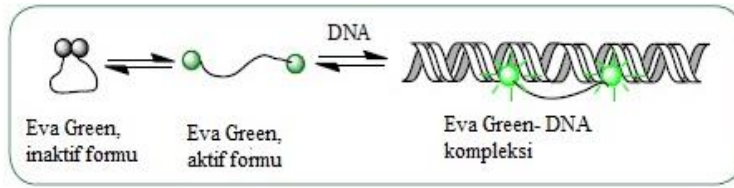
CYP1A1, CYP1A2, CYP3A1 ve CY2J3 için kullanılan primer dizileri Tablo 3.4 'de verilmiştir. Saf PCR ürünü elde etmek için PCR cihazı optimize edilmiştir. PCR'da 10 µL cDNA, 2 µL 10 x RT tamponu, 1 µL MultiScribe™ Reverse Transcriptase, 1 µL RNAase Inhibitor, 3 µL Nuclease-free water ve 0,5 µL reverse ve forward primerler eklenerek toplamda 20 µL karışım elde edildi. PCR, Gene AMPs PCR system 9700 (Roche, USA) kullanılarak gerçekleştirildi.

Tablo 3.4. CYP1A1, CYP1A2, CYP2J3, CYP3A1, GAPDH genlerin analizi için primer dizisi ve bağlanma sıcaklığı

Gen	Primer	Dizi	Isıtma Bağlama Sıcaklığı
CYP1A1	Forward primer	5'-tgccaatgtccagctctcag-3'	62°C
	Reverse primer	5'-accaggtacatgaggctcca-3'	
CYP1A2	Forward primer	5'-ttgctacttgaggagcacg-3'	60°C
	Reverse primer	5'-ttagccaccgattccaccac-3'	
CYP2J3	Forward primer	5'-ccaggtccgagctgttcatt-3'	60°C
	Reverse primer	5'-ggggaaatggtgacggacat-3'	
CYP3A1	Forward primer	5'-ggaaattcgatgtggagtgc-3'	60°C
	Reverse primer	5'-aggtttgctttctcttgcc-3'	
GAPDH	Forward primer	5'-tgccactcagaagactgtgg-3'	60°C
	Reverse primer	5'-ttcagctctgggatgacctt-3'	

3.5.5. Eva Green Boyası

Bu deneyde Solis BioDyne Estonya'dan satın alınan Eva Green boyası (HOT FIREPol Eva Green) kullanıldı. Eva green qPCR Mix Plus gerçek zamanlı - PCR çalışmaları için optimize edildi. HOT FIREPol Eva Green DNA polimeraz, 15 dakika 95°C'de inkübasyon ile aktive edildi. Bu durum, qPCR kurulum sırasında düşük sıcaklıkta oluşan spesifik olmayan bir şekilde bağlanan primer-dimerlerinin uzanmasını önlemektedir. Eva Green DNA-bağlayıcı boya, birçok özelliği ile qPCR için SYBR Green I'den daha iyi bir alternatiftir. Eva Green® boyası, DNA'ya bağlanmak üzere tasarlanmıştır (Şekil 3.4). DNA yokluğunda, dimerik boya DNA bağlamada etkin olmayan sarmal üç boyutlu bir yapı oluşturur. Ortamda DNA olduğunda, sarmal yapı DNA bağlama yeteneğine sahip rastgele bir konformasyona geçer ve DNA'ya bağlanarak floresan ışımaya yapar. PCR sırasında daha fazla DNA oluşturularak, boyanın aktif ve rezerve (halka şeklinde, inaktif boya) formunun arasındaki kimyasal dengeden daha çok aktif form oluşmasını sağlar.



Şekil 3-4. EvaGreen® boyasının DNA bağlama mekanizması

3.5.6. Gerçek-Zamanlı Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (qPCR)

Gerçek-Zamanlı Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (qPCR, real-time polymerase chain reaction) DNA moleküllerini çoğaltmak ve eş zamanlı olarak miktarını ölçmek için sıklıkla kullanılan bir laboratuvar tekniğidir. Bu tekniğe nicel gerçek-zamanlı polimeraz zincirleme tepkimesi (qPCR - quantitative real time polymerase chain reaction) ya da kinetik polimeraz zincirleme tepkimesi denilmektedir.

Gerçek Zamanlı PCR Karışım Protokolü (Housekeeping gen/Referans gen ve Target gen/Hedef gen)

cDNA'ların referans gen ve hedef gen açısından amplifikasyonunu sağlamak ve ilgili bölgeleri işaretlemek amacıyla Eva Green Master Mix uygulandı ve aşağıdaki protokole göre hazırlandı.

Tablo 3.5. Gerçek zamanlı pcr karışım protokolü

1 Örnek İçin:	MİKTAR
5x HOT FIREPol® EvaGreen® qPCR Mix Plus	4,0 µL
Primer Forward (10 pmol/µL)	1,0 µL
Primer Reverse (10 pmol/µL)	1,0 µL
cDNA	1,0 µL
Nuclease-free water	13 µL
Toplam	20 µL

Gerçek Zamanlı PCR Isı Protokolü

Hazırlanan referans gen qPCR Mix'leri ve hedef gen qPCR Mix'leri uygun cDNA'lar ile Light Cycler 480 sistemine ait 96 kuyucuklu plateler üzerinde bir araya getirildikten sonra aşağıda olduğu gibi ısı protokolü ile light cyclyer 480 sisteminde (Roche) gerçek zamanlı PCR için işleme alındı (Tablo 3.6).

Tablo 3.6. Gerçek zamanlı PCR ısı protokolü

Döngü Adımları	Sıcaklık (°C)	Zaman	Devir
İlk denatürasyon	95	15 dakika	1
Denatürasyon	95	15 saniye	40
Bağlanma	60-65	20 saniye	
Uzama	72	20 saniye	

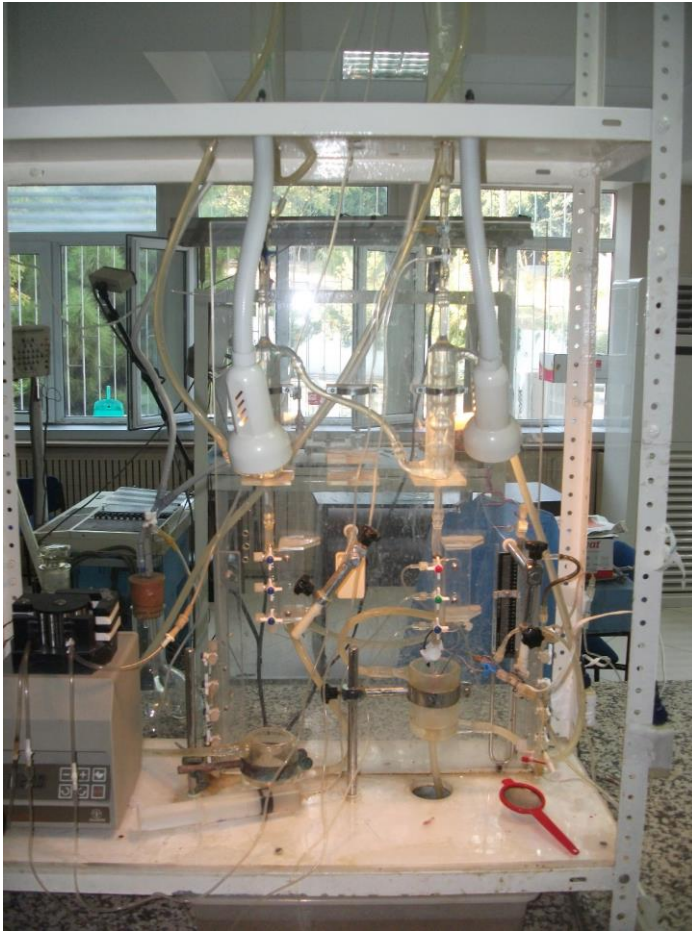
3.5.7. Kalp Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi

Kalp izole edilerek, kardiyak fonksiyonlarının değerlendirilmesi için Langendorff modelinde, Öner Süzer tekniği kullanılarak perfüze edildi (Süzer 1994).

3.5.8. Langendorff Düzeneği

Oscar Langendorff 1897’ de, ilk olarak izole memeli kalbini retrograd olarak perfüze eden kişidir (Skrzypiec-Spring ve ark. 2007). Kan ya da kristalloid perfüzyon çözeltisi, aort kanülü üzerinden sıçan kalbine iletildi. Langendorff kalp modeli fizyolojik, farmakolojik ve biyokimyasal araştırmalarda çok yaygın olarak kullanılmaktadır (Süzer 1997). Hayvanlarda kalp ile ilgili tedavi edici potansiyel maddelerin denenmesinde, Langendorff düzeneği önemli ve değerli bir in-vitro araştırma aracıdır.

Langendorff metoduyla perfüzyonun çeşitli modifikasyonları olsa da, bunların ortak noktası perfüzyon solüsyonunun dolaşım yoludur. İzole kalp, genellikle sabit bir basınçta veya sabit akışta perfüze edilmiştir. Retrograd akım, aortada aortik valfi kapatır ve tüm perfüzyon solüsyonu koroner arter içine yönlendirilir. Perfüzyon solüsyonu, koroner sinüs üzerinden sağ atrium içine akar (Süzer 1997).



Şekil 3-5. Bu çalışmada kullanılan Langendorff düzeneğinin temel bir gösterimi

3.5.9. Langendorff Düzeneğinin Parçaları

- Perfüzyon solüsyonu için rezervuar
- Perfüzat hacmi için sıcak su haznesi
- Kalp bölmesi ve oksijenli perfüzat için hazne
- Perfüzyon solüsyonuna oksijen iletimi için pompa
- Sol ventrikülün basıncını kontrol etmek için transdüserle bağlı balon
- Fizyolojik verileri ölçüm sistemi
- Veri iletimi için amplifikatörler

3.5.10. Modifiye Tyrode Solüsyonu

Bir litre modifiye Tyrode solüsyonu, 7,5 g NaCl, 0,35 g KCl, 0,15 g CaCl₂, 0,1 g MgCl₂, 1,7 g NaHCO₃, 0,05 g NaH₂PO₄ ve 2 g glukoz içerir.

Stok Solüsyon A'nın Hazırlanışı

Bir litre modifiye Tyrode stok A solüsyonu hazırlanması için; 150 g NaCl, 7 g KCl, 3 g CaCl₂ ve 2 g MgCl₂ kullanıldı.

Stok Solüsyon B'nin Hazırlanışı

Bir litre modifiye Tyrode stok B solüsyonu hazırlanması için; 34 g NaHCO₃ ve 1 g NaH₂PO₄ kullanıldı.

Çalışma Solüsyonu Hazırlanışı

Bir litre modifiye Tyrode solüsyonu hazırlanması için; stok solüsyon A'dan 50 mL, stok solüsyon B'den 50 mL alınarak 2 g glukoz eklendi. Deiyonize suda çözülerek filtreden geçirildi.

3.5.11. Langendorff Deney Protokolü

Sakrifikasyonların öncesinde her sıçanın vücut ağırlığı ölçüldü. Anestezik maddelerin ilaç ve miyokart ile etkileşeceği düşünüldü ve sıçanlar herhangi bir anestezik madde kullanılmadan servikal dislokasyonla öldürüldü ve dekapitasyon uygulandı. Kalp aortun yaklaşık 2 mm proksimalinden kesilerek çıkartıldı. Kalbin durması ve içindeki kanın

boşaltılması için heparinize soğuk perfüzyon çözeltisine koyup ve ardından hızlıca aortadan Langendorff düzeneğine kanüle edilerek perfüzyon başlatıldı. Perfüzyon solüsyonu sistemin içine konulduktan sonra, % 95 O₂ ve % 5 CO₂ ile gazlandırıldı ve 22,1 mL/min 'lik bir sabit akış ile Minipuls 3 peristaltik pompa (Gilson Medical Electronics Middleton W 1 USA) ile gerçekleştirildi. Kardiyak kontraktıl fonksiyonlar ve atım hızı ile ısı arasında kuvvetli bir bağlantı vardır. Bu nedenle kalbin vücut sıcaklığına yakın şekilde olması için perfüzyon solüsyonu rezervuarda ve sistemde 37°C sıcaklığındaki su ile ısıtılmıştır (Süzer 1997).

Kalp kasılmasının mekanik kaydı için iki ayrı yöntem izlenebilir, bu deney protokollünde sol ventrikül içine 3 numara ince bir lateks balon (Commat Ltd. Ankara Türkiye) yerleştirildi ve basınç transdüktörü ile kaydedildi. Bu yöntemle kalbin gücü mm Hg şeklinde ifade edilir. Balon sol ventrikül içinde uygun pozisyona getirildi ve sonra balonun basıncı, diyastol sonu basıncı standardize etmek için ortalama 5 mm Hg olarak ayarlandı. Bipolar elektrokardiyogram apekse yerleştirilen elektrot (EL450 Unipolar Needle) ve lateks balon transdüsör arasındaki bütünlüğü sağlayan iletken çubuğa bağlı tel ile kaydedildi.

3.5.12. Langendorff Düzeneğinde Hesaplanan Parametreler

Veriler Biopac Systems MP 100 veri toplama sistemi ile dijital sisteme aktarıldı. Windows işletim sistemli bir bilgisayarda “Acq Knowledge Software Version 3.2.6” programı ile saniyede 200 veri alınarak ham veriler elde edildi.

İntraventriküler basınç, Biopac Systems TSD 104A (Kaliforniya, ABD) basınç transdüsörü ile ölçüldü. Bipolar elektrogram kayıtları ECG100B elektrokardiyogram amplifikatör üzerinden EL451 Unipolar iğne elektrot kullanılarak yapıldı.

Tüm izole edilmiş sıçan kalpleri Langendorff düzeneğin üzerinde aynı deney protokolüne tabi tutuldu. Paslanmaz çelik kanül üzerine kalp yerleştirildikten sonra, 40 dakikalık bir sürede kalp fonksiyonları gözlemlendi. Deney bittikten sonra doku örnekleri homojenizasyon işlemine kadar -80 °C 'de saklandı ve sonrasında gerçek zamanlı PCR analizi için kullanıldı.

İntraventriküler basınç kayıtlarından; sol ventrikül diyastol sonu basıncı (LVEDP: *left ventricular end diastolic pressure*), sol ventrikül gelişen basıncı (LVDP: *left ventricular developed pressure*), kasılma ve gevşeme gücünün zamana göre değişimi ($+dp/dt_{max}$, $-dp/dt_{max}$), pik sistolik basınca ulaşma süresi (TTP: *time to peak*),

ejeksiyon zamanı (ET: *ejection time*), kontraksiyon zamanı (CT: *contraction time*) ortalama koroner arter perfüzyon basıncı (mean PP: *mean perfusion pressure*), dakikadaki kalp atım sayısı (bpm: *beat per minute*) ölçülmesi için BSL PRO 3.7 kullanılarak analiz edildi.

Kalp ağırlığı sakrifikasyon gününde ölçüldü ve vücut ağırlığı tüm çalışma süresi boyunca haftada bir ölçülüp sakrifikasyon günü de ölçüldü.

3.5.13. Kardiyak Troponin (cTnI) Konsantrasyonunun Ölçülmesi

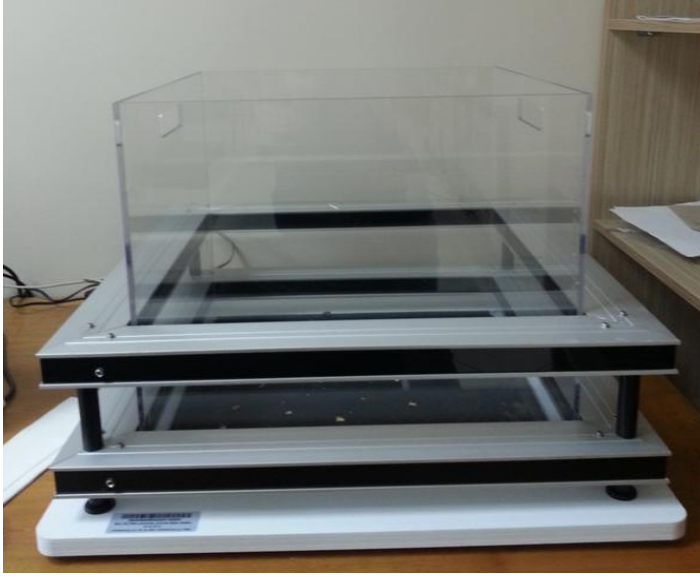
Dokso'nun farklı dozlarının tek başına ve Sipro ile uygulanmasından sonra bir yarı ömür geçmesi beklendi (48 saat), ardından sıçanların kan örnekleri toplandı ve plazma ekstraksiyonu için microtranier EDTA tüpleri kullanıldı. Toplanan plazmadan kardiyak troponin (cTnI) ölçüldü ya da daha sonra ölçülmesi için -20 °C'da saklandı. Kardiyak troponin plazma seviyeleri ticari olarak satılan Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assays (ELISA) kitleri (East Biopharm, China) ile ölçüldü.

3.5.14. Lokomotor Aktivitenin Değerlendirmesi

Sıçanların lokomotor aktivitesi, kontrol, akut ve kronik grup için, lokomotor aktivite cihazı kullanılarak değerlendirildi. Aktivite cihazı aşağıda tanımlandı (Şekil 3.5).

Aktivite Cihazı

Mevcut deney için, lokomotor aktivite cihazında sıçanın hareketleri kaydedildi. Bölme (26 cm x 21 cm x 40 cm) bir pleksiglas ön-menteşeli kapı ile opak plastikten (arka ve yan paneller) oluşmaktadır. Cihaz, ses ve ışığa karşı yalıtımlı bir alanda bulunmaktadır. İki fotosel (zemin seviyesinden 4 cm) lokomotor aktivitenin tespiti için haznenin uzunlamasına eksenini boyunca 15 cm aralıkla yerleştirildi. Sensörler (zemin seviyesinden 15 cm) her yan panel üzerinde konumlandı. Hayvanlar düzeneğe tek tek olarak alındı.



Şekil 3-6. Aktivite cihazı

3.5.15. Organ Ağırlıkları

Reletif organ ağırlıkları tüm vücut ağırlığına oranla hesaplandı.

3.6. İSTATİKSEL ANALİZ

Tüm değerler ortalama $\pm$ SE (standart hata: Standard error) olarak hesaplandı. Tek yönlü ANOVA ve ardından *post-hoc* Tukey testi kullanılarak anlamlılık değeri $p < 0.05$ olarak kabul edildi. Ayrıca buna ek olarak, tek başına Dokso ve Sipro grupları iki yönlü ANOVA yapıldı, ardından *post-hoc* Tukey kullanılarak değerlendirildi ($p < 0.05$) (Graph Pad Prism 4.0).

4. BULGULAR

4.1. FARMAKOKİNETİK

20 mg/kg/gün Sipro'nun, akut ve kronik uygulamada Dokso'nun kan düzeyine etkisi değerlendirildi. Kullanılan ELİSA yöntemi ile tedavi öncesi Dokso plazma konsantrasyonu 0 $\mu\text{mol/L}$ olarak ölçüldü.

4.1.1. Kronik Uygulama

3 hafta boyunca haftada 2 kez toplam 6 doz 1 mg/kg (toplam 6 mg) veya 2,5 mg/kg (toplam 15 mg) Dokso tek başına veya 20 mg/kg/gün Sipro ile birlikte uygulandı. Dokso'nun plazma konsantrasyonu Sipro ile düşük dozda % 23,5 (Dokso: $141,6 \pm 2,63$ - Sipro+Dokso: $174,9 \pm 2,216$ $\mu\text{mol/L}$) yüksek dozda % 14,3 (Dokso: $201,0 \pm 7,906$ - Sipro+Dokso: $229,8 \pm 9,928$ $\mu\text{mol/L}$) oranlarında anlamlı olarak yükseldi. Doza bağlı artış tek başına Dokso'da % 41,9 Sipro ile birlikte % 31,4 olarak saptandı ($p < 0,001$, Tablo: 4.1, Şekil: 4.1).

4.1.2. Akut Uygulama

Akut grupta tek doz 6 mg/kg veya 15 mg/kg Dokso tek başına veya 20 mg/kg/gün Sipro ile birlikte uygulandı. Dokso'nun plazma konsantrasyonu Sipro ile düşük dozda % 26,8 (Dokso: $143,1 \pm 2,650$ - Sipro+Dokso: $181,5 \pm 1,658$ $\mu\text{mol/L}$) yüksek dozda % 16,4 (Dokso: $196,0 \pm 2,989$ - Sipro+Dokso: $228,2 \pm 7,846$ $\mu\text{mol/L}$) oranlarında anlamlı olarak yükseldi. Doza bağlı artış tek başına Dokso'da % 37 Sipro ile birlikte % 25,7 olarak saptandı ($p < 0,001$, Tablo: 4.2, Şekil: 4.2).

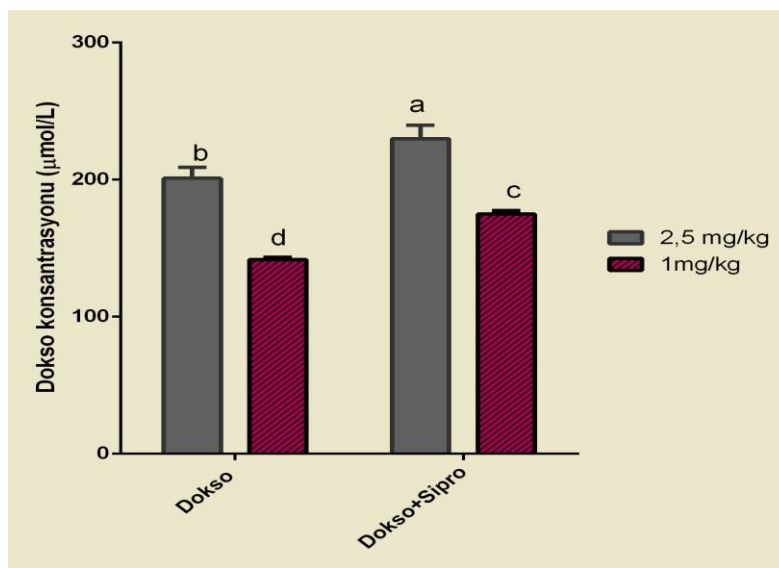
4.1.3. Akut Ve Kronik Uygulamaların Karşılaştırılması

Kronik düşük doz Dokso (1 mg/kg, toplam 6 mg/kg) ile akut düşük doz Dokso (6 mg/kg) grupları arasında, gerek tek başına gerekse Sipro ile birlikte uygulandıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Aynı şekilde kronik yüksek doz Dokso (2,5 mg/kg: toplam 15 mg/kg) ile akut yüksek doz Dokso (15 mg/kg) grupları arasında, gerek tek başına gerekse Sipro ile birlikte uygulandıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo: 4.3, Şekil: 4.3).

Tablo 4.1. Kronik uygulamada doksorubisinin plazma konsantrasyonu

Gruplar	Dokso (1mg/kg) n=8	Dokso + Sipro (1 + 20mg/kg) n =8	Dokso (2,5 mg/kg) n =4	Dokso + Sipro (2,5 + 20 mg/kg) n =5
Dokso μM/dL	141,6±2,63 ^d	174,9 ±2,216 ^c	201,0±7,906 ^b	229,8±9,928 ^a

Veriler ortalama±standart hata olarak verildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır (p < 0,001).

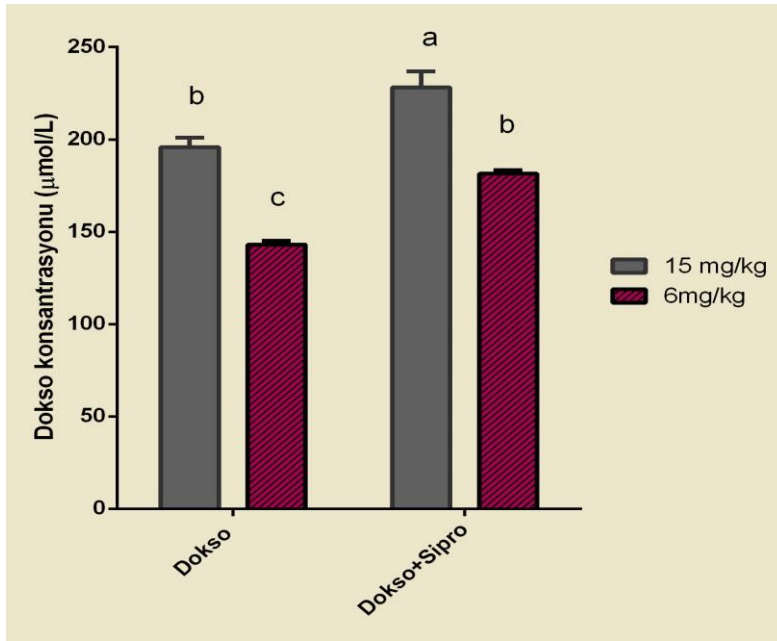
**Şekil 4-1. Kronik olarak Dokso (1 veya 2,5 mg/kg) ve Dokso + Sipro (20 mg/kg) uygulanan gruplarda doksorubisinin plazma konsantrasyonları**

Değerler ortalama±standart hata olarak verildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır (p < 0,001).

Tablo 4.2. Akut uygulamada doksorubisinin plazma konsantrasyonu

Gruplar	Dokso (6 mg/kg) n = 8	Dokso + Sipro (6 + 20mg/kg) n = 8	Dokso (15 mg/kg) n = 8	Dokso + Sipro (15 + 20 mg/kg) n = 8
Dokso μM/dL	143,1±2,650 ^c	181,5±1,658 ^b	196,0±2,989 ^b	228,2±7,846 ^a

Ortalama±standart hata olarak verildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır (p < 0,001).



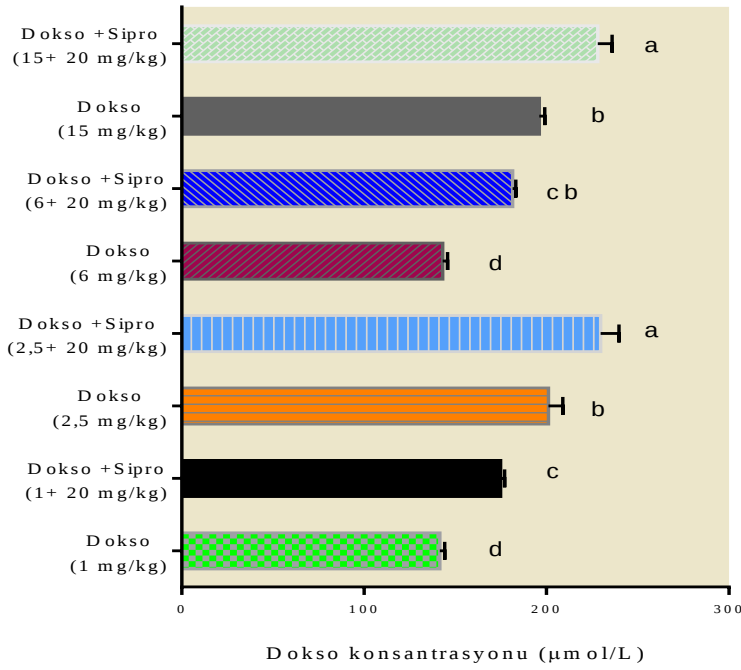
Şekil 4-2. Akut olarak Dokso (6 ve 15 mg/kg) ve Dokso + Sipro (20mg/ kg) uygulanan gruplarda doksorubisinin plazma konsantrasyonları

Veriler ortalama±standart hata olarak verildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,001$).

Tablo 4.3. Kronik ve akut gruplarda doksorubisin konsantrasyonunun karşılaştırılması

Gruplar	Kronik	Gruplar	Akut
Dokso (1mg/kg) n= 8	141,6±2,63 ^d	Dokso (6 mg/kg) n= 8	143,1±2,650 ^d
Dokso + Sipro (1 +20 mg/kg) n= 8	174,9 ±2,216 ^c	Dokso + Sipro (6 +20 mg/kg) n= 8	181,5±1,658 ^{cb}
Dokso (2,5 mg/kg) n= 4	201,0±7,906 ^b	Dokso (15 mg/kg) n= 8	3196,0±2,989 ^b
Dokso +Sipro (2,5 +20 mg/kg) n= 5	229,8±9,928 ^a	Dokso +Sipro (15 +20 mg/kg) n= 8	228,2±7,846 ^a

Veriler (µM/L) ortalama±standart hata olarak verildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,0001$).



Şekil 4-3. Kronik ve akut grupların karşılaştırılması

Veriler ortalama±standart hata olarak verildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,0001$).

4.2. KARDİYAK TOKSİSİTE

4.2.1. Kardiyak Troponin (cTnI) Plazma Konsantrasyonu

3 haftalık serum fizyolojik uygulanan sıçanlarda plazma cTnI seviyeleri $1,317 \pm 0,12$ ng/mL olarak ölçüldü. Akut ve kronik ilaç tedavisi uygulanan gruplarda kontrole göre % 137-248 arası oranlarda anlamlı artışlar saptandı ($p < 0,0001$; Tablo 4.4, Şekil 4.4).

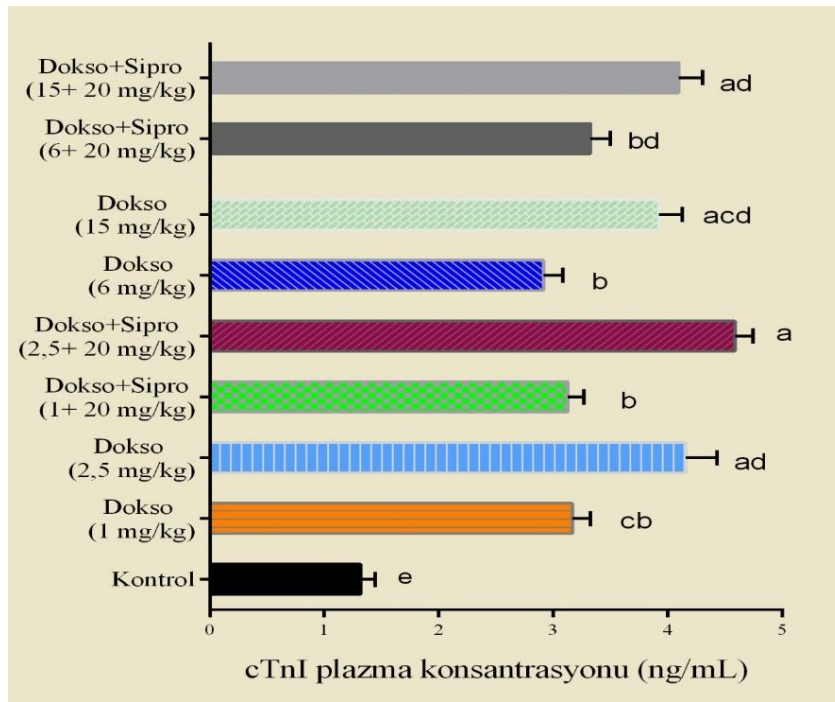
Kronik düşük doz Dokso (1 mg/kg, toplam 6 mg/kg) ile akut düşük doz Dokso (6 mg/kg) grupları arasında, gerek tek başına gerekse Sipro ile birlikte uygulandıklarında plazma cTnI seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Aynı şekilde kronik yüksek doz Dokso (2,5 mg/kg: toplam 15 mg/kg) ile akut yüksek doz Dokso (15 mg/kg) grupları arasında, gerek tek başına gerekse sipro ile birlikte uygulandıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 4.4, Şekil 4.4).

Dokso, plazma cTnI seviyelerini gerek kronik gerekse akut uygulamada doza bağılı olarak anlamlı olarak artırdı. İki doz arasındaki fark, kronik uygulamada % 31,5 akut uygulamada % 34,6'dır. 20 mg/kg Sipro gerek kronik gerekse akut uygulamada Dokso'nun bu etkisini değiştirmede (Şekil 4.5, Şekil 4.6).

Tablo 4.4. Kronik ve akut gruplarda plazma cTnI konsantrasyonu (ng/mL)

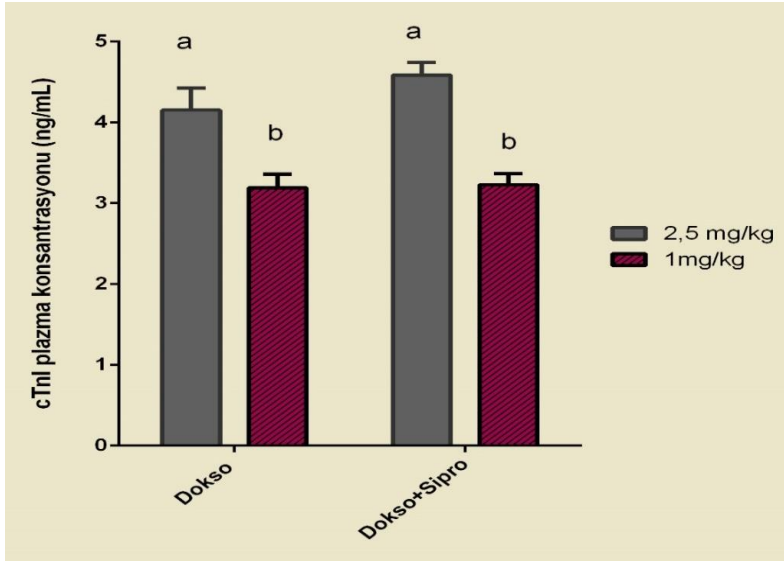
Gruplar	Kronik	Gruplar	Akut
Kontrol n= 8	1,317 ± 0,126 ^e	Kontrol n= 8	1,317 ± 0,126 ^e
Dokso (1 mg/kg) n= 8	3,16 ± 0,150 ^{cb}	Dokso (6 mg/kg) n= 8	2,914 ± 0,167 ^b
Dokso + Sipro (1 +20 mg/kg) n= 8	3,126 ± 0,140 ^b	Dokso + Sipro (6 +20 mg/kg) n= 8	3,324 ± 0,167 ^{bd}
Dokso (2,5 mg/kg) n= 4	4,155 ± 0,273 ^{ad}	Dokso (15 mg/kg) n= 8	3,921 ± 0,201 ^{acd}
Dokso +Sipro (2,5 +20 mg/kg) n= 5	4,585 ± 0,157 ^a	Dokso +Sipro (15 +20 mg/kg) n= 8	4,091 ± 0,213 ^{ad}

Veriler ortalama±standart hata olarak verildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır (p <0,0001).



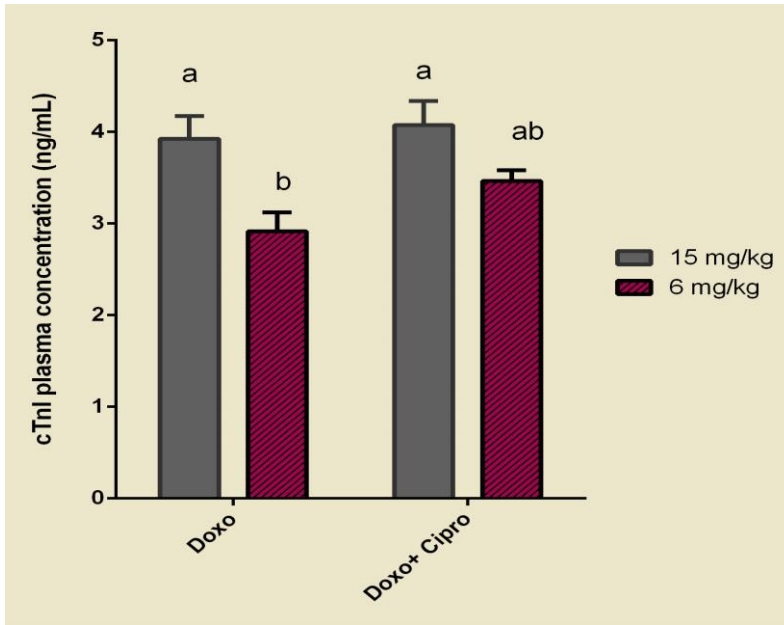
Şekil 4-4. Dokso'nun tek başına ve Dokso + Sipro'nun birlikte verilmesinin cTnI plazma konsantrasyonu üzerine etkisi

Veriler ortalama±standart hata olarak verildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır (p <0,0001).



Şekil 4-5. Kronik gruplarda Dokso'nun tek başına ve Dokso + Sipro'nun birlikte verilmesinin cTnI plazma konsantrasyonu üzerine etkisi

Veriler ortalama±standart hata olarak verildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,05$).



Şekil 4-6. Akut gruplarda Dokso'nun tek başına ve Dokso + Sipro'nun birlikte verilmesinin cTnI plazma konsantrasyonu üzerine etkisi

Veriler ortalama±standart hata olarak verildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,05$).

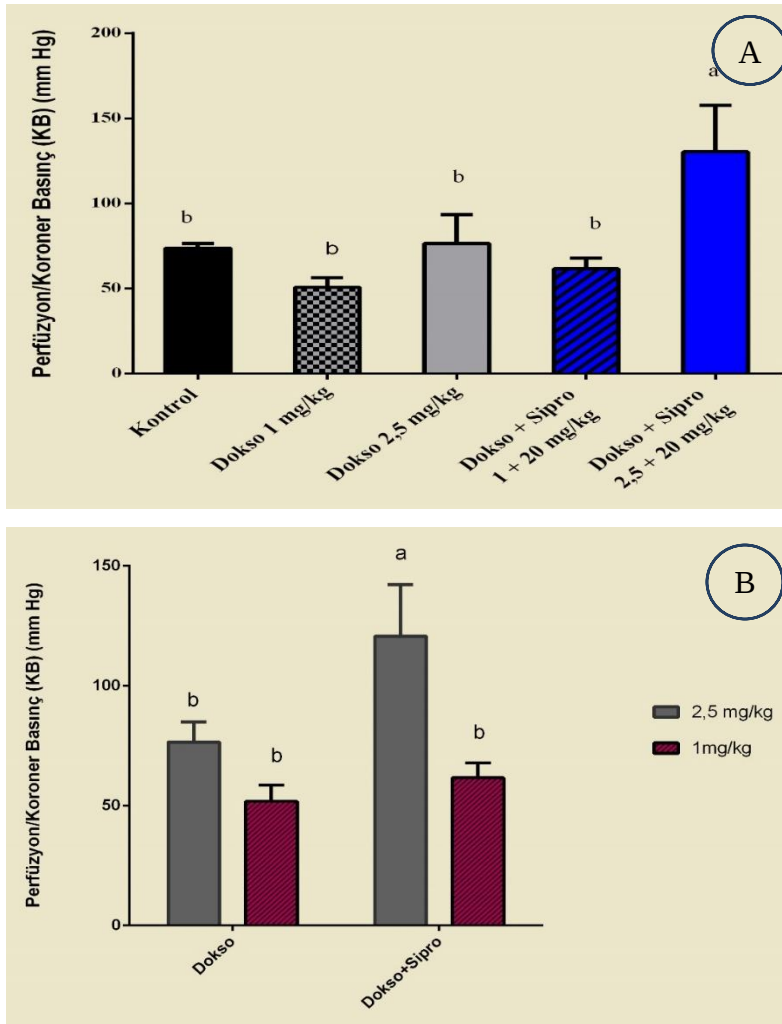
4.2.2. Kalp Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi

Langendorff Parametreleri

Akut uygulamada Langendorff Parametrelerinde gruplar arası anlamlı bir değişiklik oluşmadı. Kronik uygulama sonuçları aşağıda belirtildi.

4.2.2.1. Perfüzyon/Koroner Basınç (KB)

Tek başına 1mg/kg ve 2,5 mg/kg Dokso uygulaması koroner basınçta kontrol grubuna göre anlamlı bir fark oluşturmadi. Sadece 2,5 mg/kg Dokso + 20 mg/kg Sipro ile tedavi edilen sıçanların koroner basıncı tüm gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,001$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark oluşmadı (Şekil 4.7A, B).

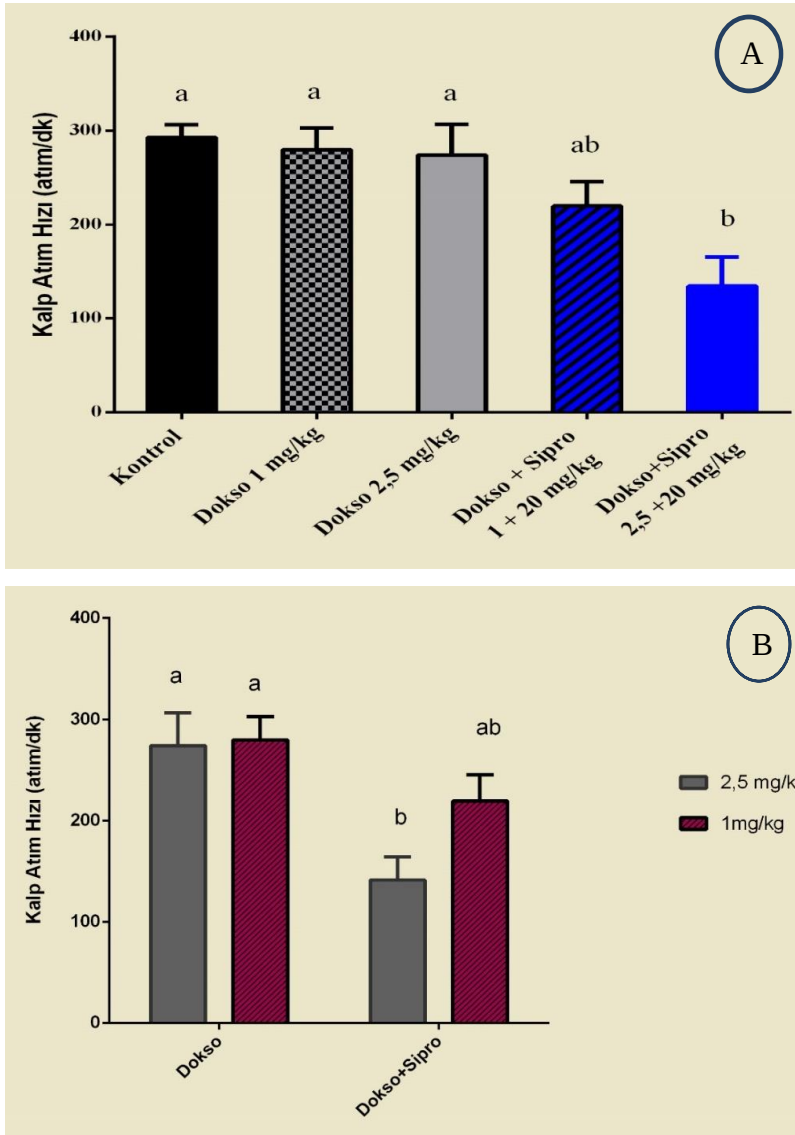


Şekil 4-7. A, B: Kontrol ve tedavi gruplarında koroner basınç

Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,001$).

4.2.2.2. Kalp Atım Hızı (KAH)

Tek başına Dokso kontrol grubuna göre kalp atım hızını değıştirmede. 2,5 mg/kg Dokso + 20 mg/kg Sipro ile tedavi edilen sıçanların kalp atım hızı tüm gruplara göre anlamlı olarak düştü ($p < 0,001$). Diğler gruplar arasında anlamlı bir fark oluşmadı (Şekil 4.8A, B).

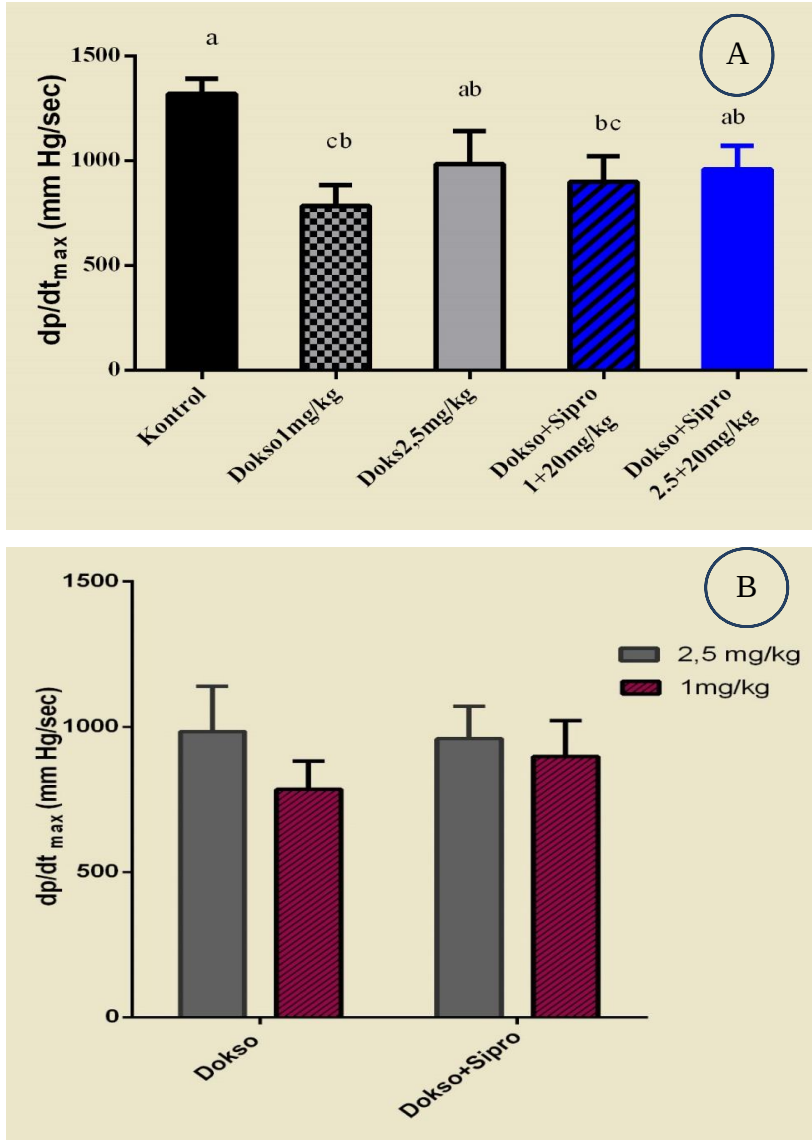


Şekil 4-8. A,B: Kontrol ve tedavi gruplarında kalp atım hızı

Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,001$).

4.2.2.3. dp/dt_{max}

1 mg/kg Dokso ve 1 mg/kg Dokso + 20mg/kg Sipro ile tedavi edilen sıçanlarda, kontrol grubuna göre dp/dt_{max} değerlerinin sırasıyla % 40 ve % 31 oranlarında anlamlı olarak düştüğü görüldü ($p < 0,05$, Şekil 4.9A). Diğer tedavi gruplarındaki azalma (% 25-27) istatistiksel olarak anlamsız bulundu (Şekil 4.9A, B).

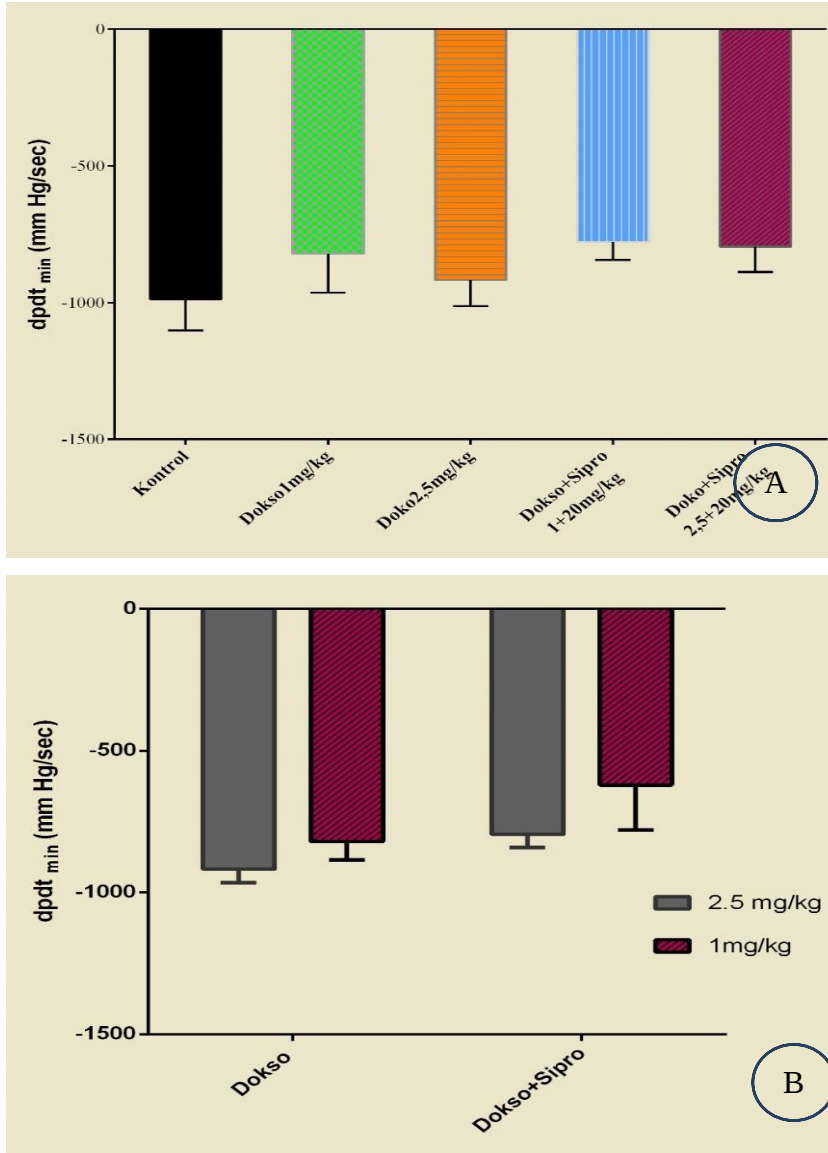


Şekil 4-9. A, B: Kontrol ve tedavi gruplarında dp/dt_{max} değerinin karşılaştırılması

Veriler ortalama±standart hata olarak gösterildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,05$).

4.2.2.4. dp/dt_{min}

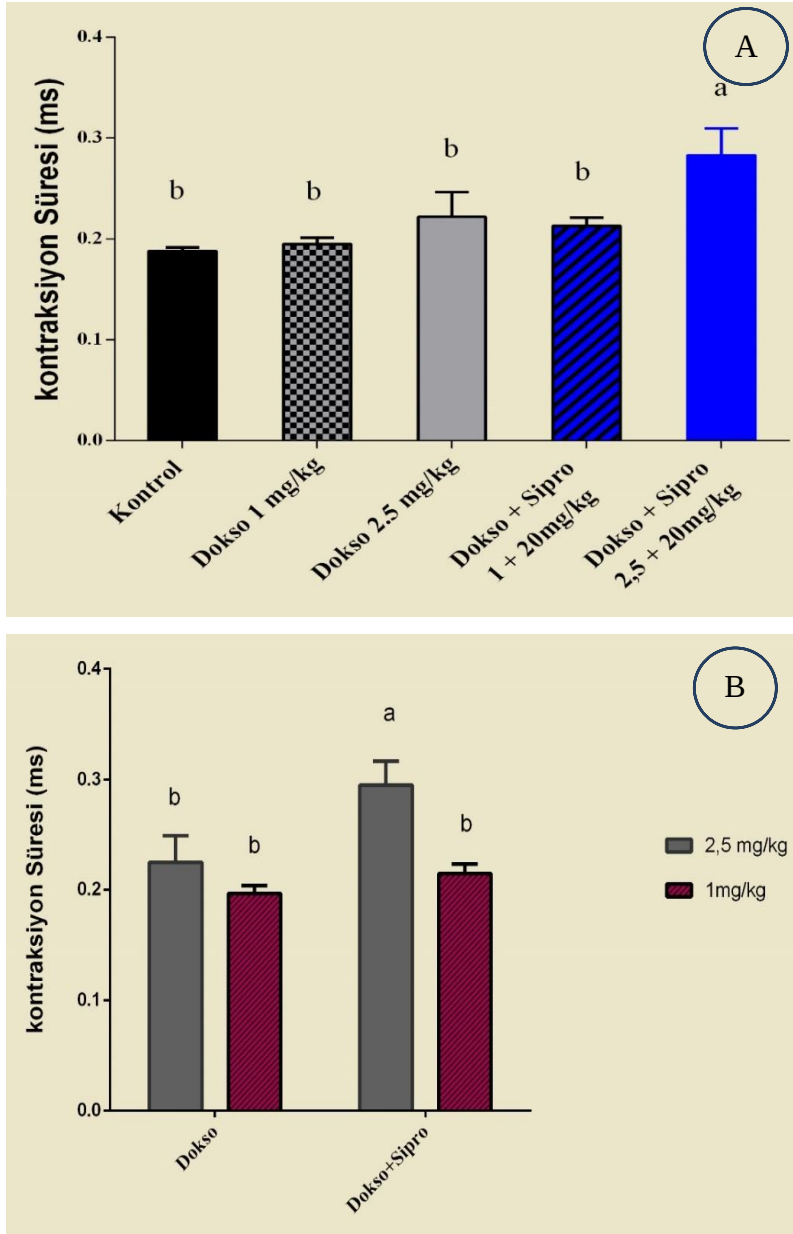
Tüm gruplar kendi aralarında ve kontrol grubu ile kıyaslandığında dp/dt_{min} değerinde anlamlı bir fark bulunamadı ($p > 0,05$, Şekil 4.10A, B).



Şekil 4-10. A, B: Kontrol ve tedavi gruplarında dp/dt_{min} değerinin karşılaştırılması
Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi. Gruplar arasından anlamlılık gözlenmedi ($p>0,05$).

4.2.2.5. Kontraksiyon Süresi

Gerek düşük gerekse yüksek doz Dokso kalp kontraksiyon süresini anlamlı olarak değiştirmede. Sadece 2,5 mg/kg Dokso + 20 mg/kg Sipro uygulanan sıçanlarda kontraksiyon süresi tüm gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,001$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark oluşmadı (Şekil 4.11A, B).

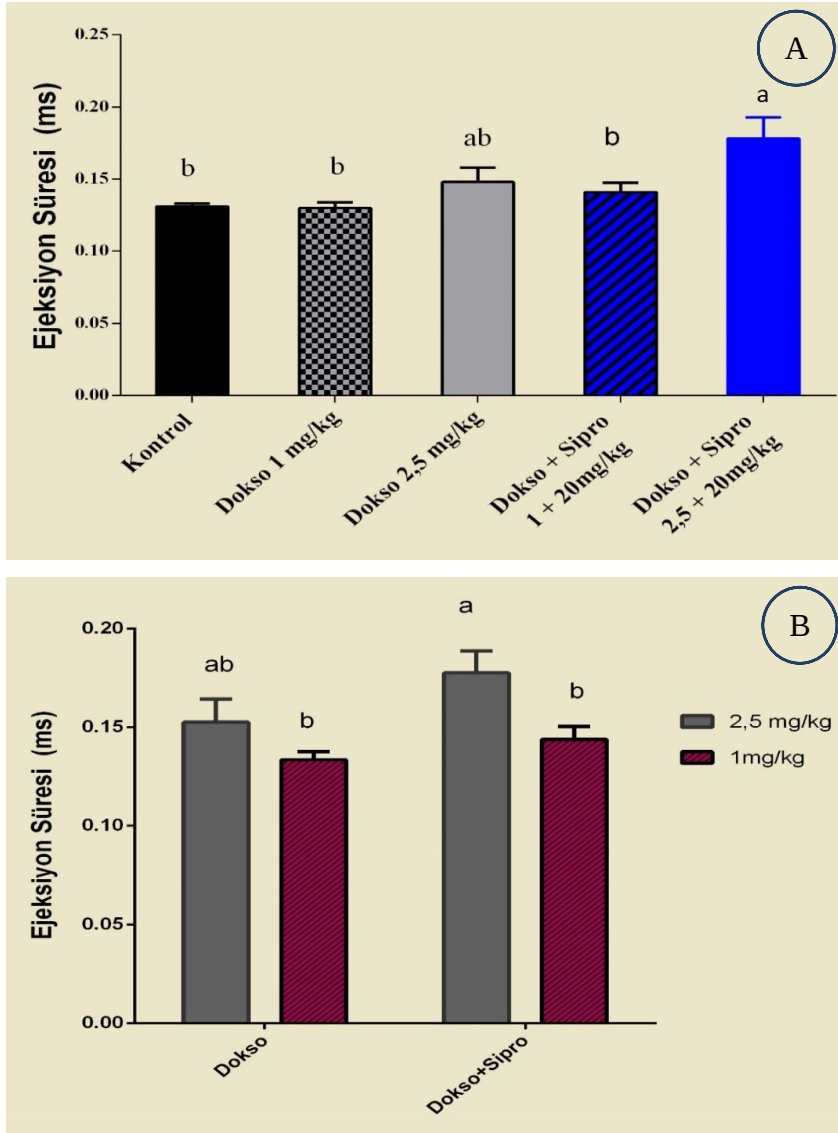


Şekil 4-11. A, B: Kontrol ve tedavi gruplarında kalp kontraksiyon sürelerinin karşılaştırılması

Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,05$).

4.2.2.6. Ejeksiyon Süresi

2,5 mg/kg Dokso + 20 mg/kg Sipro uygulanan sıçanlarda ejeksiyon süresi, yüksek doz Dokso uygulanan grup hariç, tüm gruplara göre anlamlı olarak uzadı ($p < 0,001$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark oluşmadı (Şekil 4.12A, B).

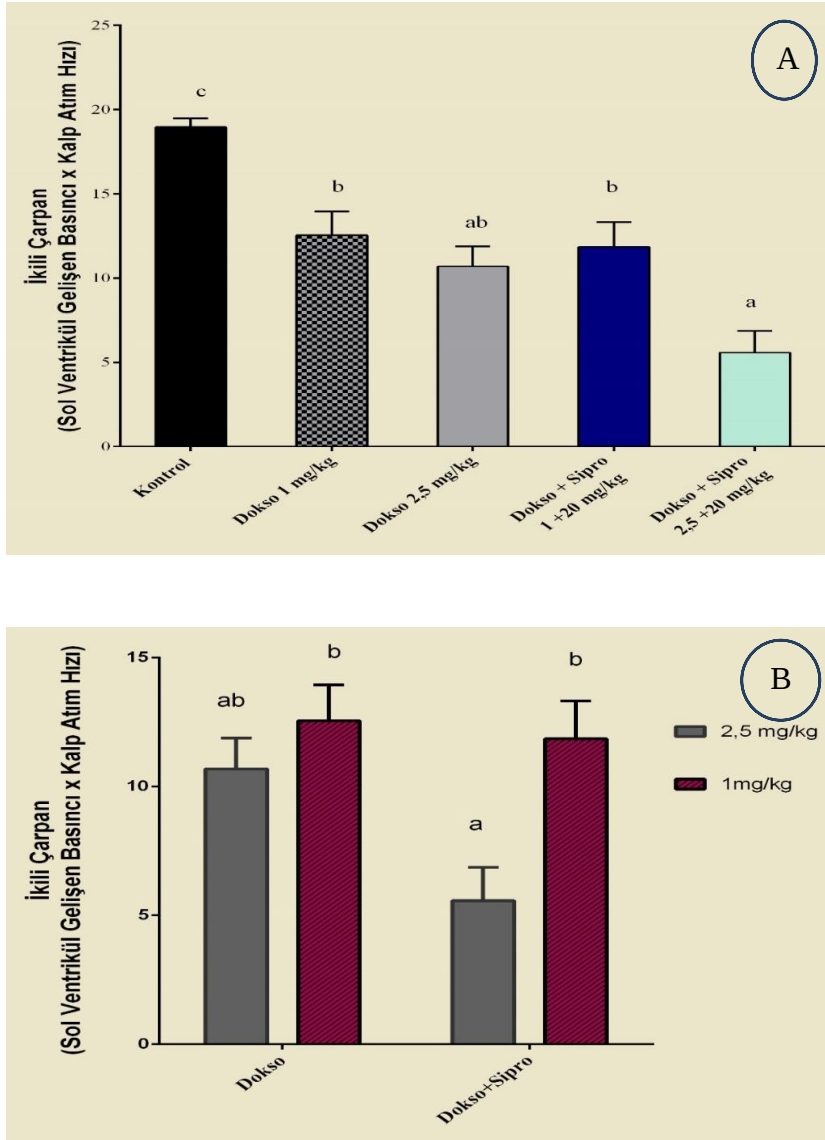


Şekil 4-12. A, B: Kontrol ve tedavi grupları arasında ejeksiyon sürelerinin karşılaştırılması

Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,001$).

4.2.2.7. İkili çarpan (Sol ventrikül basıncı (VB) x Kalp atım hızı (KAH))

İkili çarpan kalp fonksiyon değerleri tüm tedavi gruplarında kontrole göre %33-70 oranlarında anlamlı olarak düşük bulundu ($p < 0,05$). En fazla düşüş 2,5 mg/kg Dokso + 20 mg/kg Sipro uygulanan sıçanlarda saptandı (%70). Tek başına Dokso grupları ile + Sipro grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı. ($p > 0,05$; Şekil 4.13A,B).



Şekil 4-13. A, B: Kontrol ve tedavi grupları arasında ikili çarpan değerinin karşılaştırılması

Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,05$).

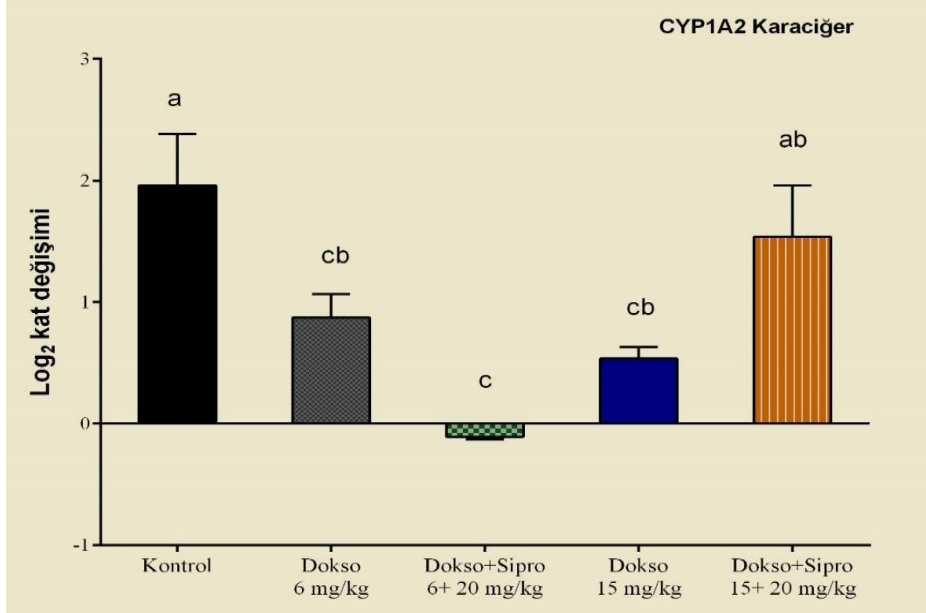
4.3. GEN EKSPRESYONU

4.3.1. CYP1A2

4.3.1.1. Karaciğer

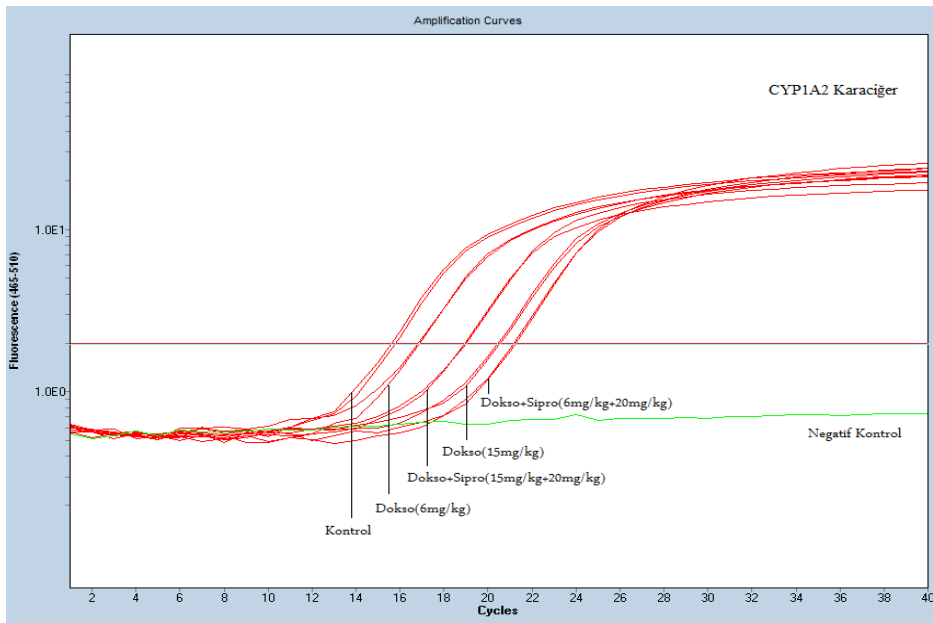
Akut uygulamada Dokso yüksek dozda daha fazla olmak üzere her iki dozda da karaciğerde CYP1A2 gen ekspresyonu kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalttı ($p < 0,05$). 20 mg/kg Sipro, anlamlı olmamakla birlikte, 6 mg/kg Dokso'nun azalma

yönündeki etkisini artırırken, 15 mg/kg Dokso'nun etkisini tersine çevirdi ($p>0,05$, Şekil 4.14a). Karaciğerde CYP1A2 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi Şekil 4.14b'de gösterildi.



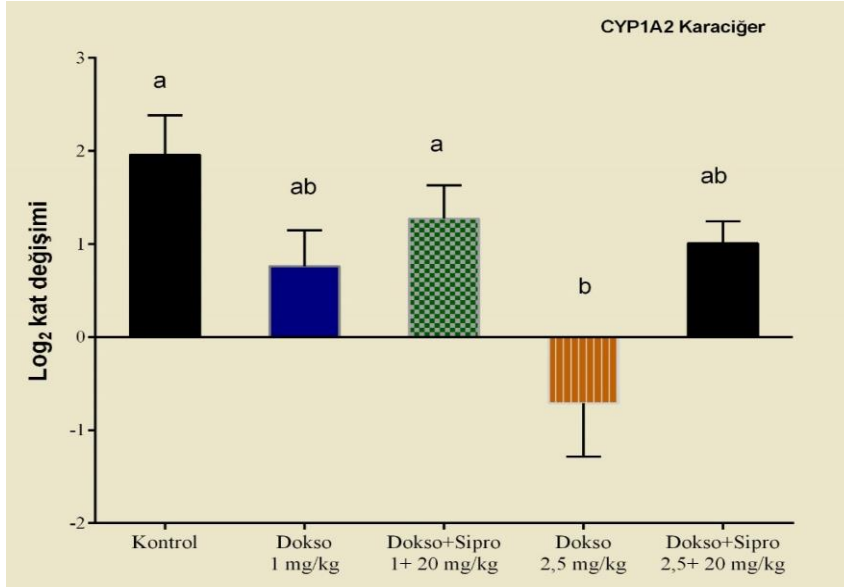
Şekil 4-14. a: Akut uygulamada karaciğerde CYP1A2 gen ekspresyonu

Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı derecede birbirinden farklıdır ($p<0,05$).



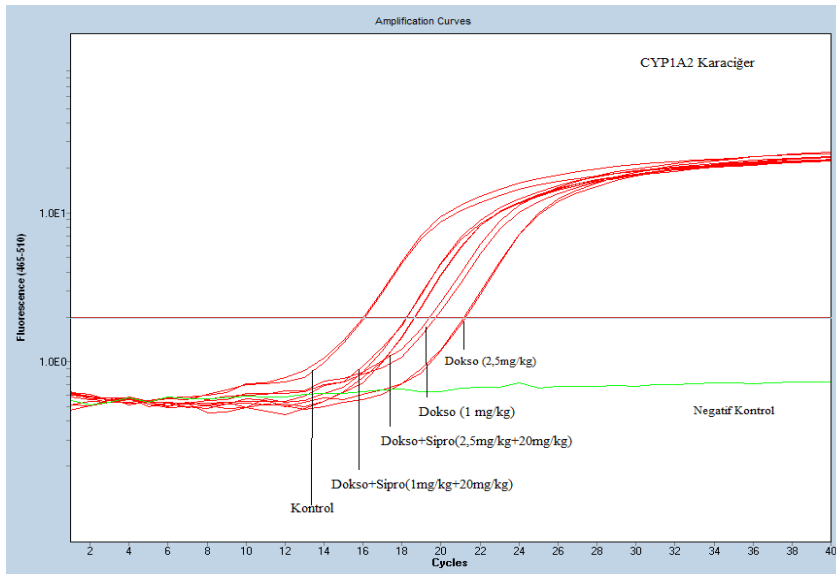
Şekil 4-14. b: Akut uygulamada karaciğerde CYP1A2 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi

Kronik uygulamada 2,5 mg/kg Dokso kontrol grubuna göre karaciğerde CYP1A2 gen ekspresyonu anlamlı olarak azalttı ($p < 0,05$). Diğer tedavi grupları ve kontrol grubu karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı (Şekil 4.15a). Karaciğerde CYP1A2 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi Şekil 4.15b’de gösterildi.



Şekil 4-15. a: Kronik uygulamada karaciğerde CYP1A2 gen ekspresyonu

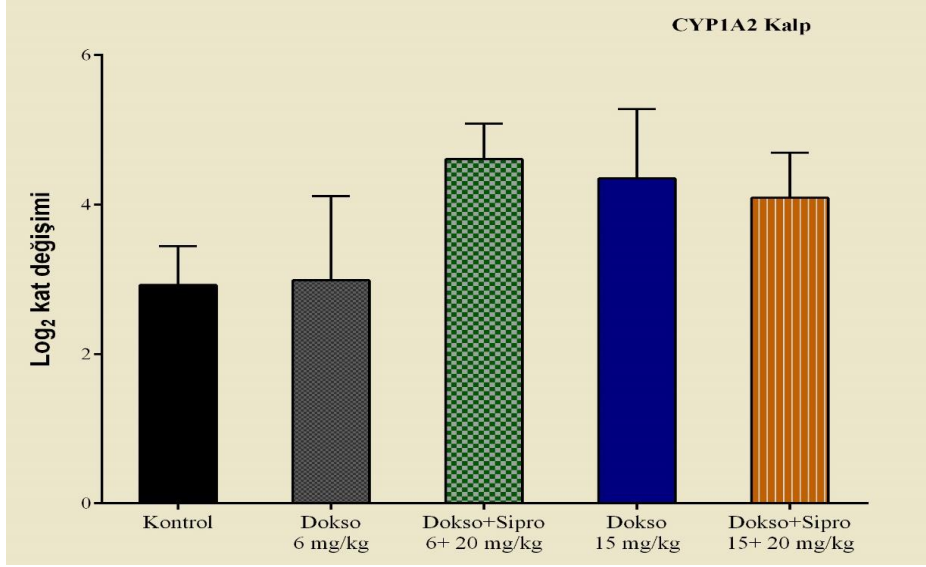
Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı derecede birbirinden farklıdır ($p < 0,05$).



Şekil 4-15. b: Kronik uygulamada karaciğerde CYP1A2 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi

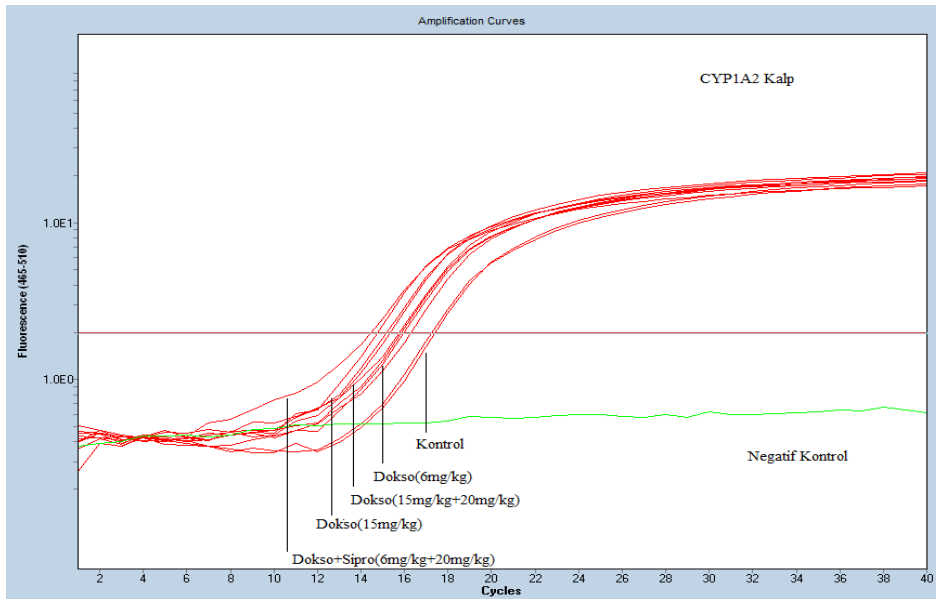
4.3.1.2. Kalp

Akut ilaç tedavisi, kalp CYP1A2 gen ekspresyonunda gruplar arası anlamlı fark oluşturmada (Şekil 4.16a, $p>0,05$). Kalpte CYP1A2 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi Şekil 4.16b’de gösterildi.



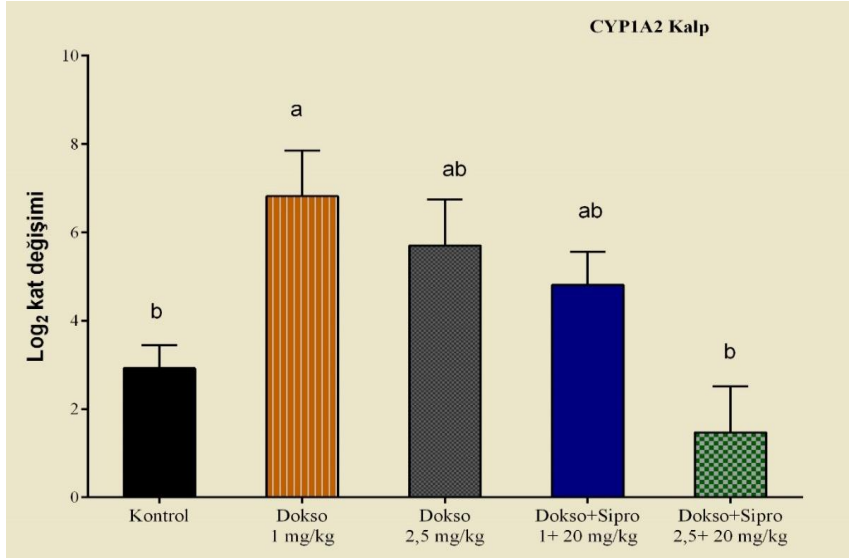
Şekil 4-16. a: Akut uygulamada kalpte CYP1A2 gen ekspresyonu

Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi. Gruplar arasından anlamlılık gözlenmedi ($p > 0,05$).



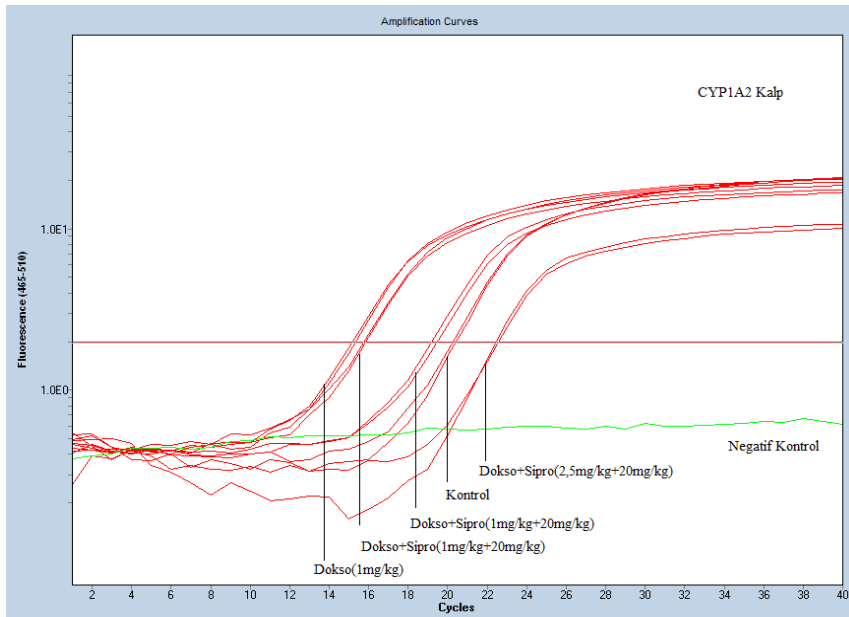
Şekil 4-16. b: Akut uygulamada kalpte CYP1A2 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi

Kronik uygulamada 1 mg/kg Dokso kontrol grubuna göre CYP1A2 gen ekspresyonunu kalpte %50 oranında anlamlı olarak arttırdı ($p<0,05$). Diğer gruplar kontrol ve birbiriyle karşılaştırıldığında, anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 4.17a). Kalpte CYP1A2 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi Şekil 4.17b’de gösterildi.



Şekil 4-17. a: Kronik uygulamada kalpte CYP1A2 gen ekspresyonu

Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı derecede birbirinden farklıdır ($p < 0,05$).

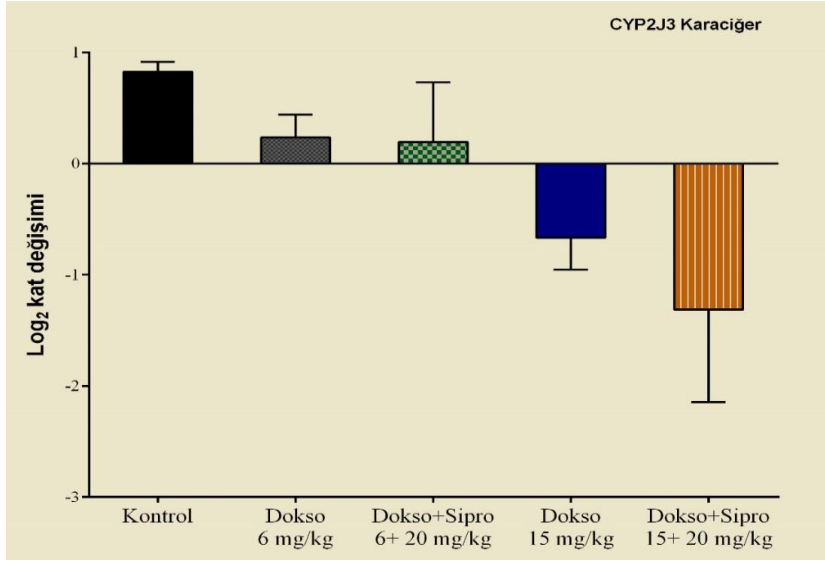


Şekil 4-17.b: Kronik uygulamada kalpte CYP1A2 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi

4.3.2. CYP2J3

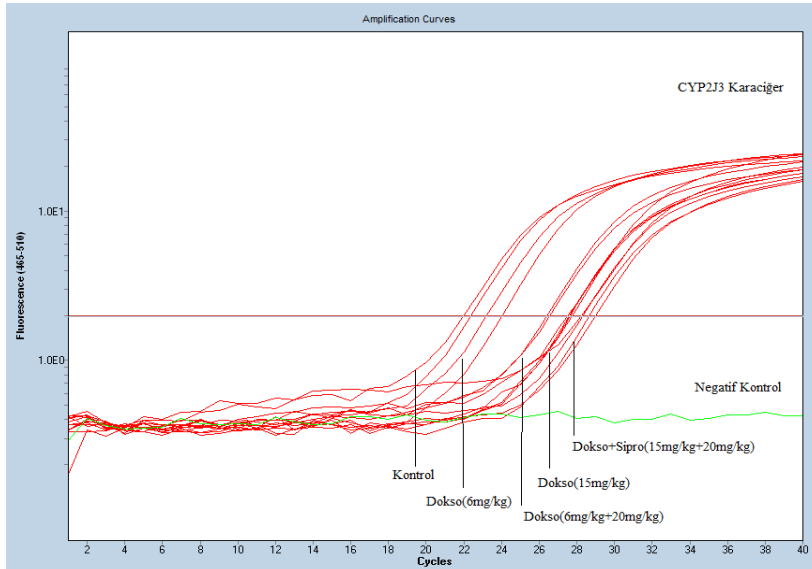
4.3.2.1. Karaciğer

Akut ilaç uygulaması karaciğerde CYP2J3 gen ekspresyonunda gruplar arası anlamlı fark oluşturmadi (Şekil 4.18a, $p>0,05$). Karaciğerde CYP2J3 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi Şekil 4.18b’de gösterildi.



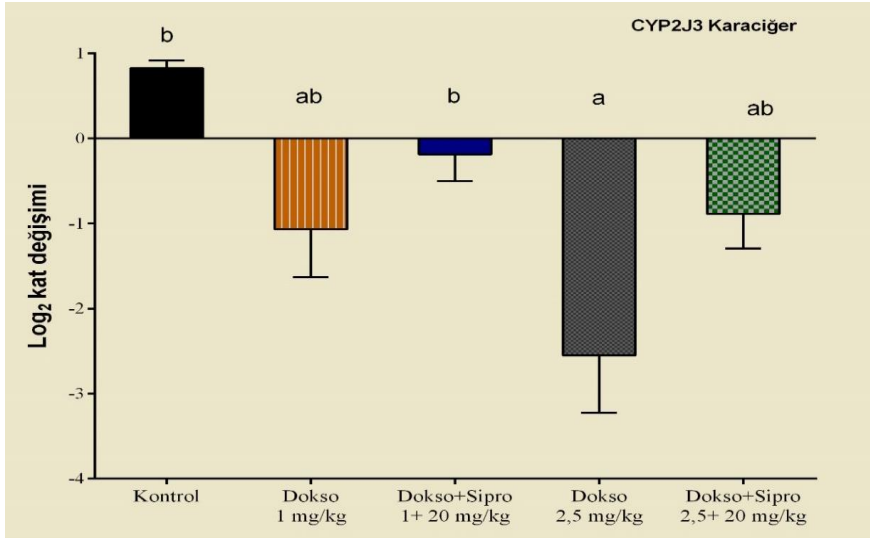
Şekil 4-18. a: Akut uygulamada karaciğerde CYP2J3 gen ekspresyonu

Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi. Gruplar arasında anlamlılık gözlenmedi ($p > 0,05$).



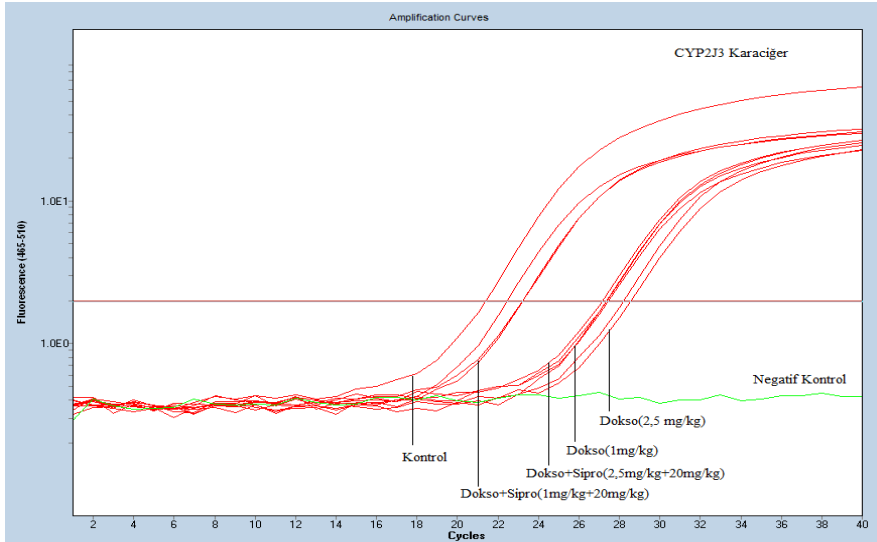
Şekil 4-18. b: Akut uygulamada karaciğerde CYP2J3 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi

Kronik uygulamada 2,5 mg/kg Dokso kontrol grubuna göre CYP2J3 gen ekspresyonunu karaciğerde 4 kat azalttı ($p=0,001$). Bu azalma 20 mg/kg Sipro ile birlikte anlamlı olmamakla birlikte 2 kat geriye döndü. Diğer gruplar kontrol grubu ve birbiriyle karşılaştırıldığında, anlamlı fark görülmedi (Şekil 4.19a). Karaciğerde CYP2J3 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi Şekil 4.19b’de gösterildi.



Şekil 4-19. a: Kronik uygulamada karaciğerde CYP2J3 gen ekspresyonu

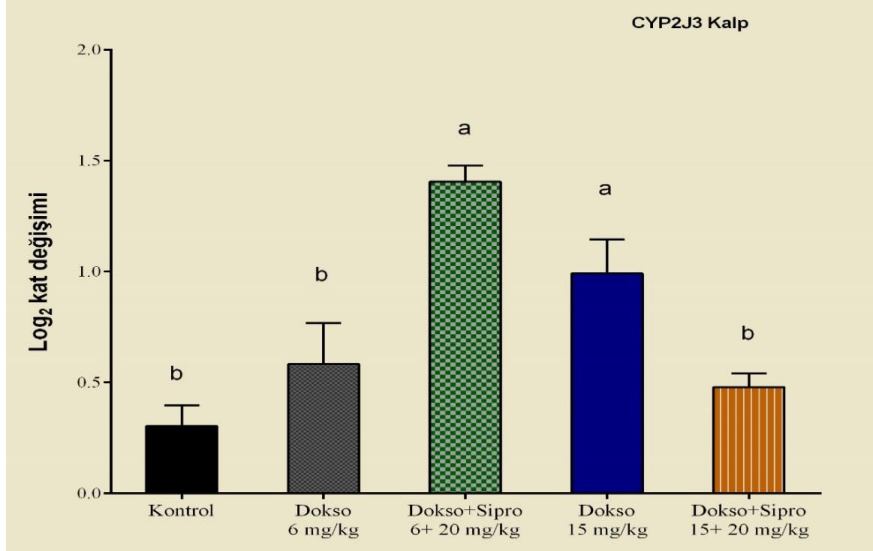
Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı derecede birbirinden farklıdır ($p < 0,05$).



Şekil 4-19. b: Kronik uygulamada karaciğerde CYP2J3 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi

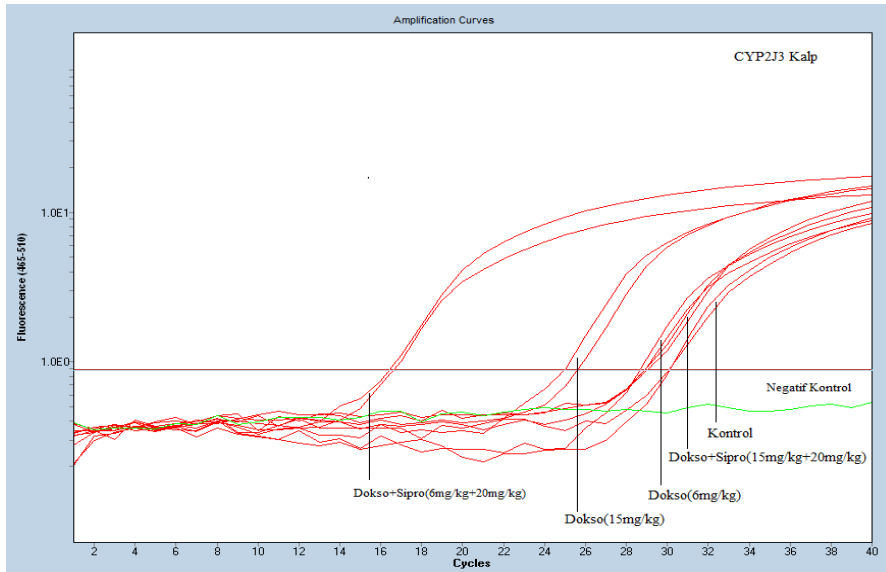
4.3.2.2. Kalp

Akut olarak uygulanan 6 mg/kg Dokso + 20 mg/kg Sipro % 78 ve 15 mg/kg Dokso % 69 oranında kontrol grubuna göre CYP2J3 gen ekspresyonunu kalpte anlamlı bir şekilde artırdı ($p < 0,005$; Şekil 4.20a). Kalpte CYP2J3 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi Şekil 4.20b’de gösterildi.



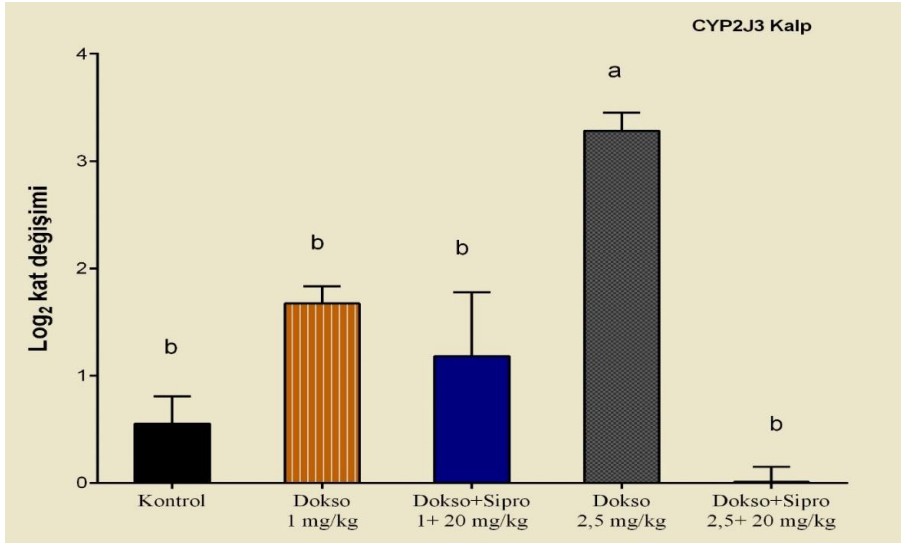
Şekil 4-20. a: Akut uygulamada kalpte CYP2J3 gen ekspresyonu

Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı derecede birbirinden farklıdır ($p < 0,005$).



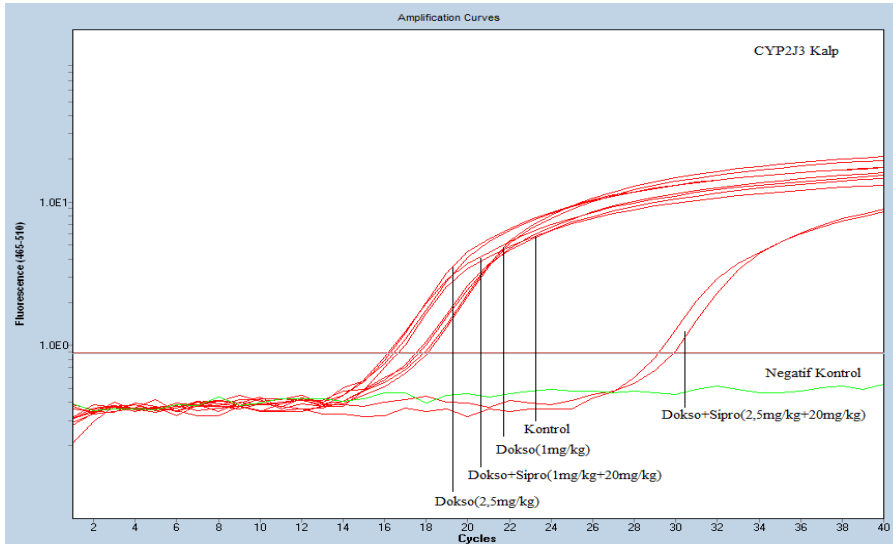
Şekil 4-20. b: Akut uygulamada kalpte CYP2J3 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi

Kronik uygulamada Dokso doza bağılı olarak kalpte CYP2J3 gen ekspresyonunu artırdı ($p=0,001$). 2,5 mg/kg Dokso grubunda anlamlı olan bu artış (% 83), 20 mg/kg Sipro ile birlikte % 99 oranında azaldı ($p=0,001$). 1 mg/kg Dokso ile 2,5 mg/kg Dokso grupları arasındaki fark % 56'dır ($p=0,03$; Şekil 4.21a). Kalpte CYP2J3 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi Şekil 4.21b'de gösterildi.



Şekil 4-21. a: Kronik uygulamada kalpte CYP2J3 gen ekspresyonu

Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı derecede birbirinden farklıdır ($p < 0,05$).

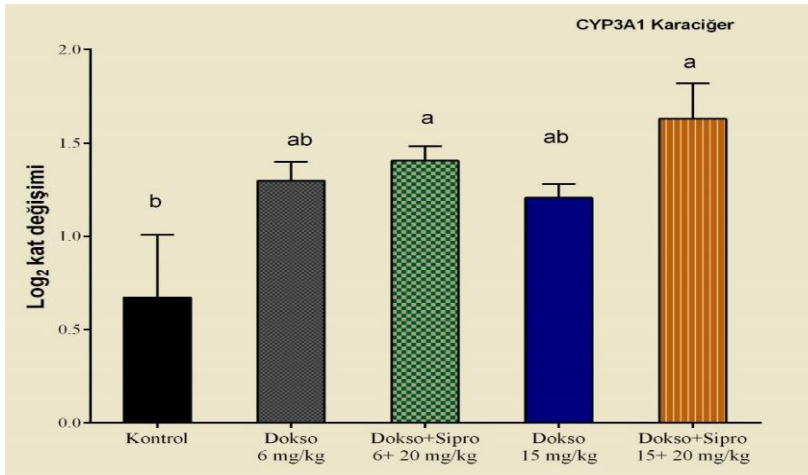


Şekil 4-21. b: Kronik uygulamada kalpte CYP2J3 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi

4.3.3. CYP3A1

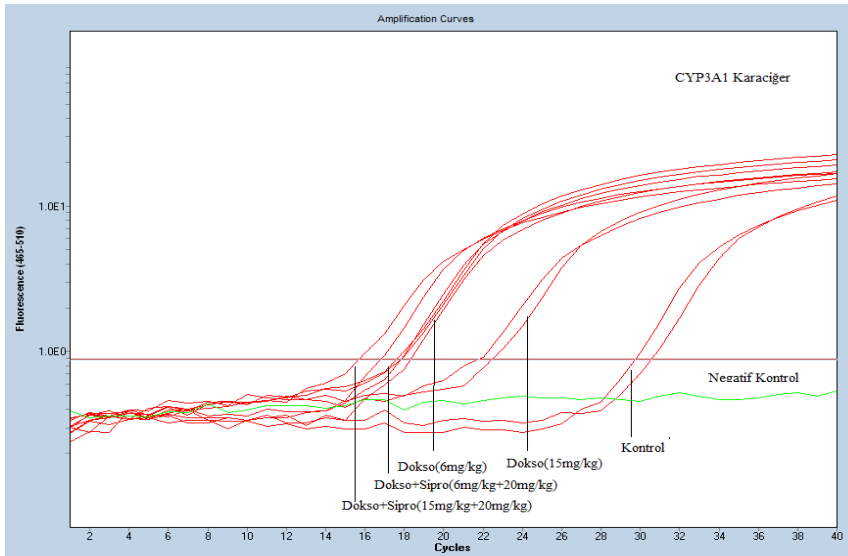
4.3.3.1. Karaciğer

Akut Dokso tedavisi karaciğer CYP3A1 gen ekspresyonunu her iki dozda da artırdı. Kontrol grubuna göre anlamsız olan bu etki 20 mg/kg Sipro ile birlikte kontrol grubuna göre % 52-58 oranında anlamlı olarak arttı ($p < 0,05$; Şekil 4.22a). Karaciğerde CYP3A1 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi Şekil 4.22b’de gösterildi.



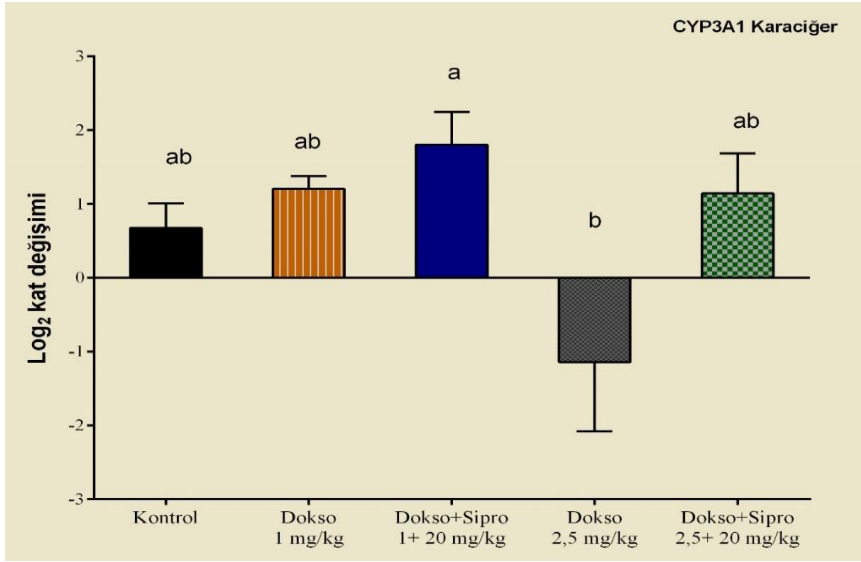
Şekil 4-22. a: Akut uygulamada karaciğerde CYP3A1 gen ekspresyonu

Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı derecede birbirinden farklıdır ($p < 0,05$).



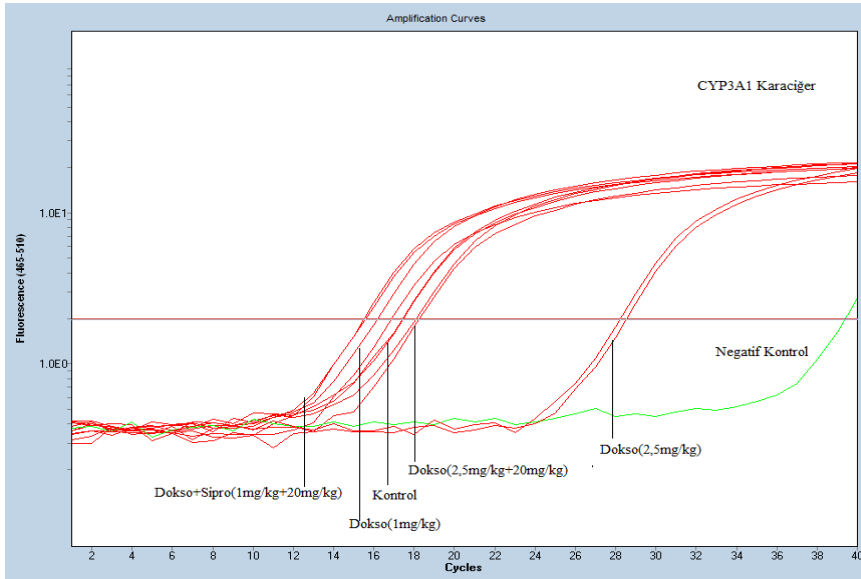
Şekil 4-22. b: Akut uygulamada karaciğerde CYP3A1 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi

Kronik uygulamada 1 mg/kg Dokso + 20 mg/kg Sipro grubuna göre, 2,5 mg/kg Dokso grubunda CYP3A1 gen ekspresyonu karaciğerde anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,008$). Diğer gruplar kontrol ve birbiriyle karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı (Şekil 4.23a). Karaciğerde CYP3A1 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi Şekil 4.23b’de gösterildi.



Şekil 4-23. a: Kronik uygulamada karaciğerde CYP3A1 gen ekspresyonu

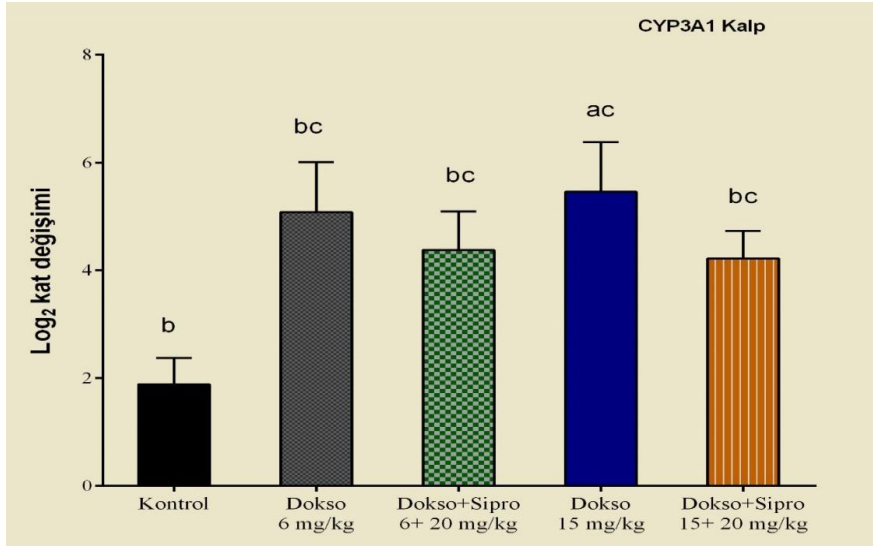
Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı derecede birbirinden farklıdır ($p < 0,05$).



Şekil 4-23. b: Kronik uygulamada karaciğerde CYP3A1 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi

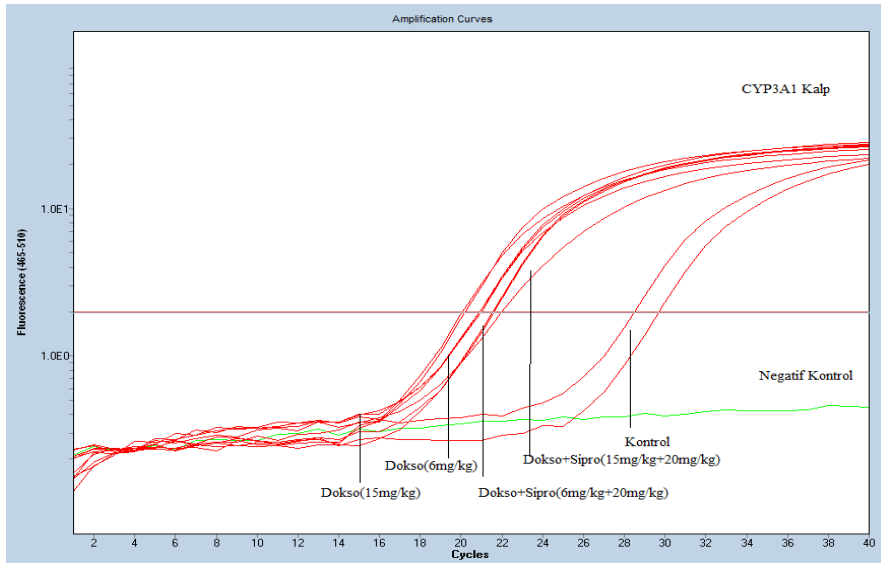
4.3.3.2. Kalp

Akut 15 mg/kg Dokso grubu kontrol grubuna göre CYP3A1 gen ekspresyonunu kalpte anlamlı bir şekilde yükseltti (% 65, $p < 0,05$). Diğer gruplar kontrol ve birbiriyle karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı (Şekil 4.24a). Kalpte CYP3A1 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi Şekil 4.24b’de gösterildi.



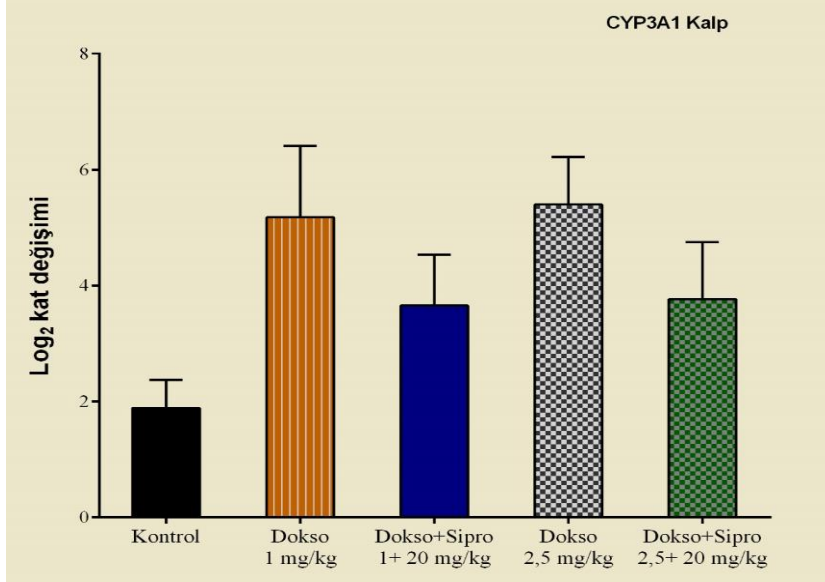
Şekil 4-24. a: Akut uygulamada kalpte CYP3A1 gen ekspresyonu

Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı derecede birbirinden farklıdır ($p < 0,05$).



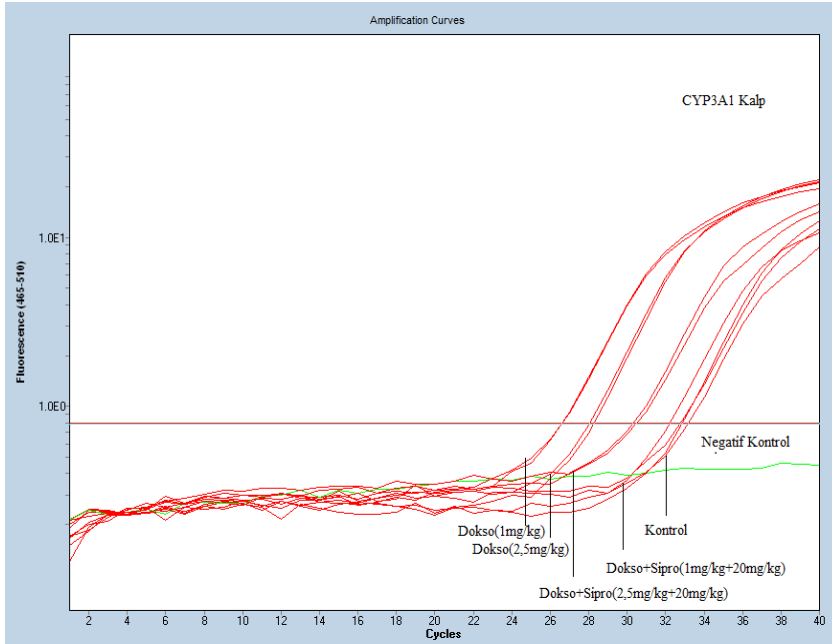
Şekil 4-24. b: Akut uygulamada kalpte CYP3A1 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi

Kronik uygulamada tüm gruplarda kontrole göre bir artış görülmesine rağmen gruplar arası anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$; Şekil 4.25a). Kalpte CYP3A1 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi Şekil 4.25b’de gösterildi.



Şekil 4-25. a: Kronik uygulamada kalpte CYP3A1 gen ekspresyonu

Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak gösterildi. Gruplar arasından anlamlılık gözlenmedi ($p > 0,05$).



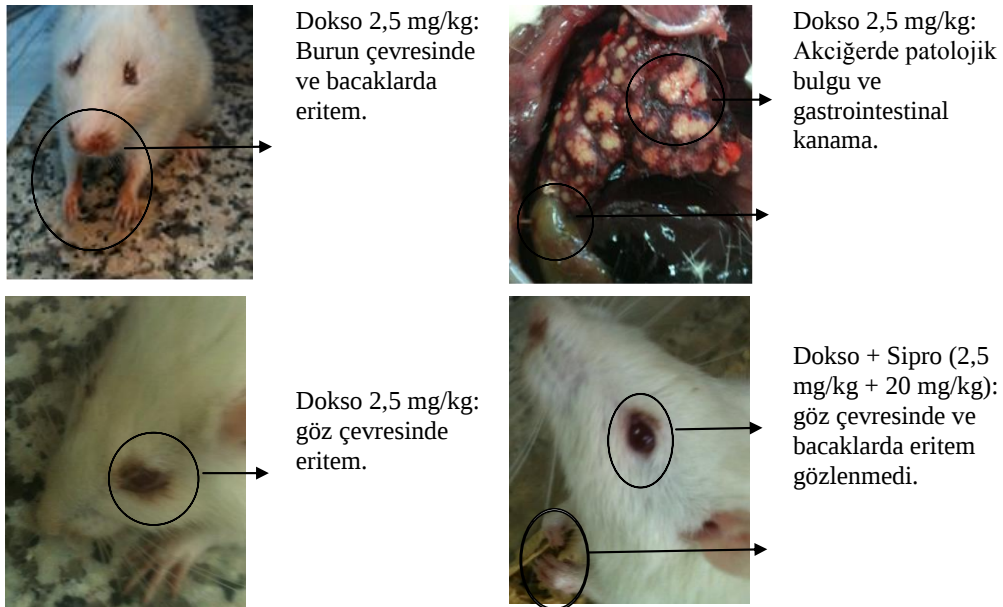
Şekil 4-25. b: Kronik uygulamada kalpte CYP3A1 gen ekspresyonu rt-PCR amplifikasyon eğrisi

4.4. GENEL DURUM

Çalışmamız süresince tüm gruplardaki sıçanların genel durumu rutin olarak takip edildi. Yüksek doz Dokso (2,5 mg/kg) kullanılan gruplardaki sıçanlarda; gözlem sürecinde hızla gelişen bir uyuşukluk görüldü ve lokomotor aktivitelerinde azalma ölçüldü. Bunlara ek olarak, sıçanların tüylerinde dağınıklık, göz çevrelerinde, burun ve ağız çevresinde kızarıklık gözlemlendi. Son haftalarda sıçanların iştahsızlık, batinlarında genişleme ve dışkılarında sulanma gözlemlendi.

Dokso + Sipro (2,5 mg/kg + 20 mg/kg) uygulanan grubun, 2,5 mg/kg Dokso uygulanan gruba göre daha aktif, dışkılarının daha sert ve beslenmelerinin daha iyi olduğu görüldü. Düşük doz Dokso (1 mg/kg) ve Dokso + Sipro (1 mg/kg + 20 mg/kg) gruplarının genel durumları kontrole benzer bulundu.

Tedavi uygulanan sıçanların, sakrifiye edildikten sonra, kalp ve karaciğerlerinde küçük siyah noktalar görüldü. 2,5 mg/kg Dokso uygulanan sıçanlarda peritonel ödem, boş mide, mide-bağırsak kanaması ve ülserasyon görüldü. Şekil 4.25' de gösterildiği gibi, Dokso (2,5 mg/kg) uygulanan bir sıçan 7. günde öldü ve yapılan otopside akciğerde patolojik bulgulara rastlandı. Dokso + Sipro (2,5 mg/kg + 20 mg/kg) uygulanan grupta toksik etkilerin daha az şiddetli olduğu ve aynı zamanda peritonda ödem olmadığı görüldü. Bu sıçanların midelerinde ülserasyon belirtileri vardı (Şekil 4.26).



Şekil 4-26. Dokso veya Dokso + Sipro'nun sıçanların genel durumuna etkisi

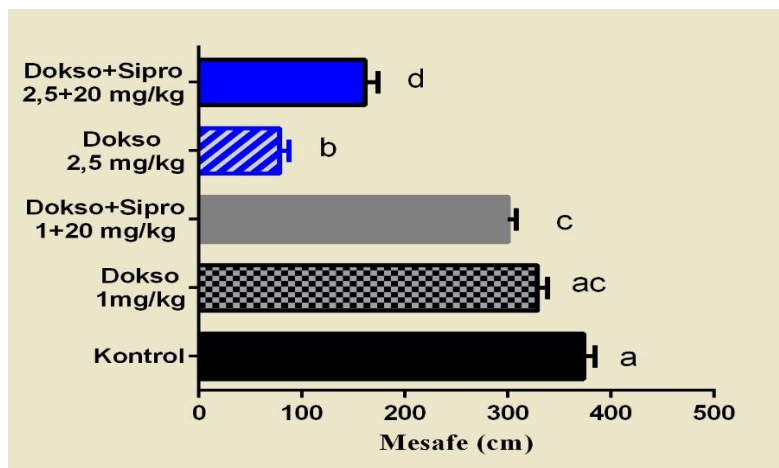
4.4.1. Lokomotor Aktivite

Lokomotor aktivite değerleri, Dokso 1 mg/kg grubunda % 11, Dokso 1 mg/kg +20 mg/kg grubunda % 19, Dokso 2,5 mg/kg grubunda % 79 ve Dokso +Sipro 2,5 mg/kg +20 mg/kg grubunda % 56 oranlarında, anlamlı olarak azaldı ($p < 0,0001$, Şekil 4.27; Tablo 4.5). Dokso 1 mg/kg grubu ile karşılaştırıldığında, Dokso + Sipro (1 mg/kg + 20 mg/kg) grubunda lokomotor aktivite anlamlı bir fark göstermedi (Şekil 4.27). Dokso 1 mg/kg grubu ile karşılaştırıldığında, Dokso + Sipro (2,5 mg/kg + 20 mg/kg) grubunda lokomotor aktivite değerleri % 51 olarak anlamlı bir şekilde daha az oldu (Şekil 4.27). Ayrıca, Dokso 2,5 mg/kg grubu ile karşılaştırıldığında, Dokso + Sipro (2,5 mg/kg + 20 mg/kg) grubunda lokomotor aktivite % 51 olarak anlamlı bir şekilde yükseldi (Şekil 4.27). Dokso (1 mg/kg) ve Dokso + Sipro (1 mg/kg +20 mg/kg) grupları karşılaştırıldığında lokomotor aktivite değerlerinde anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 4.27).

Tablo 4.5. Kronik uygulamada sıçanların lokomotor aktivitesi

Gruplar	Kontrol n=8	Dokso (1mg/kg) n=8	Dokso + Sipro (1 + 20mg/kg) n =8	Dokso (2,5 mg/kg) n =4	Dokso + Sipro (2,5 + 20 mg/kg) n =5
Mesafe Cm	373,5±10,9 ^a	328,8±9,59 ^{ac}	300,1±7,87 ^c	78,38±9,24 ^b	161,1±13,25 ^d

Veriler ortalama±standart hata olarak verildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,0001$).

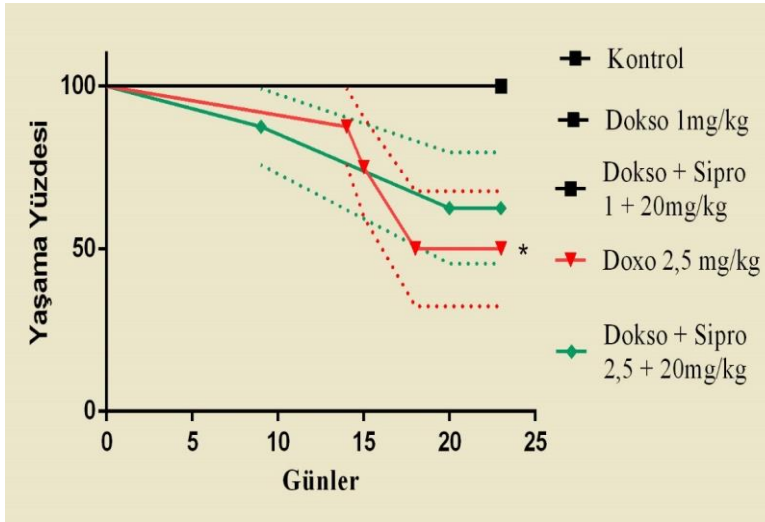


Şekil 4-27. Sprague Dawley sıçanlarında lokomotor aktivite mesafesi; cm olarak gösterildi

Farklı harflerle gösterilen sütunlar anlamlı olarak birbirinden farklıdır $p < 0,0001$.

4.4.2. Yaşam Süresi

Kronik yüksek dozda Dokso (2,5 mg/kg) ile tedavi edilen sıçanların ölüm oranı %50'dir, bu oran kontrol grubundan ve kronik düşük doz Dokso (1 mg/kg) ve Dokso + Sipro (1 mg/kg + 20 mg/kg) uygulanan gruptan yüksektir ($p < 0,05$; Şekil 4.28). Oysa yüksek doz Dokso ve Sipro (2,5 mg/kg + 20 mg/kg) uygulanan sıçanlarda ölüm oranı oranı % 38'dir. Kronik Dokso (1 mg/kg) ve Dokso + Sipro (1 mg/kg + 20 mg/kg) uygulanan gruplarda ölüm gözlenmedi. Düşük ve yüksek (6 mg/kg ve 15 mg/kg tek başına Dokso; ve 20 mg/kg Sipro ile birlikte) akut doz uygulanan sıçanların tamamı hayatta kaldı (Şekil 4.28).



Şekil 4-28. 3 hafta kronik ilaç uygulamasının yaşam süresine etkisi (Kaplan –Meier Plot)

Aynı renk kesik çizgiler ortalama $\pm$ standart hatayı göstermektedir. * $P < 0,05$.

4.4.3. Vücut Ağırlığı

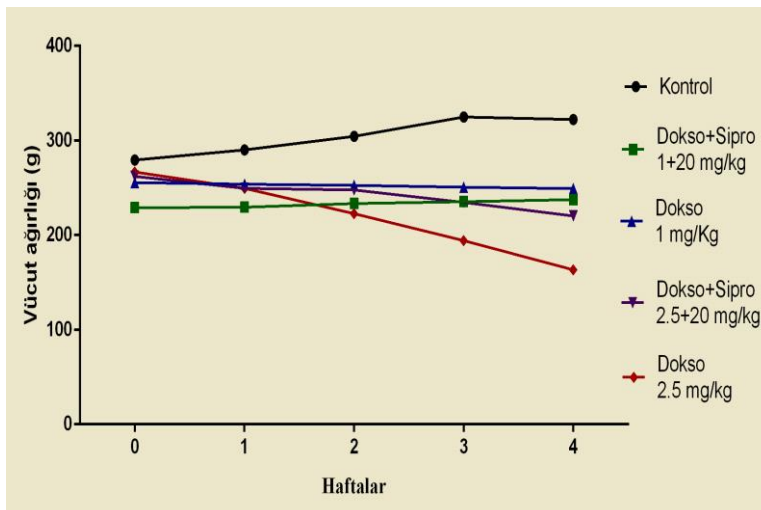
4. haftada tüm gruplar kontrol ile karşılaştırıldığında sıçanların vücut ağırlığında, Dokso (1 mg/kg) grubunda % 22, Dokso (2,5 mg/kg) grubunda % 46, Dokso + Sipro (1 mg/kg + 20 mg/kg) grubunda % 26 ve Dokso + Sipro (2,5 mg/kg + 20 mg/kg) grubunda % 31 oranında azalma gözlemlendi (Şekil 4.29; Tablo 4.6). Dokso (1 mg/kg) ile tedavi edilen sıçanların çalışma süresi boyunca vücut ağırlığında bir değişim görülmedi. Ayrıca, Dokso (2,5 mg/kg) grubundaki sıçanların vücut ağırlığında 0. ve 1. haftada bir değişiklik görülmedi. Benzer bir şekilde Dokso + Sipro (2,5 mg/kg + 20 mg/kg) grubunda 0., 1., 2., ve 3. haftada bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 4.29; Tablo 4.6). 4.

haftada Dokso (2,5 mg/kg) grubundaki azalma Dokso 20 mg/kg Sipro ilavesi ile %26 oranında anlamlı olarak tersine çevrildi (Şekil 4.29). Serum fizyolojik enjeksiyonu yapılan kontrol grubundaki sıçanların vücut ağırlığında, deney süresince anlamlı bir değişiklik oluşmadı (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Dokso ve Sipro tedavi süresinde Sprague Dawley sıçanlarının toplam vücut ağırlığındaki değişimler

Gruplar	0.Hafta	1.Hafta	2.Hafta	3.Hafta	4.Hafta
Kontrol n = 8	279,38±3,713 ^a	290,13±4,454 ^a	304,50±6,068 ^a	324,88±11,705 ^a	322,38±7,431 ^a
Dokso (1mg/kg) n= 8	255,63±1,752 ^b	254,00±1,615 ^b	252,75±2,366 ^b	250,75±2,644 ^b	249,38±3,053 ^b
Dokso (2,5mg/kg) n= 4	266,87±3,947 ^{ab}	249,63±3,097 ^b	222,63±4,723 ^c	194,25±2,919 ^c	163,50±1,758 ^c
Dokso + Sipro (1mg/kg+20mg/kg) n = 8	229,13±2,936 ^c	229,63±3,00 ^c	233,38±3,343 ^{cd}	235,38±3,914 ^b	237,50±4,432 ^{be}
Dokso + Sipro (2,5mg/kg+20 mg/kg) n = 5	262,25±4,913 ^{ab}	249,63±6,222 ^b	247,71±4,568 ^{bd}	234,71±7,555 ^b	220,20±6,939 ^{de}

Veriler ortalama±standart hata olarak verildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,05$).



Şekil 4-29. Dokso ve Sipro tedavi süresinde Sprague Dawley sıçanlarının toplam vücut ağırlığındaki değişiklikler

Verilerin karşılaştırılması Tablo 4.6'da gösterildi ($p < 0,05$).

4.4.4. Organ Ağırlıkları

Tüm vücut ağırlığına göre organ ağırlıkları rölatif olarak hesaplandı. Akut uygulamada organ ağırlıklarında anlamlı bir fark oluşmadı. Kronik uygulama sonuçları aşağıda verildi.

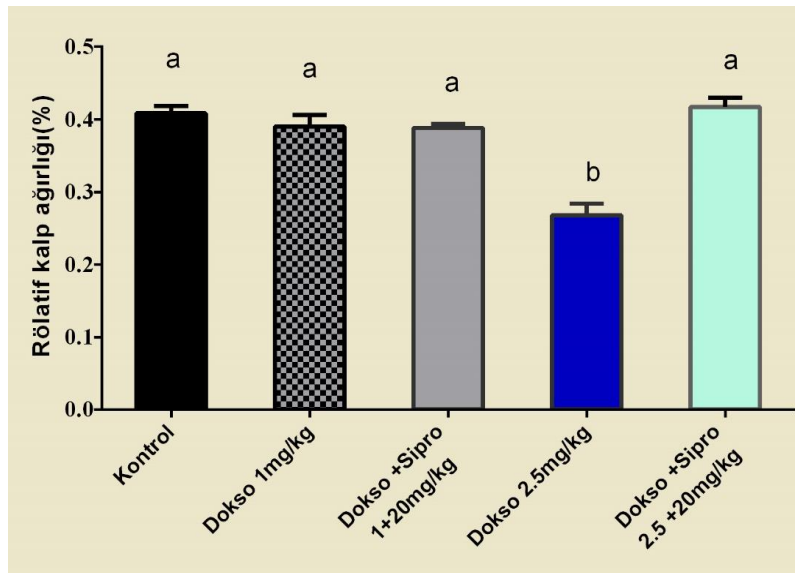
1.4.4.1. Kalp Ağırlığı

Rölatif kalp ağırlığı, Dokso 2,5 mg/kg grubunda % 34,6 oranda anlamlı olarak azaldı. Bu azalma 20 mg/kg Sipro ile birlikte % 56 oranında anlamlı olarak geriledi ($p < 0,0001$; Tablo 4.7). Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil 4.30).

Tablo 4.7. Kronik tedavide Dokso ve Dokso + Sipro'nun kalp ağırlığına etkisi

Gruplar	Kontrol n = 8	Dokso (1 mg/kg) n = 8	Dokso + Sipro (1 + 20mg/kg) n = 8	Dokso (2,5 mg/kg) n = 4	Dokso + Sipro (2,5 + 20 mg/kg) n = 5
Kalp ağırlığı (%)	0,408±0,009 ^a	0,390±0,016 ^a	0,388 ±0,005 ^a	0,267±0,016 ^b	0,417±0,012 ^a

Veriler ortalama±standart hata olarak gösterildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,0001$).



Şekil 4-30. Dokso ve Dokso + Sipro'nun kalp ağırlığına etkisi

Veriler ortalama±standart hata olarak gösterildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,0001$).

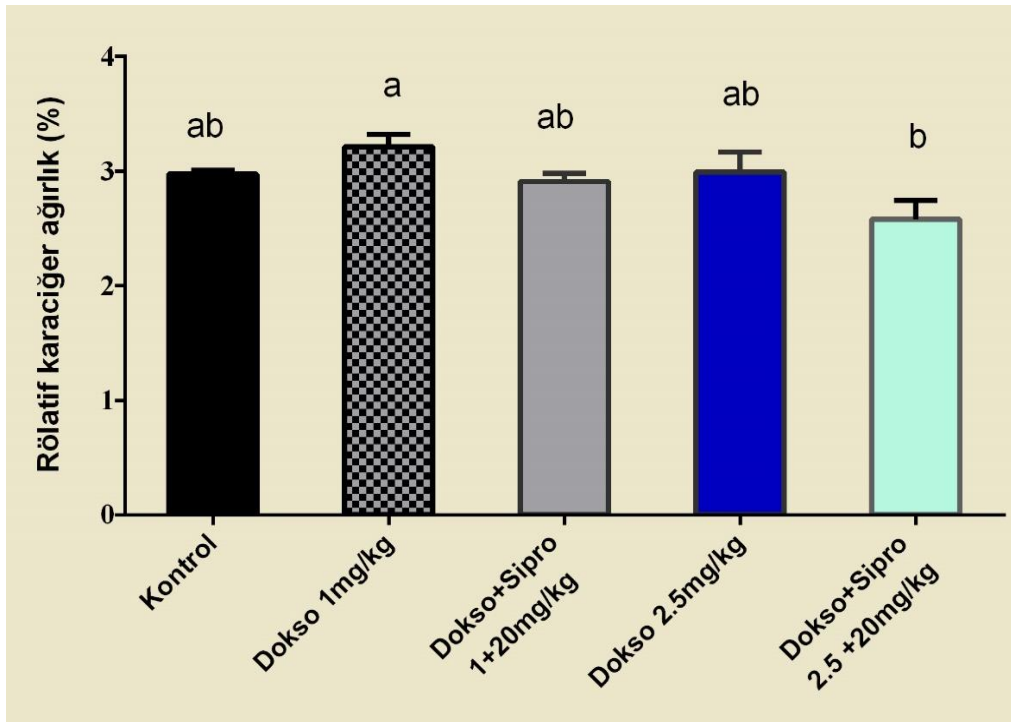
4.4.4.2. Karaciğer Ağırlığı

Relatif karaciğer ağırlığı, Dokso 1 mg/kg grubunda %11,5 oranda anlamlı olarak yükseldi ($p < 0,01$; Tablo 4.8). Ancak, yüksek doz Dokso + Sipro (2,5 mg/kg + 20 mg/kg) uygulanan grupta, Dokso 1 mg/kg uygulanan gruba göre belirgin minör karaciğer atrofisi gözlemlendi (% 22; Şekil 4.31).

Tablo 4.8. Kronik tedavide Dokso ve Dokso + Sipro'nun karaciğer ağırlığına etkisi

Gruplar	Kontrol n = 8	Dokso (1 mg/kg) n = 8	Dokso + Sipro (1 + 20 mg/kg) n = 8	Dokso (2,5 mg/kg) n = 4	Dokso + Sipro (2,5 + 20 mg/kg) n = 5
Karaciğer ağırlığı (%)	2,977 ± 0,031 ^{ab}	3,321 ± 0,110 ^a	2,912 ± 0,071 ^{ab}	2,995 ± 0,174 ^{ab}	2,581 ± 0,165 ^b

Veriler ortalama±standart hata olarak gösterildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,01$).



Şekil 4-31. Kronik tedavide Dokso ve Dokso + Sipro'nun karaciğer ağırlığına etkisi

Veriler ortalama±standart hata olarak gösterildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,01$).

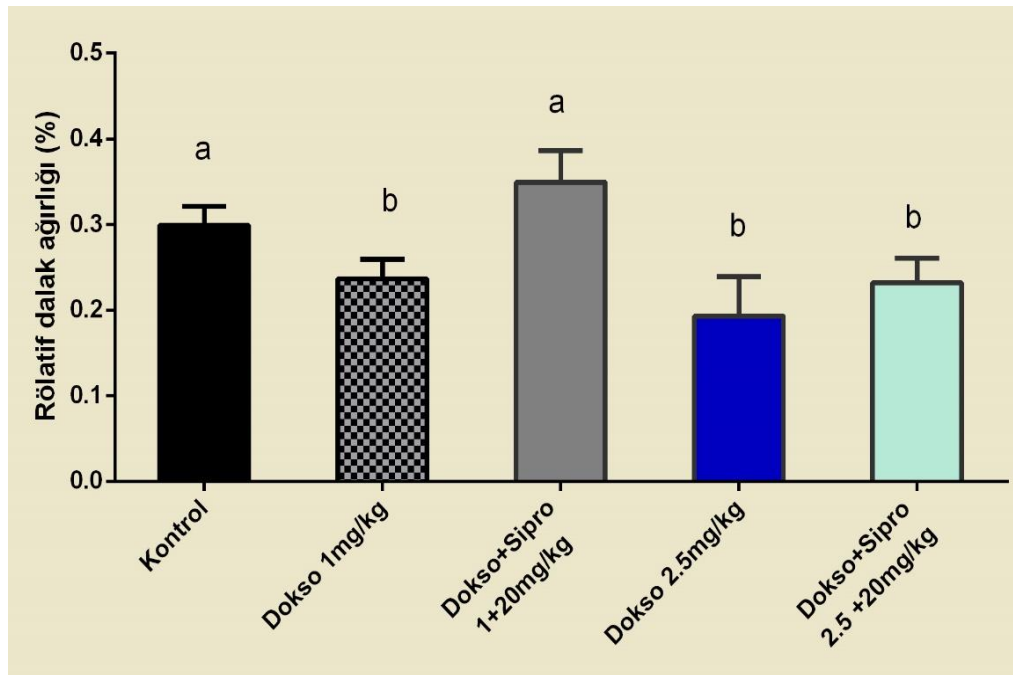
4.4.4.3. Dalak Ağırlığı

Rölatif dalak ağırlığı, Dokso + Sipro (1 mg/kg + 20 mg/kg) tedavi grubu hariç tek başına Dokso ve Dokso + Sipro (2,5 mg/kg + 20 mg/kg) gruplarında % 76-80 oranında anlamlı olarak azaldı ($p < 0,0001$; Tablo 4.9, Şekil 4.32).

Tablo 4.9. Kronik tedavide Dokso ve Dokso + Sipro'nun dalak ağırlığına etkisi

Gruplar	Kontrol n = 8	Dokso (1 mg/kg) n = 8	Dokso + Sipro (1+20 mg/kg) n = 8	Dokso (2,5 mg/kg) n = 4	Dokso + Sipro (2,5 + 20 mg/kg) n = 5
Relatif karaciğer ağırlığı (%)	0,299±0,021 ^a	0,236±0,008 ^b	0,349 ±0,013 ^a	0,193±0,016 ^b	0,232±0,010 ^b

Veriler ortalama±standart hata olarak gösterildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,0001$).



Şekil 4-32. Kronik tedavide Dokso ve Dokso + Sipro'nun rölatif dalak ağırlığına etkisi

Veriler ortalama±standart hata olarak gösterildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,0001$).

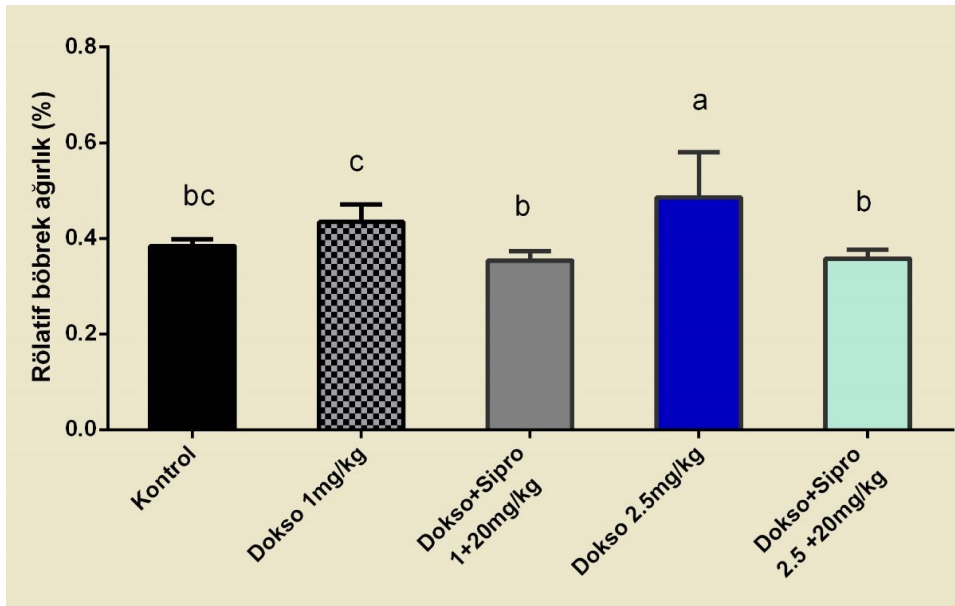
4.4.4.4. Böbrek Ağırlığı

Kronik Dokso tedavisi böbrek ağırlığını, Dokso 2,5 mg/kg dozunda anlamlı olmak üzere doza bağlı olarak artırdı ($p < 0,0001$; Tablo 4.10). 20 mg/kg Sipro ile birlikte bu artış kontrol seviyesine geriledi (Şekil 4.33).

Tablo 4.10. Kronik tedavide Dokso ve Dokso + Sipro'nun böbrek ağırlığına etkisi

Gruplar	Kontrol n = 8	Dokso (1 mg/kg) n = 8	Dokso + Sipro (1 +20mg/kg) n = 8	Dokso (2,5 mg/kg) n = 4	Dokso + Sipro (2,5+ 20 mg/kg) n = 5
Böbrek ağırlığı (%)	0,384±0,014 ^{bc}	0,436±0,013 ^c	0,354 ±0,006 ^b	0,485±0,033 ^a	0,358±0,006 ^b

Veriler ortalama±standart hata olarak gösterildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,0001$).



Şekil 4-33. Kronik tedavide Dokso ve Dokso + Sipro'nun rölatif böbrek ağırlığına etkisi

Veriler ortalama±standart hata olarak gösterildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,0001$).

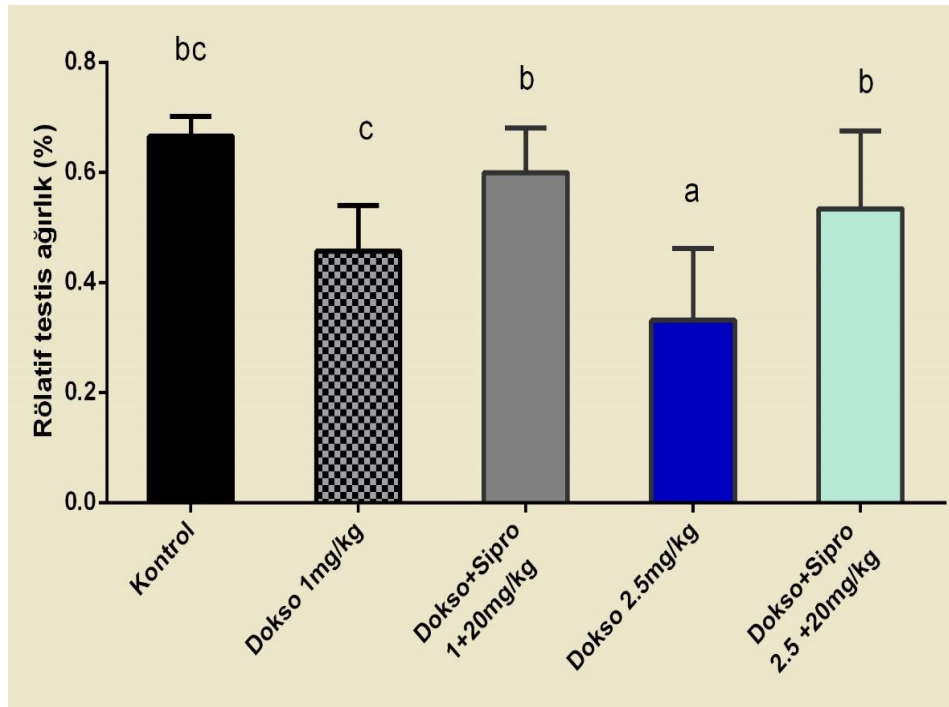
4.4.4.5. Testis Ağırlığı

Rölatif testis ağırlığı, Dokso 2,5 mg/kg grubunda % 50 oranında anlamlı olmak üzere dokso tedavi gruplarında azaldı. 20 mg/kg Sipro bu azalmayı anlamlı olarak kontrol grubu seviyesine doğru geriletti ($p < 0,0001$; Tablo 4.11, Şekil 4.34).

Tablo 4.11. Kronik tedavide Dokso ve Dokso + Sipro'nun testis ağırlığına etkisi

Gruplar	Kontrol n = 8	Dokso (1 mg/kg) n = 8	Dokso + Sipro (1 +20mg/kg) n = 8	Dokso (2,5 mg/kg) n = 4	Dokso + Sipro (2,5+ 20 mg/kg) n = 5
Testis ağırlığı (%)	0,666±0,035 ^{bc}	0,457±0,029 ^c	0,599 ±0,028 ^b	0,331±0,046 ^a	0,534±0,049 ^b

Veriler ortalama±standart hata olarak gösterildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,0001$).

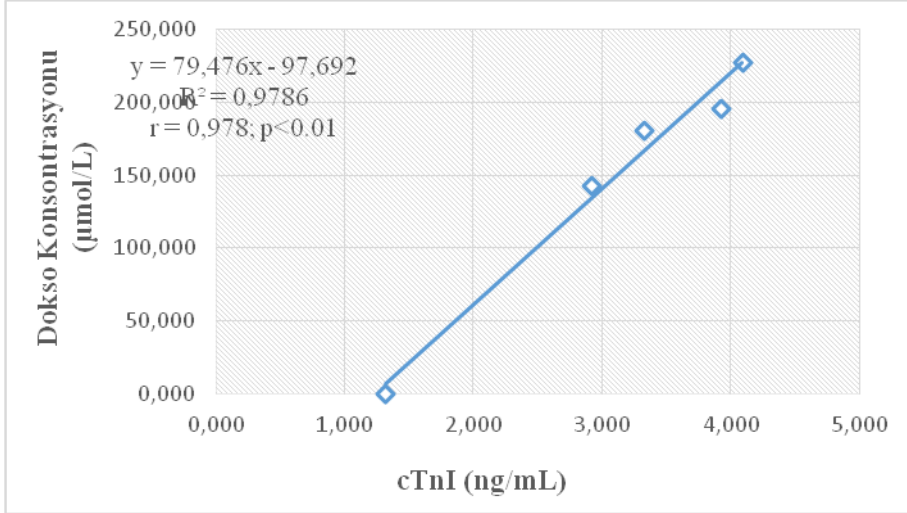


Şekil 4-34. Kronik tedavide Dokso ve Dokso + Sipro'nun rölatif testis ağırlığına etkisi

Veriler ortalama±standart hata olarak gösterildi. Farklı harflerle gösterilen gruplar anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($p < 0,0001$).

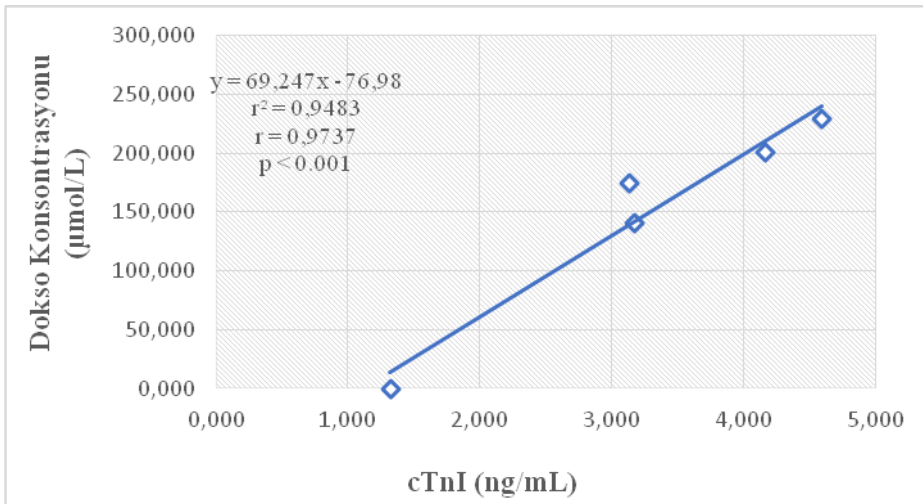
4.5. KORELASYON

Akut uygulamada Dokso plazma konsantrasyonu ile cTnI plazma konsantrasyonu arasında güçlü bir pozitif korelasyon gözlemlendi ($r = 0,978$; $p < 0,01$; Şekil 4. 33).



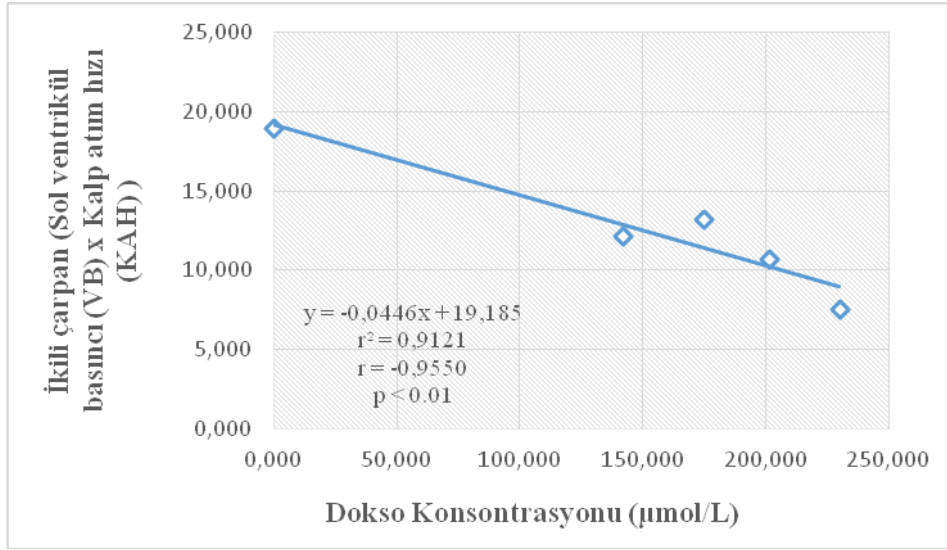
Şekil 4-35. Akut tedavide Dokso konsantrasyonu ile plazma cTnI korelasyonu

Kronik uygulamada da Dokso plazma konsantrasyonu ile cTnI plazma konsantrasyonu arasında güçlü bir pozitif korelasyon gözlemlendi ($r = 0,973$; $p < 0,01$; Şekil 4. 34).



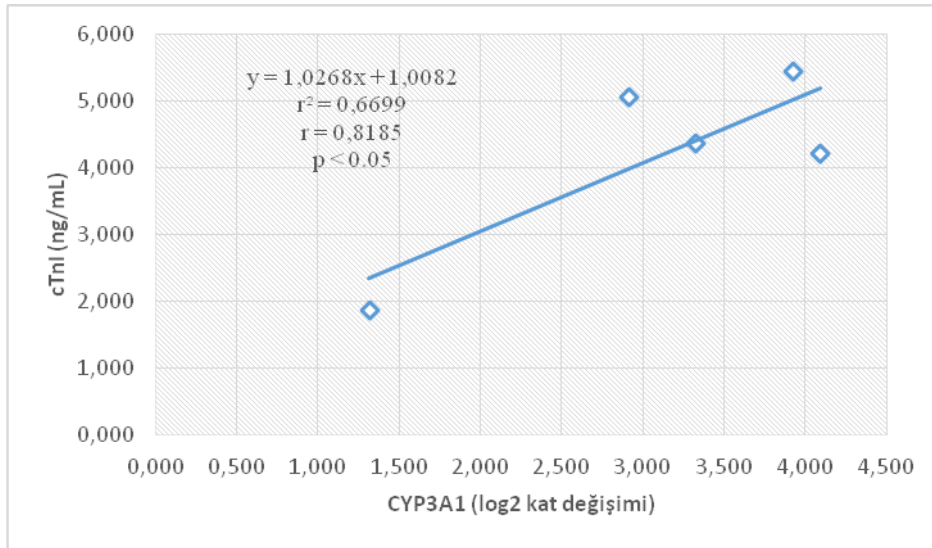
Şekil 4-36. Kronik tedavide Dokso konsantrasyonu ile plazma cTnI korelasyonu

Kronik uygulanan grupta Dokso plazma konsantrasyonu ile ikili çarpan (KAH x VB) arasında güçlü bir negatif korelasyon gözlemlendi ($r = -0,955$; $p < 0,01$; Şekil 4. 35).



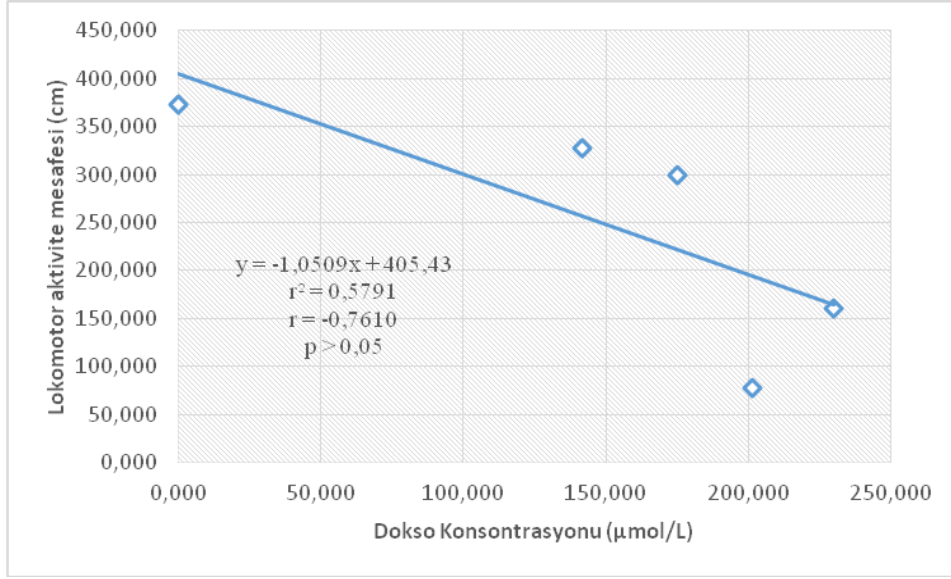
Şekil 4-37. Kronik tedavide Dokso plazma konsantrasyonu ile ikili çarpan (KAH x VB) korelasyonu

Benzer bir şekilde, akut grupta plazma cTnI değerleri ile kalp CYP3A1 izoenzimi ekspresyonu arasında güçlü bir pozitif korelasyon bulundu ($r = 0,818$; $p < 0,05$; Şekil 4.36).



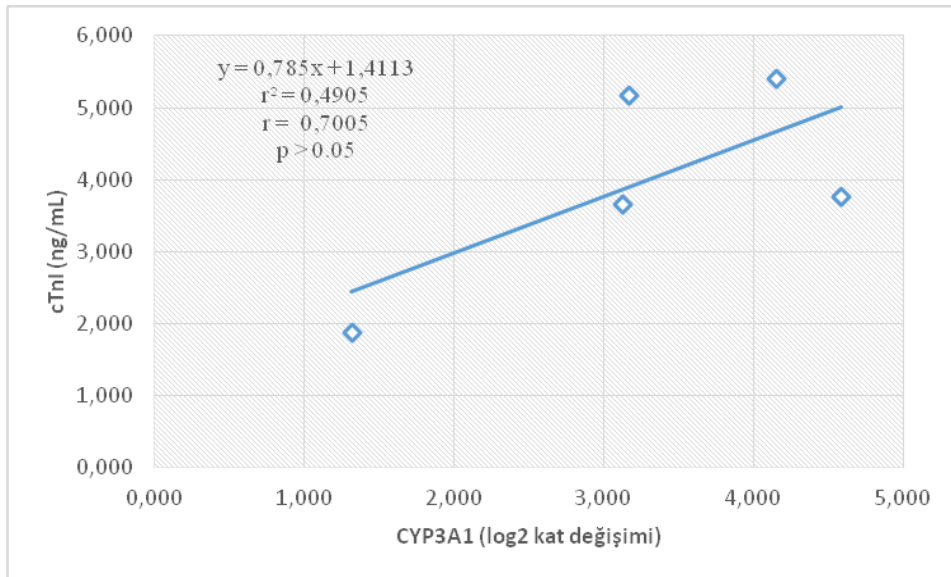
Şekil 4-38. Akut tedavide plazma cTnI değerleri ile kalp CYP3A1 izoenzimi ekspresyonu korelasyonu

Kronik grupta lokomotor aktivite ve dokso plazma konsantrasyonu arasında anlamlılık olmamasıyla birlikte, aralarında korelasyon gözlemlendi ($r = 0,7610$; $p > 0,05$; Şekil 4.37).



Şekil 4-39. Kronik tedavide lokomotor aktivite ile dokso plazma konsantrasyonu korelasyonu

Kronik grupta cTnI plazma değerleri ve kalpte CYP3A1 gen ekspresyonu arasında anlamlılık olmamasıyla birlikte, aralarında korelasyon gözlemlendi ($r = 0,700$; $p > 0,05$; Şekil 4.38).



Şekil 4-40. Kronik tedavide cTnI plazma değerleri ile kalpte CYP3A1 gen ekspresyonu korelasyonu

5. TARTIŞMA

Dokso birçok neoplastik hastalık ve kanser türünün tedavisinde geniş kullanım alanına sahip bir kematerapötiktir. Buna rağmen klinik kullanımı, doza bağlı kardiyotoksisitesi ve nötropeni nedeniyle kısıtlanır (Yeh ve ark. 2007). Kemoterapi esnasında hastanın, immunosupresyonla birlikte değişik enfeksiyonlara olan duyarlılığı artmaktadır. Sipro bu tip enfeksiyonların tedavisinde kullanılır. Florokinolon grubundan sıkça kullanılan geniş-spektrumlu bir antimikrobiyal ajan olan Sipro'nun, kolorektal, mesane ve prostat kanserli hastalarda Dokso ve epuribisinin etkisini artırdığı gösterilmiştir (Aranha ve ark. 2003; Gurtowska ve ark. 2010; Herold ve ark. 2002; Van Weert ve ark. 2006). Ancak son çalışmalar, karaciğer ve kalp toksisitesinin Sipro kullanımı ile ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır (Adikwu ve Barmbaifa 2012). Hayvan çalışmalarında olduğu gibi klinik uygulamalarda da Sipro'ya bağlı kardiyotoksitenin QT, QTC aralığında ve aksiyon potansiyelinde belirgin uzamaya sebep olduğu gösterilmiştir (Knorr ve ark. 2008; Prabhakar ve Krahni 2004).

Polifarmasiyle tedavi edilen kanser hastalarında, ilaç etkileşimi riski yüksektir. Biz çalışmamızda, Dokso ve Sipro birlikte kullanıldığında olası etkileşimi değerlendirmek amacı ile yetişkin erkek sıçanlarda Sipro'nun Dokso'nun plazma düzeyine etkisini ve Dokso ve/veya Sipro varlığında hepatik ve kardiyak CYP1A1, CYP1A2, CYP3J2 ve CYP3A1 enzimlerinin mRNA ekspresyonlarını araştırdık. Her iki ilacın da kardiyotoksisite ile ilişkilendirilmiş olmasına bağlı olarak, Langendorff preparatı ile Dokso ve/veya Sipro'nun sıçan kalbinde fonksiyonel parametrelere etkilerini karşılaştırmalı olarak değerlendirdik ve plazma cTnI düzeylerini ölçtük.

Dokso, yapılan klinik çalışmalarda, antitümör aktivitesinin geliştirilmesi amacıyla, farklı dozlarda ve başka ilaçlarla kombine edilerek kullanılmıştır. Benzer şekilde, çeşitli hayvan çalışmalarında akut ve kronik kardiyotoksisitenin gelişmesinde, Dokso kullanımının doza bağlı olarak etki oluşturduğu gözlenmiştir (Bertazzoli ve ark. 2014; Herman ve ark. 2000). Bu bilgiler doğrultusunda çalışma gruplarımızı Dokso ve Sipro'nun akut ve kronik kullanımı olacak şekilde düzenledik. Dokso ve Sipro'yu aynı dozlarda ancak farklı zaman periyotlarında uygulayarak Dokso'nun farmakokinetik profilini araştırdık.

Çalışmamızın sonuçları, Akut ve kronik uygulamanın Dokso plazma seviyelerinde gözle görülür bir fark olmadığını ortaya koydu. Uygulamadan iki gün sonra yapılan ölçümlerde, Dokso'nun tek seferlik intraperitoneal enjeksiyonu ya da aynı dozun haftalara bölünerek verilmesi ile ölçülen Dokso plazma konsantrasyonları arasında fark bulunmadı (Şekil 4.3). Kronik grupta, Dokso'nun plazma konsantrasyonu Sipro ile düşük dozda % 23,5 yüksek dozda % 14,3 oranlarında anlamlı olarak yükseldi. Doza bağlı artış tek başına Dokso'da % 41,9 Sipro ile birlikte % 31,4 olarak saptandı ($p<0.001$, Tablo: 4.1, Şekil: 4.1). Akut grupta, Dokso'nun plazma konsantrasyonu Sipro ile düşük dozda % 26,8 yüksek dozda % 16,4 oranlarında anlamlı olarak yükseldi. Doza bağlı artış tek başına Dokso'da % 37 Sipro ile birlikte % 25,7 olarak saptandı ($p<0.001$, Tablo: 4.2, Şekil: 4.2). Genellikle farmakokinetik etkileşimler ilaçların enzimatik biyotransformasyonundaki inhibisyon veya indüksiyonuna bağlıdır (Ogu ve Maxa 2000). Dokso CYP2D6, CYP3A4, ve p-glikoprotein substratıdır. Diğer taraftan CYP2B6, CYP2D6 ve CYP3A4 izoenzimlerinin inhibitörüdür. Aynı zamanda p-glikoproteinini indükler (Baumhake ve ark. 2001; Flockhart 2007). Sıçanlarda insan CYP3A4 izoenziminin analogu CYP3A1 izoenzimidir (Kirita ve Matsubara 1993). Sipro p-glikoproteininin substratıdır (Park ve ark. 2011). CYP1A2 izoenziminin güçlü, CYP3A4 izoenziminin ise zayıf inhibitörüdür. (Badyal ve Garg 2000; Jerling ve ark. 1994). Sıçanlarda da CYP1A2 izoenzimi insanlardaki ile aynıdır (Ikeya ve ark. 1989).

Karaciğerde CYP1A2 gen ekspresyonu akut uygulamada, yüksek doz Dokso ve Sipro'nun birlikte uygulandığı grupların haricindeki tüm gruplarda kontrol grubuna göre azalma gösterdi (Şekil 4.14 a ve b). Bu azalma Sipro ile birlikte daha fazla oldu. Kardiyotoksikite ile ilişkilendirilen CYPs ekspresyonlarındaki azalma Wang ve arkadaşları tarafından, endotelial hücrelerde ve kardiyomiyositlerde Dokso'nun neden olduğu apoptoza bağlanmıştır (Wang ve ark. 2004). Hepatositlerde de aynı durum söz konusu olabilir. Karaciğerde patolojik durumlarda (siroz, inflamasyon, obozite vs) ve kemoterapi sırasında olası CYPs ekspresyonlarındaki azalmanın arşidonik asid metaboliti sitoprotektif EET oluşumunu ve karaciğer metabolizmasını değiştirebileceği ileri sürülmektedir (Askri ve ark. 2014). CYP1A2 gen ekspresyonundaki azalmanın Sipro ile birlikte artması Dokso'nun etkisine ek olarak Sipro'nun CYP1A2 gen ekspresyonunu inhibe etmesi ile ilişkili olabilir (Granfors ve ark. 2004). Akut uygulamada karaciğer CYP3A1 ekspresyonunda ise Dokso'nun düşük ve yüksek dozlarının Sipro ile birlikte uygulandığı gruplarda, kontrole göre artış saptadık. Tek

başına kronik yüksek doz Dokso kullanılan grupta ise karaciğer CYP3A1 gen ekspresyonu azaldı. Bu sonuçlar, CYP3A1 izoenzimi için Sipro'nun zayıf inhibitör, Dokso'nun ise hem substratı hem de inhibitörü olması ile ilişkili olabilir.

Akut uygulamada karaciğer CYP2J3 gen ekspresyonunda, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalma görüldü (Şekil 4.18 a ve b). Oysa tek başına yüksek doz kronik Dokso uygulanan sıçanlarda hepatik CYP2J3 enzim ekspresyonunda kontrole göre anlamlı bir azalma saptadık (Şekil 4.19a be b). Akut ve kronik uygulama karşılaştırıldığında, CYP2J3 gen ekspresyonunda anlamlı bir fark görülmemiştir. CYP2J3 enzim ekspresyonu, Dokso Sipro ile birlikte uygulandığında anlamlı olmamakla birlikte dokso grubuna göre arttı. Sıçan CYP2J3 izoenzimi insan CYP2J2 enziminin analogudur (Zeldin ve ark. 1996). Sipro'nun hepatoksisiteye ve SOR üretilmesine sebep olduğu literatürde gösterilmiştir (Adikwu ve Bramaifa 2012; Saracoglu ve ark. 2009). Sipro'nun eklenmesiyle hepatik CYP2J3 gen ekspresyonundaki artışın rolü net değildir. Bu yönde daha fazla araştırma gerekmektedir.

Diğer taraftan, CYP450 enzimlerinin yanı sıra p-glikoproteinleri de ilaç-ilaç etkileşiminde rol oynarlar (Greiner ve ark. 1999; Holtzman ve ark. 2006) ve ilaçların farmakokinetik, farmakodinamik ve toksikolojik özelliklerini etkilerler. P-glikoproteini ilaçların hepatositlerden ve renal tübüllerden luminal boşluk içine geçişini arttırır (Lin ve Yamazaki 2003). L-MDR1a p-glikoprotein eksikliğinin Dokso'nun safra içine salgılanmasını azalttığı ve bu nedenle Dokso plazma konsantrasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Van Asperen ve ark. 2000). Sipro'nun p-glikoprotein inhibisyonu veya indüksiyonunda rol oynadığını gösteren bir veri yoktur. Yapılan çalışmalar Sipro'nun bir p-glikoprotein substratı olduğunu ortaya koymaktadır (Park ve ark. 2011; Shen ve ark. 2008). Dolayısıyla bizim bulgularımızda saptadığımız Dokso'nun plazma konsantrasyonundaki artış, CYP3A4/1 ve CYP1A2 isoenzimlerini ek olarak p-glikoproteinleriyle bağlantılı olabileceğini düşündürmektedir. Bu bağlamda Dokso ve Sipro arasındaki etkileşiminin p-glikoproteini açısından araştırılması yararlı olacaktır.

Dokso ve Sipro doza bağlı olarak kardiyotoksik etki gösterirler (Adikwu ve Bramaifa 2012; Shi ve ark. 2011). Birlikte kullanıldıklarında Dokso'nun plazma konsantrasyonunda görülen artışa bağlı olarak antitümör etkinin yanı sıra kardiyotoksik etkinin de artması beklenir. Bunu araştırmak üzere planladığımız çalışmamızda kadiyotoksisiteyi değerlendirmek için Langendorff preparatı ile Dokso ve/veya

Sipro'nun sıçan kalbinde fonksiyonel parametrelere etkilerini araştırdık ve plazma cTnI düzeylerini ölçtük.

cTnI plazma düzeyleri, kardiyak hasarları belirlemek için biyomarker olarak kullanılır ve hasarla orantılı olarak artar (Lipshultz ve ark. 2004; Urbanova ve ark. 2010, Bertinchant ve ark. 2003; Herman ve ark. 1998). Biz cTnI düzeylerinde akut ve kronik ilaç tedavisi uygulanan gruplarda kontrole göre % 137-248 arası oranlarda anlamlı artışlar saptadık ($p < 0,0001$; Tablo 4.4, Şekil 4.4). Dokso tek başına plazma cTnI seviyelerini, gerek kronik gerekse akut uygulamada doza bağlı olarak anlamlı derecede artırdı. İki doz arasındaki farkı, kronik uygulamada % 31,5 akut uygulamada % 34,6 olarak bulduk. Sipro kronik ve akut uygulamada Dokso'nun bu etkisini değiştirmede (Şekil 4.5, Şekil 4.6). cTnI seviyelerinde saptadığımız bu artışlar Dokso ve Sipro'nun miyokard üzerindeki etkisinin direkt göstergesi veya miyokardiyal hasarla sonuçlanan diğer organ sistemlerindeki etkilerinin indirekt göstergesi olabilir (Wallace ve ark. 2004).

Langendorff tekniği kullanılarak yaptığımız değerlendirmede, genel kalp fonksiyonunun göstergesi "İkili çarpan kalp fonksiyon değerleri"nin tüm tedavi gruplarında kontrole göre %33-70 oranlarında anlamlı olarak düştüğünü gördük. Tek başına Dokso grupları ile Dokso+Sipro grupları arasında anlamlı bir fark saptamadık. Sol ventrikül basıncı (dp/dt_{max}) Dokso ile yapılan daha önceki çalışmalara benzer tarzda azaldı (Zhu ve ark. 2011). Deneylerimizde Sipro'nun bu azalmada anlamlı bir etkisi görülmedi.

İlaçların farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerini etkileyen CYP izoenzimlerinin kardiyotoksisitede de rolü olduğu araştırmalarda gösterilmiştir (Zhang ve ark. 2009). Bu çalışmamızda, kardiyotoksisitenin moleküler temelini incelemek için Dokso'nun tek başına ve Sipro ile birlikte kullanıldığında kalpte CYP2J3, CYP3A1 ve CYP1A2 izoenzimlerinin gen ekspresyonları üzerindeki etkisini araştırdık. Önceki çalışmalarda, gen ekspresyonundaki değişimlerin kardiyak miyositlerdeki yapısal bütünlüğün (Thompson ve ark. 2010) ve enzim fonksiyonlarının bozulmasına, ve bu şekilde de kasılma fonksiyonlarının değişmesine sebep olabileceği gösterilmiştir (Ito ve ark. 1990). CYP2J3 genlerinin fazla eksprese edilmesinin, kardiyak miyositlerini Dokso indüklü kardiyotoksisiteye karşı koruduğu ileri sürülmektedir (Zhang ve ark. 2009). Zordoky ve arkadaşları 24 saat çeşitli Dokso konsantrasyonlarına maruz bıraktıkları

kardiyak H9C2 hücrelerinde CYP gen ekspresyonlarının arttığını göstermişlerdir (Zordoky ve ark. 2010). Biz de çalışmamızda yüksek doz kronik Dokso'nun kalpte CYP2J3 gen ekspresyonunu anlamlı bir şekilde artırdığını saptadık (Şekil 4.21 a ve b). Bunun yanı sıra kardiyotoksisitenin göstergesi olarak cTnI seviyelerinin arttığını ve kardiyak atrofi oluştuğunu gözlemledik. Çeşitli çalışmalarla, Dokso'ya bağlı kardiyotoksisitenin CYP ve sEH enzimlerinin indüksiyonundan kaynaklandığı ve CYP enzimlerinin araşidonik asidi kardiyoprotektif EETs ve kardiyotoksik 20-HETE'ye dönüştürdüğü; sEH enziminin ise kardiyoprotektif EETs'i düşük biyolojik aktiviteli DHETs'ye hidrolize ettiği gösterilmiştir. Bu verilere dayanarak, araşidonik asidin CYP-aracılı metabolitleri 20-HETE üretiminin inhibisyonu yada EET üretiminin indüksiyonu ile akut Dokso kardiyotoksisitesine karşı yeni bir koruma mekanizmasının sağlanabileceğini ileri sürülmüştür (Zordoky ve ark. 2010).

Kronik grupta kardiyoprotektif etkisi olduğunu göstermese de yüksek doz Dokso ile birlikte uygulanan Sipro CYP2J3 gen ekspresyonunu kontrol grubu değerlerine yaklaştırdı. Bu grupta Dokso kan plazma konsantrasyonu (Şekil 4.3) ve cTnI plazma seviyeleri yüksek (Şekil 4.4) ölçülürken, Langendorff düzeneği ile ölçülen kardiyak fonksiyonlarda azalma saptadık (Şekil 4.13). Kronik tedavi gruplarında, Dokso plazma konsantrasyonu ile kardiyak fonksiyonlar arasında güçlü bir negatif korelasyon gözledik (Şekil 4.35). Dokso plazma konsantrasyonu ile cTnI plazma konsantrasyonu arasında ise güçlü bir pozitif korelasyon gözlemledik (Şekil 4.34). Aynı kümülatif dozun uygulandığı akut grupta ise CYP2J3 gen ekspresyonunda anlamlı bir değişiklik oluşmadı. Bu sonuçlara göre Dokso indüklü kardiyak hasarda genel olarak CYP2J3 enziminin koruyucu olarak bir etkisinin olup olmadığı kesin olarak söylenemez. Bu aşamada kardiyak hasarda rol alabilecek farklı mekanizmaların da araştırılması gerekmektedir.

Volkovo ve arkadaşları Dokso'nun aril hidrokarbon reseptörünü (AhR) aktive ettiğini gösterdiler. Bu durumun, faz I'de (CYP1A1, CYP1A2 ve CYP1B1 gibi) ve faz II'de (Gamma-glutamil transferaz ve dipeptidazlar) ilaç metabolize eden genlerin ekspresyonlarının up-regülasyonu ile sonuçlandığını saptadılar (Volkovo ve ark. 2011). Biz de çalışmamızda, kalpte düşük kronik doz Dokso'nun, CYP1A2 enziminin ekspresyonunu kontrole göre anlamlı olarak arttırdığı gördük. Sadece düşük doz Dokso'da görülen gen ekspresyonundaki artış diğer tedavi gruplarında oluşmadı.

Kronik tedavi uygulanan gruplarda kardiyak CYP3A1 gen ekspresyonunda anlamlı değişiklik oluşmadı (Şekil 4.25). Buna rağmen, tek doz 15mg/kg Dokso akut uygulandığında kardiyak CYP3A1 gen ekspresyonunda anlamlı bir artış gördük. CYP3A1 izoenziminin kalpteki etkisi kesin olarak bilinmemektedir. Fakat, kardiyoprotektif ya da kardiyotoksik gen olduğuna dair çeşitli bazı indirekt kanıtlar bulunmaktadır. Dişi ve erkek kardiyak miyositlerinde androjen reseptörlerinin varlığı, erkek seks hormonlarının kasılma aktivitesinde kardiyoregülatör rolünü göstermektedir ((Bupha-Intr ve ark. 2007; Callies ve ark. 2003; Marsh ve ark. 1998). Scheuer ve arkadaşları (1987) ilk olarak ejeksiyon fraksiyonu, pik sistolik basıncı ve kardiyak çıkışı da dahil olmak üzere kalp kasılma işlevlerindeki azalmanın testosteron takviyesi ile normal değerlere dönüştüğünü göstermişlerdir. Testosteronun, insan CYP3A4 izoenziminin (Flockhart 2007) ve sıçandaki analogu CYP3A1 izoenziminin substratı (Flockhart 2007) olduğu gösterilmiştir (Kirit ve Matsubara 1993). Buna göre Dokso'nun CYP3A1 gen ekspresyonunu artırarak testosteron azalmasına ve dolayısı ile kalp fonksiyonunun azalmasına neden olabileceğini söyleyebiliriz.

Çalışmamızda tüm bu verilere ek olarak sıçanların genel durumu gözledik. Sağlıklı Sprague Dawley sıçanlarında 3 hafta boyunca Dokso ve Sipro'nun birlikte kullanımı ile yaşam kalitesinin artıp artmadığı veya yaygın toksisitenin azalıp azalmadığı hipotezi test edildi. Yorgunluk, lokomotor aktivitenin hesaplanmasıyla değerlendirildi.

Tüm kronik tedavi gruplarında kontrole göre lokomotor aktivitenin anlamlı bir şekilde azaldığını gördük (Şekil 4.27). Yüksek doz Dokso diğer tedavi gruplarına göre lokomotor aktiviteyi daha fazla azalttı (Şekil 4.27). Sipro Dokso'nun bu etkisini anlamlı olarak geriye çevirdi. Sipro'nun antienfektif etkisinin bu düzelmede rolü olabileceğini düşünebiliriz. Yüksek doz Dokso ile kronik olarak tedavi edilen sıçanlarda diyare, vücut kütlelerinin düşmesi ve iştahsızlık gibi etkiler gördük. Aynı doz Dokso ile birlikte Sipro verildiğinde bu semptomlar belirgin olarak azaldı. Genel olarak antibiyotik tedavisinin kanser hastalarında genel sağlık durumunu iyileştirdiği bilinmekte ve bu iyileşmenin antienfektif etki ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (Flaherty ve ark. 1989; Haron ve ark. 1989; Kern ve ark. 2013).

Dokso ile tedavi ettiğimiz gruplarında zayıflama, iştahsızlık, az su içme ve kilo kaybı saptadık. Bu çalışmada gözlenen kilo kaybı benzer çalışmalarla uyum göstermektedir (Hajjaji ve ark. 2012; Herman ve ark. 2000; Hoekman ve ark. 1999).

Yüksek kronik dozda tek başına Dokso uygulandığında kalp rölatif ağırlıklarının azaldığı ve Sipro ile birlikte uygulanan gruplarda ise bu azalmanın anlamlı bir şekilde geriye döndüğü izlendik (Şekil 4.30). Kalbin rölatif ağırlığındaki bu değişimde kardiyotoksisitenin etkili olabilir. Dokso'nun oluşturduğu kardiyotoksisiteye oksidatif hasarın, apoptozis indüksiyonun, mitokondriyal disfonksiyonun, kalsiyum hemostazisindeki değişikliklerin ve bizim de bu çalışmada gösterdiğimiz gibi, gen ekspresyonu değişikliklerinin neden olabileceği ileri sürülmektedir (Minotti ve ark. 2004; Sharkey ve ark. 2013).

Kronik Dokso uygulanmasının dalak ve testislerin rölatif ağırlıklarını azalttığını, böbrek ağırlıklarında ise artırdığını saptadık (Şekil 4.32, Şekil 4.33, Şekil 4.34). Dalak ağırlığındaki azalma, gelişecek fonksiyon bozukluğu sebebiyle hematolojik parametrelerde değişiklik ve immün yetmezlik ile ilişkilendirilebilir (Herman ve ark. 1985; Panis ve ark. 2012; Carvalho ve ark. 2009; Vici ve ark. 2011).

Yeh ve arkadaşlarının çalışmasıyla uyumlu olarak biz de bu çalışmamızda tek başına düşük ve yüksek doz Dokso ile tedavi edilen sıçanlarda testiküler atrofi oluştuğunu ve Sipro'nun testiküler atrofiyi geriye çevirdiğini gördük. Dokso'ya bağlı testiküler toksisitenin altında yatan mekanizmanın büyük bir kısmını hücrel apoptozise neden olan oksidatif stresin oluşturduğunu göstermektedir (Yeh ve ark. 2007). Dokso spermatogenezi inhibe ederek infertiliteye yol açar (Howell ve Shalet 2005; Yeh ve ark. 2007). Çalışmamızda Sipro'nun rölatif testis ağırlıklarındaki azalmayı geriye çevrilmesi ile ilgili literatürde herhangi bir veriye rastlamadık.

Çalışmamızda rölatif böbrek ağırlığı Dokso ile tedavi edilen sıçanlarda artış göstermiştir. Bu durum, Sharkey ve arkadaşlarının bulgularıyla tutarlıdır (Sharkey ve ark. 2013). Sharkey ve arkadaşları, Dokso'ya bağlı ağırlıkta artışa neden olan renal patolojinin, artan serum kardiyo-troponin seviyesi ile ilişkili kardiyotoksisitenin sekonder nedeni olabileceğini ileri sürdüler (Sharkey ve ark. 2013). Bizim verilerimiz Sipro'nun Dokso ile birlikte uygulandığında böbrek ağırlığındaki artışı geriye çevirdiğini göstermektedir. Ancak biz Sipro'nun bu etkisi ile kardiyo-troponin seviyesi

arasında bir ilişki saptamadık. Sipro'nun sıçanlarda nefrotoksisiteye yol açmadığı gösterilmiştir (Baykal ve ark. 2005).

Sonuç olarak, Dokso ve Sipro etkileşimini değerlendirmek amacı ile yaptığımız araştırmamızda, karaciğerde Dokso ve/veya Sipro ile CYP1A2 ve CYP2J3 gen ekspresyonlarının azaldığını, CYP3A1 ekspresyonun ise arttığını saptadık. Kalpte Dokso ile CYP2J3, CYP1A2 ve CYP3A1 gen ekspresyonunu anlamlı bir şekilde artarken Sipro ile azaldı. Bu çalışma ile Dokso'nun kardiyak hasarların biyomarkeri cTnI plazma düzeylerini doza bağlı olarak artırdığını, Sipro'nun da aynı yönde etki gösterdiğini saptadık. Dokso ile azalan kalp fonksiyonları (kalp atım hızı, sol ventrikül basıncı ve ikili çarpan değerleri) Sipro'nun varlığında daha da azaldı. Dokso ile tedavi edilen sıçanlarda görülen diyare, iştahsızlık, vücut, kalp, dalak ve testis ağırlıklarındaki azalma, gibi etkiler Sipro verildiğinde belirgin olarak düzeldi. Bu araştırma Sipro ile Dokso etkileşimini değerlendiren ilk çalışmadır.

6. KAYNAKLAR

Aboutabl, M. E., Zordoky, B. N. M. ve El-Kadi, A. O. S. (2009). 3-methylcholanthrene and benzo(a)pyrene modulate cardiac cytochrome P450 gene expression and arachidonic acid metabolism in male Sprague Dawley rats. *British Journal of Pharmacology*. **158**, 1808–1819.

Adikwu, E. ve Brambaifa, N. (2012). Ciprofloxacin cardiotoxicity and hepatotoxicity in humans and animals. *Pharmacology and Pharmacy*. **3**, 207–213.

Advani, R., Fisher, G. A., Lum, B. L., Hausdorff, J., Halsey, J., Litchman, M. ve Sikic, B. I. (2001). A phase I trial of doxorubicin, paclitaxel, and valspodar (psc 833), a modulator of multidrug resistance. *Clinical Cancer Research*. **7(5)**, 1221–1229.

Ahmed, M., Liu, Z., Lukyanov, A. N., Signoretti, S., Horkan, C. ve ark. (2005). Combination radiofrequency ablation with intratumoral liposomal doxorubicin: effect on drug accumulation and coagulation in multiple tissues and tumor types in animals. *Radiology*. **235(2)**, 469-477.

Aiken, M. J., Suhag, V., Garcia, C. A., Acio, E., Moreau, S. ve ark. (2009). Doxorubicin-induced cardiac toxicity and cardiac rest gated blood pool imaging. *Clinical Nuclear Medicine*. **34(11)**, 762-767.

Alpert, J. S., Thygesen, K., Antman, E. ve Bassand, J. P. (2000). Myocardial infarction redefined--a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*. **36**, 959–969.

Andersen, A., Holte, H. ve Slørdal, L. (1999). Pharmacokinetics and metabolism of doxorubicin after short-term infusions in lymphoma patients. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. **44**, 422–426.

Andrieu-Abadie, N., Jaffrezou, J. P., Hatem, S., Laurent, G., Levade, T. ve ark. (1999). L-carnitine prevents doxorubicin-induced apoptosis of cardiac myocytes: role of inhibition of ceramide generation. *FASEB Journal*. **13(12)**, 1501-1510.

Antman, E. M. (2002). Decision making with cardiac troponin tests. *The New England Journal of Medicine*. **346(26)**, 2079–2082.

Aranha, O., Grignon, R., Fernandes, N., McDonnell, T. J., Wood, D. P. ve Sarkar, F. H. (2003). Suppression of human prostate cancer cell growth by ciprofloxacin is associated with cell cycle arrest and apoptosis. *International Journal of Oncology*. **22**, 787–794.

Arcamone, F., Franceschi, G., Penco, S. ve Selva, A. (1969). Adriamycin (14-hydroxydaunomycin), a novel antitumor antibiotic. *Tetrahedron Letters*. **13**, 1007–1010.

Arce, J. S., Romeo, R. ve Solórzano, P. (2010). A case of prolonged QT interval and Torsade de Pointes due to ciprofloxacin. *Re-vista Espanola de Cardiologia*. **63(1)**, 111-125.

Askari, A. A., Thomson, S., Edin, M. L., Lih, F. B., Zeldin, D. C. ve ark. (2014). Basal and inducible anti-inflammatory epoxygenase activity in endothelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **446(2)**, 633-637.

Aubel-Sadron, G. ve Londos-Gagliardi, D. (1984). Daunorubicin and doxorubicin, anthracycline antibiotics, a physicochemical and biological review. *Biochimie*. **66**, 333-352.

Badyal, D. K. ve Garg, S. K. (2000). Effect of clarithromycin on the pharmacokinetics of carbamazepine in rhesus monkeys. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*. **22**, 581–584.

Bagchi, D., Bagchi, M., Hassoun, E. A. ve Stohs, S. J. (1995). In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species, DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides. *Toxicology*. **104(1-3)**, 129-140.

Bardi, E., Bobok, I., V Oláh, A., Kappelmayer, J. ve Kiss, C. (2007). Anthracycline antibiotics induce acute renal tubular toxicity in children with cancer. *Pathology Oncology Research :POR*. **13**, 249–253.

Baumhakel, M., Kasel, D., Rao-Schymanski, R. A., Böcker, R., Beckurts, K. T., Zaigler, M. ve ark. (2001). Screening for inhibitory effects of antineoplastic agents on

CYP3A4 in human liver microsomes. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*. **39**, 517–528.

Baykal, A., Arigul, F. S., Suleymanla, G., Moreira, P. I., Perry, G. ve ark. (2005). Ciprofloxacin does not exert nephrotoxicity in rats. *American Journal of Infectious Diseases*. **1(3)**, 145–148.

Behnia, K. ve Boroujerdi, M. (1999). Inhibition of aldo-keto reductases by phenobarbital alters metabolism, pharmacokinetics and toxicity of doxorubicin in rats. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*. **51**, 1275–1282.

Beijnen, J. H. ve Schellens, J. H. M. (2004). Drug interactions in oncology. *The Lancet Oncology*. **5(8)**, 489-496.

Bertazzoli, C., Bellini, O., Magrini, U. ve Tosana, M.G. (2014). Quantitative experimental evaluation of adriamycin cardiotoxicity in the mouse. *Cancer Treatment Reports*. **63**, 1877-1883.

Bertinchant, J. P., Polge, A., Juan, J. M., Oliva-Lauraire, M. C., Giuliani, I., Marty-Double, C. ve ark. (2003). Evaluation of cardiac troponin I and T levels as markers of myocardial damage in doxorubicin-induced cardiomyopathy rats and their relationship with echocardiographic and histological findings. *Clinica Chimica Acta*. **329**, 39–51.

Bertz, R. J. ve Granneman, G. R. (1997). Use of in vitro and in vivo data to estimate the likelihood of metabolic pharmacokinetic interactions. *Clinical Pharmacokinetics*. **32**, 210-258.

Bieche, I., Narjoz, C., Asselah, T., Vacher, S., Marcellin, P. ve ark. (2007). Reverse transcriptase-PCR quantification of mRNA levels from cytochrome (CYP)1, CYP2 and CYP3 families in 22 different human tissues. *Pharmacogenetics and Genomics*. **17(9)**, 731–742.

Bielack, S. S., Erttmann, R., Winkler, K. ve Landbeck, G. (1989). Doxorubicin: effect of different schedules on toxicity and anti-tumor efficacy. *European Journal of Cancer & Clinical Oncology*. **25**, 873–882.

Blanco, J. G., Leisenring, W. M., Gonzalez-Covarrubias, V. M., Kawashima, T. I., Davies, S. M. ve ark. (2008). Genetic polymorphisms in the carbonyl reductase 3 gene CBR3 and the NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 gene NQO1 in patients who developed anthracycline-related congestive heart failure after childhood cancer. *Cancer*. **112(12)**, 2789–2795.

Bodor, G. S., Porter, S., Landt, Y. ve Ladenson, J. H. (1992). Development of monoclonal antibodies for an assay of cardiac troponin-I and preliminary results in suspected cases of myocardial infarction. *Clinical Chemistry*. **38**, 2203–2214.

Boelaert, J., Valcke, Y., Schurgers, M., Daneels, R., Rosseneu, M. ve ark. (1985). The pharmacokinetics of ciprofloxacin in patients with impaired renal function. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **16**, 87-93.

Braunwald, E., Antman, E. M., Beasley, J. W., Califf, R. M., Cheitlin, M. D. ve ark. (2000). ACC/AHA guideline update for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction: executive summary and recommendations. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina). *Circulation*. **102(10)**, 1193-1209.

Brauze, D., Widerak, M., Cwykiel, J., Szyfter, K. ve Baer-Dubowska, W. (2006). The effect of aryl hydrocarbon receptor ligands on the expression of AhR, AhRR, ARNT, Hif1alpha, CYP1A1 and NQO1 genes in rat liver. *Toxicology Letters*. **167(3)**, 212-220.

Briasoulis, E., Karavasilis, V., Tzamakou, E., Rammou, D., Soulti, K. ve ark. (2004). Interaction pharmacokinetics of pegylated liposomal doxorubicin (Caelyx) on coadministration with paclitaxel or docetaxel. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. **53**, 452–457.

Brunner, M., Hollenstein, U., Delacher, S., Jäger, D., Schmid, R. ve ark. (1999). Distribution and antimicrobial activity of ciprofloxacin in human soft tissues. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **43(5)**, 1307-1309.

- Buja, L. M., Ferrans, V. J., Mayer, R. J., Roberts, W. C. ve Henderson, E. S. (1973). Cardiac ultrastructural changes induced by daunorubicin therapy. *Cancer*. **32(4)**, 771–788.
- Bupha-Intr, T., Wattanapermpool, J., Pena, J. R., Wolska, B. M. ve Solaro, R. J. (2007). Myofilament response to Ca^{2+} and $\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$ exchanger activity in sex hormone-related protection of cardiac myocytes from deactivation in hypercapnic acidosis. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology*. **292**, R837-843.
- Burk, O. ve Wojnowski, L. (2004). Cytochrome P450 3A and their regulation. *Archives of Pharmacology*. **369**, 105–124.
- Callies, F., Stromer, H., Schwinger, R. H., Bolck, B., Hu, K. ve ark. (2003). Administration of testosterone is associated with a reduced susceptibility to myocardial ischemia. *Endocrinology* **144**: 4478-4483.
- Campoli-Richards, D. M., Monk, J. P., Price, A., Benfield, P. Todd, P. A. ve ark. (1988). Ciprofloxacin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutics use. *Drugs*. **35**, 373-447.
- Carvalho, C., Santos, R. X., Cardoso, S., Correia, S., Oliveira, P. J. ve ark. (2009). Doxorubicin: the good, the bad and the ugly effect. *Current Medicinal Chemistry*. **16(25)**, 3267–3285.
- Chan, S., Friedrichs, K., Noel, D., Pintér, T., Van Belle, S. ve ark. (1999). Prospective randomized trial of docetaxel versus doxorubicin in patients with metastatic breast cancer. *Journal of clinical oncology*. **17**, 2341-2354.
- Childs, A. C., Phaneuf, S. L., Dirks, A. J., Phillips, T. ve Leeuwenburgh, C. (2002). Doxorubicin treatment in vivo causes cytochrome C release and cardiomyocyte apoptosis, as well as increased mitochondrial efficiency, superoxide dismutase activity, and Bcl-2:Bax ratio. *Cancer Research*. **62**, 4592–4598.

Choi, J.-Y., Nowell, S. A., Blanco, J. G. ve Ambrosone, C. B. (2006). The role of genetic variability in drug metabolism pathways in breast cancer prognosis. *Pharmacogenomics*. **7**, 613–624.

Christenson, R. H., Apple, F. S. ve Morgan, D. L. (1998). Cardiac troponin I measurement with the Access immunoassay system: analytical and clinical performance characteristics. *Clinical Chemistry*. **44(1)**, 52-60.

Chularojmontri, L., Wattanapitayakul, S. K., Herunsalee, A., Charuchongkolwongse, S., Niumsakul, S. ve ark. (2005). Antioxidative and cardioprotective effects of *Phyllanthus urinaria* L. on doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Biological Pharmaceutical Bulletin*. **28(7)**, 1165-1171.

Colombo, T., Parisi, I., Zucchetti, M., Sessa, C., Goldhirsch, A. ve ark. (1999). Pharmacokinetic interactions of paclitaxel, docetaxel and their vehicles with doxorubicin. *Annals of Oncology/ESMO*. **10**, 391–395.

Colon, S. D., Speuak, P. J. ve Parness, I. A. (1992). Cardiomyopathies. In: fyler DC (Ed) *nadas pediatric cardiology*. 2nd ED Mosby Year Book. Boston.329-362.

Corchero, J., Pimprale, S., Kimura, S. and Gonzalez, F. J. (2001). Organization of the CYP1A cluster on human chromosome 15: implications for gene regulation. *Pharmacogenetics*. **11**, 1–6.

Crawford, J., Dale, D. C. ve Lyman, G. H. (2004). Chemotherapy-induced neutropenia: risks, consequences, and new directions for its management. *Cancer*. **100**, 228–237.

Creech, R. H, Catalano, R. B. ve Shah, M. K. (1980). An effective low-dose adriamycin regimen as secondary chemotherapy for metastatic breast cancer patients. *Cancer*. **46(3)**, 433-437.

Cresta, S., Grasselli, G., Mansutti, M., Martoni, A., Lelli, G., Capri, G. ve ark. (2004). A randomized phase II study of combination, alternating and sequential regimens of doxorubicin and docetaxel as first-line chemotherapy for women with metastatic breast cancer. *Annals of oncology/ESMO*. **15**, 433–439.

Cusack, B. J., Tesnohldek, D. A., Loseke, V. L., Vestal, R. E., Brenner, D. E. ve ark. (1988). Effect of phenytoin on the pharmacokinetics of doxorubicin and doxorubicinol in the rabbit. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. **22**, 294–298.

Cutts, S. M., Parsons, P. G., Sturm, R. A. ve Phillips, D. R. (1996). Adriamycin-induced DNA adducts inhibit the DNA interactions of transcription factors and RNA polymerase. *Journal of Biological Chemistry*. **271(10)**, 5422-5429.

Danesi, R., Fogli, S., Gennari, A., Conte, P. ve Del Tacca, M. (2002). Pharmacokinetic pharmacodynamic relationships of the anthracycline anticancer drugs. *Clinical Pharmacokinetics*. **41**, 431–444.

Darley, E. S. R. ve MacGowan, A. P. (2004). Antibiotic treatment of Gram-positive bone and joint infections. *Journal of Antimicrobial and Chemotherapy*. **53**, 928-935.

Das, A., Durrant, D., Mitchell, C., Mayton, E., Hoke, N. N. ve ark. (2010). Sildenafil increases chemotherapeutic efficacy of doxorubicin in prostate cancer and ameliorates cardiac dysfunction. *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A*. **107(42)**, 18202-18207.

Delozier, T. C., Kissling, G. E., Coulter, S. J., Dai, D., Foley, J. F. ve ark (2007). Detection of human CYP2C8, CYP2C9, and CYP2J2 in cardiovascular tissues. *Drug Metabolism and Disposition*. **35**, 682–688.

Dimitrios, K. M., Peppasb, G., Bliziotisa, I. A. ve Falagas, M. E. (2006). Ciprofloxacin/ metronidazole versus β -lactam-based treatment of intra-abdominal infections: a meta-analysis of comparative trials. *International Journal of Microbial Agents*. **28(3)**, 159-165.

Dowd, N. P., Scully, M., Adderley, S. R., Cunningham, A. J. ve Fitzgerald, D.J. (2001). Inhibition of cyclooxygenase-2 aggravates doxorubicin-mediated cardiac injury in vivo. *Journal of Investigation*. **108(4)**, 585-590.

Drlica, K. ve Zhao, X. (1997). DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. **61(3)**, 377-392.

- Dubey, R. K., Jackson, E. K., Gillespie, D. G., Zacharia, L. C. ve Imthurn, B. (2004). Catecholamines block the antimitogenic effect of estradiol on human coronary artery smooth muscle cells. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. **89**, 3922–3931.
- Elbekai, R. H. ve El-Kadi, A. O. (2006). Cytochrome P450 enzymes: central players in cardiovascular health and disease. *Pharmacology and Therapeutics*. **112**, 564–587.
- Engels, E. A., Ellis, C. A., Supran, S. E., Schmid, C. H., Barza, M. ve ark. (1999). Early infection in bone marrow transplantation: quantitative study of clinical factors that affect risk. *Clinical Infectious Diseases*. **28**, 256–266.
- Erttmann, R., Erb, N., Steinhoff, A. ve Landbeck, G. (1988). Pharmacokinetics of doxorubicin in man: dose and schedule dependence. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. **114**, 509–513.
- Falagas, M. E., Rafailidis, P. I. ve Rosmarakis, E. S. (2007). Arrhythmias associated with fluoroquinolone therapy. *International Journal of Antimicrobial Agents*. **29(4)**, 374-379.
- Flaherty, J. P., Waitley, D., Edlin, B., George, D., Arnow, P. ve ark. (1989). Multicenter, randomized trial of ciprofloxacin plus azlocillin versus ceftazidime plus amikacin for empiric treatment of febrile neutropenic patients. *The American Journal of Medicine*. **87**, 278S–282S.
- Flanagan, C. M., Mitchell, E. S. ve Haigney, M. (2006). Ciprofloxacin induced Torsade de Pointes. *International Journal of Cardiology*. **113(2)**, 239-241.
- Flockhart, D. A. (2007). Drug Interactions: cytochrome P450 drug interaction table. *Indiana University School of Medicine*. **25**.
- Forrest, G. L., Gonzalez, B., Tseng, W., Li, X. ve Mann, J. (2000). Human carbonyl reductase overexpression in the heart advances the development of doxorubicin-induced cardiotoxicity in transgenic mice. *Cancer Research*. **60**, 5158–5164.

Frothingham, R. (2001). Rates of torsades de pointes associated with ciprofloxacin, ofloxacin, levofloxacin, gatifloxacin, and moxifloxacin. *Pharmacotherapy*. **21(12)**, 1468-1472.

Fuhr, U., Anders, E. M., Mahr, G., Sorgel, F. ve Staib, A. H. (1992). Inhibitory potency of quinolone antibacterial agents against cytochrome P4501A2 activity in vivo and in vitro. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, **36**: 942-948.

Fulton, D., Mahboubi, K., McGiff, J. C. ve Quilley, J. (1995). Cytochrome P450-dependent effects of bradykinin in the rat heart. *British Journal of Pharmacology*. **114**, 99–102.

Gabizon, A., Peretz, T., Sulkes, A., Amselem, S., Ben-Yosef, R. ve ark. (1989). Systemic administration of doxorubicin-containing liposomes in cancer patients: a phase I study. *European Journal of Cancer and Clinical Oncology*. **25(12)**, 1795-1803.

Ganey, P. E., Carter, L. S., Mueller, R. A. ve Thurman, R. G. (1991). Doxorubicin toxicity in perfused rat heart. Decreased cell death at low oxygen tension. *Circulation Research*. **68**, 1610–1613.

Geetha, A., Marar, T. ve Devi, C. S. (1991). Effect of alpha-tocopherol on doxorubicin-induced changes in rat liver and heart microsomes. *Indian Journal of Experimental Biology*. **29**, 782–785.

Gewirtz, D. A. (1999). A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunorubicin. *Biochemical Pharmacology*. **57(7)**, 727–741.

Ghaffari, M. S. ve Parsamehr, R. (2009). The effects of intravenous ciprofloxacin on the electrocardiogram of healthy dogs. *Veterinary Research Communications*. **33(8)**, 987-990.

Gillis, M. C., 1997. Ciprofloxacin. In: compendium of pharmaceuticals and specialties. 32nd Ed. Canadian pharmaceuticals association. Ottawa, Canada. 292-295.

Goodman ve Gilman's. (1996). The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9. edt.

Goormaghtigh, E., Huart, P., Praet, M., Brasseur, R. ve Ruyschaert, J. M. (1990). Structure of the adriamycin-cardiolipin complex. Role in mitochondrial toxicity. *Biophysical Chemistry*. **35**, 247–257.

Granfors, M. T., Backman, J. T., Neuvonen, M. ve Neuvonen, P. J. (2004). Ciprofloxacin greatly increases concentrations and hypotensive effect of tizanidine by inhibiting its cytochrome P450 1A2-mediated presystemic metabolism. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. **76(6)**, 598-606.

Greene, R. F., Collins, J. M., Jenkins, J. F., Speyer, J. L. ve Myers, C. E. (1983). Plasma pharmacokinetics of adriamycin and adriamycinol: Implications for the design of in vitro experiments and treatment protocols. *Cancer Research*. **43**, 3417–3421.

Greiner, B., Eichelbaum, M., Fritz, P., Kreichgauer, H. P., von Richter, O. ve ark. (1999). The role of intestinal P-glycoprotein in the interaction of digoxin and rifampin. *The Journal of Clinical Investigation*. **104**, 147–153.

Gurtowska, N., Kloskowski, T. ve Drewa, T. (2010). Ciprofloxacin criteria in antimicrobial prophylaxis and bladder cancer recurrence. *Medical Science Monitor : International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. **16**, RA218–A223.

Hajjaji, N., Couet, C., Besson, P. ve Bougnoux, P. (2012). DHA effect on chemotherapy-induced body weight loss: An exploratory study in a rodent model of mammary tumors. *Nutrition and Cancer*. **64(7)**, 1000-1007.

Haron, E., Rolston, K. V, Cunningham, C., Holmes, F., Umsawasdi, T. ve ark. (1989). Oral ciprofloxacin therapy for infections in cancer patients. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **24**, 955–962.

Hasinoff, B. B. (1990). The hydrolysis activation of the doxorubicin cardioprotective agent ICRF-187 [(+)-1,2-bis(3,5-dioxopiperazinyl-1-yl)propane). *Drug Metabolism and Disposition*. **18(3)**, 344–349.

Herman, E. H., El-Hage, A. N., Ferrans, V. J. ve Ardalan, B. (1985). Comparison of the severity of the chronic cardiotoxicity produced by doxorubicin in normotensive and hypertensive rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*. **78**, 202–214.

Herman, E. H., Lipshultz, S. E., Rifai, N., Zhang, J., Papoian, T. ve ark. (1998). Use of cardiac troponin T levels as an indicator of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Cancer Research*. **58**, 195–197.

Herman, E. H., Zhang, J., Chadwick, D. P. ve Ferrans, V. J. (2000). Comparison of the protective effects of amifostine and dexrazoxane against the toxicity of doxorubicin in spontaneously hypertensive rats. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. **45**, 329–334.

Herold, C., Ocker, M., Ganslmayer, M., Gerauer, H., Hahn, E. G. ve ark. (2002). Ciprofloxacin induces apoptosis and inhibits proliferation of human colorectal carcinoma cells. *British Journal of Cancer*. **86**, 443–448.

Hideg, K. ve Kalai T. (2007). Novel antioxidants in anthracycline cardiotoxicity. *Cardiovascular Toxicology*. **7**, 160-164.

Hoekman, K., van der Vijgh, W. J. ve Vermorken, J. B. (1999). Clinical and preclinical modulation of chemotherapy-induced toxicity in patients with cancer. *Drugs*. **57**, 133–155.

Holmes, F. A. ve Rowinsky, E. K. (2001). Pharmacokinetic profiles of doxorubicin in combination with taxanes. *Seminars in Oncology*. **28**, 8–14.

Holtzman, C. W., Wiggins, B. S. ve Spinler, S. A. (2006). Role of P-glycoprotein in statin drug interactions. *Pharmacotherapy*. **26**, 1601–1607.

Hooper, D. C, Wolfson J. S. (1991). Fluoroquinolone antimicrobial agents. *New England Journal Medicine*. **324(6)**, 384–394.

Hooton, T. M., Scholes, D., Gupta, K., Stapleton, A. E., Roberts, P. L. ve ark. (2005). Amoxicillin-clavulanate vs ciprofloxacin for the treatment of uncomplicated cystitis in women: a randomized trial. *JAMA*. **293(8)**, 949-955.

Horenstein, M. S., Vander-Heide, R. S. ve L'Ecuyer, T. J. (2000). Molecular basis of anthracycline-induced cardiotoxicity and its prevention. *Molecular Genetics and Metabolism*. **71**, 436–444.

Howell, S. J. ve Shalet, S. M. (2005). Spermatogenesis after cancer treatment: damage and recovery. *Journal of the National Cancer Institute Monographs*. **34**, 12–17.

Hrelia, S., Fiorentini, D., Maraldi, T., Angeloni, C., Bordoni, A. ve ark. (2002). Doxorubicin induces early lipid peroxidation associated with changes in glucose transport in cultured cardiomyocytes. *Biochimica et Biophysica Acta*. **1567(1-2)**, 150-156.

Hyatt, J. M., Nix, D. E. ve Schentag, J. J. (1994). Pharmacokinetics and pharmacodynamics activities of ciprofloxacin against strains of *Streptococcus pneumonia*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* for which MICs are similar. *AntiMicrobial Agent and Chemotherapy*. **38(12)**, 2730-2737.

Iannini, P. B. ve Tittoson, G. S. (2001). Evaluating the risk of cardiotoxicity. *Pharmacotherapy*. **21(3)**, 261-262.

Ibrahim, M. ve Omar, B. (2012). Ciprofloxacin induce Torsade de Pointes. *American Journal of Emergency Medicine*. **30(252)**, 5-9.

Ikeya, K., Jaiswal, A. K., Owens, R. A., Jones, J. E., Nebert, D. W. ve ark. (1989). Human CYP1A2: sequence, gene structure, comparison with the mouse and rat orthologous gene, and differences in liver 1A2 mRNA expression. *Molecular Endocrinology*. **3(9)**, 1399-408.

Imran, I., Iqbal, J., Iqbal, S. ve Ijaz, N. (2007). In vitro antibacterial studies of ciprofloxacin-imines and their complexes with Cu (II), Ni (II), Co (II) and Zn (II). *Turkish Journal Biology*. **31**, 67-72.

Ioannides, C. ve Lewis, D. F. (2004). Cytochromes P450 in the bioactivation of chemicals. *Current Topics in Medical Chemistry*. **4**, 1767–1788.

- Ito, H., Miller, S.C., Billingham, M. E., Akimoto, H., Torti, S.V. ve ark. (1990). Doxorubicin selectively inhibits muscle gene expression in cardiac muscle cells in vivo and in vitro. *Proceedings of National Academy of Science U. S. A.* **87(11)**, 4275-4279.
- Ito, T., Suzuki, T., Tamura, K., Nezu, T., Honda, K. ve ark. (2008). Examination of mRNA expression in rat hearts and lungs for analysis of effects of exposure to concentrated ambient particles on cardiovascular function. *Toxicology.* **243**, 271–283.
- Jang, Y. M., Kendaiah, S., Drew, B., Phillips, T., Selman, C. ve ark. (2004). Doxorubicin treatment in vivo activates caspase-12 mediated cardiac apoptosis in both male and female rats. *FEBS Letter.* **577**, 483–490.
- Jerling, M., Lindström, L., Bondesson, U. ve Bertilsson, L. (1994). Fluvoxamine inhibition and carbamazepine induction of the metabolism of clozapine: evidence from a therapeutic drug monitoring service. *Therapeutic Drug Monitoring.* **16**, 368–374.
- Jorge-Nebert, L. F., Jiang, Z., Chakraborty, R., Watson, J., Jin, L. ve ark. (2010). Analysis of human CYP1A1 and CYP1A2 genes and their shared bidirectional promoter in eight world populations. *Human Mutation.* **31**, 27–40.
- Jung, K. ve Reszka, R. (2001). Mitochondria as subcellular targets for clinically useful anthracyclines. *Advanced Drug Delivery Reviews.* **49**, 87-105.
- Kahn, J. B. (2000). Quinolone-induced QT interval prolongation a not so unexpected class effect. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* **46(5)**, 847- 848.
- Kaiserová, H. ve Kvasnicková, E. (2005). Inhibition study of rabbit liver cytosolic reductases involved in daunorubicin toxication. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry.* **20**, 477–483.
- Karagoz, B., Suleymanoglu, S., Uzun, G., Bilgi, O., Aydinöz, S. ve ark. (2008). Hyperbaric oxygen therapy does not potentiate doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Basic Clinical Pharmacology and Toxicology.* **102**, 287-292.
- Kassner, N., Huse, K., Martin, H.-J., Gödtel-Armbrust, U., Metzger, A. ve ark. (2008). Carbonyl reductase 1 is a predominant doxorubicin reductase in the human liver. *Drug Metabolism and Disposition.* **36**, 2113–2120.

Katrisis, D. ve Camm, A. J. (2003). Quinolones cardioprotective or cardiotoxic. *Pacing and Clinical Electrophysiology*. **26(12)**, 2317-2320.

Kawasaki, N., Lee, J. D., Shimizu, H., Ishii, Y. ve Ueda, T. (1996). Cardiac energy metabolism at several stages of adriamycin-induced heart failure in rats. *International Journal of Cardiology*. **55(3)**, 217-225.

Keizer, H. G., Pinedo, H. M., Schuurhuis, G. J. ve Joenje, H. (1990). Doxorubicin (adriamycin): A critical review of free radical-dependent mechanisms of cytotoxicity. *Pharmacology Therapy*. **47(2)**, 219-231.

Kelly, D. J., Chulay, J. D., Mikesell, P. ve Friedlander, A. M. (1992). Serum concentrations of penicillin, doxycycline, and ciprofloxacin during prolonged therapy in rhesus monkeys. *The Journal Infectious Diseases*. **166(5)**, 1184-1187.

Kern, W. V., Marchetti, O., Drgona, L., Akan, H., Aoun, M. ve ark. (2013). Oral antibiotics for fever in low-risk neutropenic patients with cancer: a double-blind, randomized, multicenter trial comparing single daily moxifloxacin with twice daily ciprofloxacin plus amoxicillin/clavulanic acid combination therapy--EORTC infectiou. *Journal of Clinical Oncology*. **31(9)**, 1149–1156.

Kirita, S. ve Matsubara T. (1993). cDNA cloning and characterization of a novel member of steroid-induced cytochrome P450 3A in rats. *Archives Biochem Biophysics*. **307(2)**, 253-258.

Knorr, J. P., Moshfeghi, M. ve Sokoloski, M. C. (2008). Ciprofloxacin-induced Q-T interval prolongation. *American journal of health-system pharmacy/AJHP*. **56**, 547–551.

Konorev, E. A, Kotamraju, S., Zhao, H., Kalivendi, S., Joseph, J. ve ark. (2002). Paradoxical effects of metalloporphyrins on doxorubicin-induced apoptosis: scavenging of reactive oxygen species versus induction of heme oxygenase-1. *Free Radical Biology and Medicine*. **33(7)**, 988.

- Konstantino, P. L., Antonios, S., Stavios, P. K., Michalis, E., Panagiotis, K. (2006). Drug induced QT interval prolongation after ciprofloxacin administration in a patient receiving olanzapine. *International Journal of Cardiology*. **109**(2), 273-274.
- Korashy, H. M. ve El-Kadi, A. O. S. (2006). The role of aryl hydrocarbon receptor in the pathogenesis of cardiovascular diseases. *Drug Metabolism Reviews*. **38**, 411–450.
- Lebrecht, D., Geist, A., Ketelsen, U. P., Haberstroh, J., Setzer, B. ve ark. (2007). Dexrazoxane prevents doxorubicin-induced long-term cardiotoxicity and protects myocardial mitochondria from genetic and functional lesions in rats. *British Journal of Pharmacology*. **151**(6), 771–778.
- Lebrecht, D., Setzer, B., Ketelsen, U.-P., Haberstroh, J. ve Walker, U. A. (2003). Time-dependent and tissue-specific accumulation of mtDNA and respiratory chain defects in chronic doxorubicin cardiomyopathy. *Circulation*. **108**, 2423–2429.
- Lefrak, E. A., Pişha, J., Rosenheim, S. ve Gottlieb, J. A. (1973). A clinicopathologic analysis of adriamycin cardiotoxicity. *Cancer*. **32**(2), 302–314.
- Leondro, J., Dyck, J., Poppe, D., Shore, R., Airhart, C. ve ark. (1994). Cardiac dysfunction late after cardiotoxic therapy for childhood cancer. *The American Journal of Cardiology*. **74**, 1152-1156.
- Leszyk, J., Dumaswala, R., Potter, J. D. ve Collins, J. H. (1988). Amino acid sequence of bovine cardiac troponin I. *Biochemistry*. **27**, 2821-2827.
- Lin, J. H. ve Yamazaki, M. (2003). Role of P-glycoprotein in pharmacokinetics: Clinical implications. *Clinical Pharmacokinetics*. **42**, 59–98.
- Lipshultz, S. E., Rifai, N., Dalton, V. M., Levy, D. E., Silverman, L. B. ve ark. (2004). The effect of dexrazoxane on myocardial injury in doxorubicin-treated children with acute lymphoblastic leukemia. *The New England journal of medicine*. **351**, 145–153.
- Llesuy, S. F. ve Arnaiz, S. L. (1990). Hepatotoxicity of mitoxantrone and doxorubicin. *Toxicology*. **63**(2), 187-198.

Makaryus, A. N., Byrns, K., Makaryus, M. N., Natarajan, U. ve Singer, C. (2006). Effect of ciprofloxacin and levofloxacin on the QT interval: Is this a significant. clinical event. *Southern Medical Journal*. **99(1)**, 52-56.

Marsh, J. D., Lehmann, M. H., Ritchie, R. H., Gwathmey, J. K., Green, G. E. ve ark. (1998). Androgen receptors mediate hypertrophy in cardiac myocytes. *Circulation* **98**: 256-261.

McCallum, G. P., Horton, J. E., Falkner, K. C. ve Bend, J. R. (1993). Microsomal cytochrome P450 1A1 dependent monooxygenase activity in guinea pig heart: induction, inhibition, and increased activity by addition of exogenous NADPH-cytochrome P450 reductase. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. **71**, 151–156.

Mettler, F. P., Young, D. M. ve Ward, J. M. (1977). Adriamycin-induced cardiotoxicity (cardiomyopathy and congestive heart failure) in rats. *Cancer Research*. **37**, 2705–2713.

Michaud, V., Frappier, M., Dumas, M-C. and Turgeon, J. (2010). Metabolic Activity and mRNA Levels of Human Cardiac CYP450s Involved in Drug Metabolism. *PLoS ONE*. **5(12)**: 1-11.

Milberg, P., Hilker, E., Ramtin, S., Cakir, Y., Stypmann, J. ve ark. (2007). Proarrhythmia as a class effect of quinolones: increased dispersion of repolarization and triangulation of action potential predict torsades de pointes. *Journal Cardiovascular Electrophysiology*. **18(6)**, 647-654.

Minotti, G., Menna, P., Salvatorelli, E., Cairo, G. ve Gianni, L. (2004). Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacological Reviews*. **56**, 185–229.

Mordente, A., Meucci, E., Martorana, G. E., Giardina, B. ve Minotti, G. (2001). Human heart cytosolic reductases and anthracycline cardiotoxicity. *IUBMB Life*. **52**, 83- 88.

Muggia, F. M. ve Green, M. D. (1991). New anthracycline antitumor antibiotics. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. **11**, 43-64.

Murphy, G. S., Bodhidatta, L., Echeverria, P., Tansuphaswadikul, S., Hoge, C. W. ve ark. (1993). Ciprofloxacin and loperamide in the treatment of bacillary dysentery. *Annals of Internal Medicine*. **118(8)**, 582-586.

Nair, M. K., Patel, K. ve Starer, P. J. (2008). Ciprofloxacin-induced Torsade de Pointes in a methadone-dependent patient. *Addiction*. **103(12)**, 2062-2064.

Nebert, D. W. ve Dalton, T. P. (2006). The role of cytochrome P450 enzymes in endogenous signalling pathways and environmental carcinogenesis. *Nature Review Cancer*. **6(12)**, 947-960.

Nencioni, A., Cea, M., Montecucco, F., Longo, V. D., Patrone, F. ve ark. (2013). Autophagy in blood cancers: biological role and therapeutic implications. *Haematologica*. **98**, 1335–1343.

Neu, H.C., Percival, A. ve Lode, H. (1987). Ciprofloxacin: A major advance in quinolone chemotherapy, *American Journal of Medicine*. **82(4A)**, 1-404.

Newby, L. K., Gibler, B. ve Chriztenson, R. H. (1999). Serum markers for diagnosi and risk stratification in acute coronary syndromes, Ed; *Cannon CP, Humana Press, NJ* 147-171.

Ogu, C. C. ve Maxa, J. L. (2000). Drug interactions due to cytochrome P450. *Proceedings (Baylor University. Medical Center)*. **13**, 421–423.

Ohara, H., Miyabe, Y., Deyashiki, Y., Matsuura, K. ve Hara, A. (1995). Reduction of drug ketones by dihydrodiol dehydrogenases, carbonyl reductase and aldehyde reductase of human liver. *Biochemical Pharmacology*. **50**, 221–227.

Ohman, E. M., Armstrong, P. W., Christenson, R. H., Granger, C. B., Katus, H. A. ve ark. (1996). Cardiac troponin T levels for risk stratification in acute myocardial ischemia. GUSTO IIA Investigators. *The New England journal of medicine*. **335**, 1333–1341.

Olson, L. E., Bedja, D., Alvey, S. J., Cardounel, A. J., Gabrielson, K. L. ve ark. (2003). Protection from doxorubicin-induced cardiac toxicity in mice with a null allele of carbonyl reductase 1. *Cancer Research*. **63**, 6602–6606.

- Olson, R. D., Mushlin, P. S., Brenner, D. E., Fleischer, S., Cusack, B. J. ve ark. (1988). Doxorubicin cardiotoxicity may be caused by its metabolite, doxorubicinol. *Proceedings of the National Academy of Sciences U. S. A.* **85(10)**, 3585–3589.
- Ooi, D. S., Veinot, J. P., Wells, G. A. ve House, A. A. (1999). Increased mortality in hemodialyzed patients with elevated serum troponin T: A one-year outcome study. *Clinical Biochemistry.* **32**, 647–652.
- Panis, C., Herrera, A. C. S. A., Victorino, V. J., Campos, F. C., Freitas, L. F. ve ark. (2012). Oxidative stress and hematological profiles of advanced breast cancer patients subjected to paclitaxel or doxorubicin chemotherapy. *Breast Cancer Research and Treatment.* **133 (1)**, 89-97.
- Park, M. S., Okochi, H. ve Benet, L. Z. (2011). Is Ciprofloxacin a Substrate of P-glycoprotein? *Archives of Drug Information.* **4(1)**, 1–9.
- Patenes, S., Marte, F., Di Bella, G., Gurro, A. ve Coglitore, S. (2008). QT interval prolongation, Torsade de Pointes and renal failure. *International Journal of Cardiology.* **12(2)**, 71-73.
- Patmore, L., Fraser, S., Mair, D. ve Templeton, A. (2000). Effects of sparfloxacin, grepafloxacin, moxifloxacin, and ciprofloxacin on cardiac action potential duration. *European Journal of Pharmacology.* **406(3)**, 449-452.
- Pispirogos, K. ve Chrysanthopoulos, K. (2001). Evaluation of Cardio Subacute Toxicity of Ciprofloxacin in Rats Using Serum Biochemical Parameters. *Arzneimittel Forschung.* **51(7)**, 582-587.
- Prabhakar, M. ve Krahn, A. D. (2004). Ciprofloxacin-induced acquired long QT syndrome. *Heart Rhythm.* **1**, 624–626.
- Prescott, M. A. ve Baggot, J. D. (1988). Antimicrobial therapy in veterinary medicine, blackwell scientific publications. London.
- Quiles, J. L., Huertas, J. R., Battino, M., Mataix, J. ve Ramírez-Tortosa, M. C. (2002). Antioxidant nutrients and adriamycin toxicity. *Toxicology.* **180(1)**, 79-95.

- Ramond, A., Sartorius, E., Mousseau, M., Ribout, C. ve Joyeux-Faure, M. (2008). Erythropoietin pretreatment protects against acute chemotherapy toxicity in isolated rat hearts. *Experimental Biology and Medicine*. **233(1)**, 76–83.
- Riddick, D. S., Lee, C., Ramji, S., Chinje, E. C., Cowen, R. L., Williams, K. J. ve ark. (2005). Cancer chemotherapy and drug metabolism. *Drug Metabolism and Disposition*. **33**, 1083-1096.
- Riechelmann, R. P., Townsley, C. A., Chin, S. N., Pond, G. R. ve Knox, J. J. (2007). Expanded phase II trial of gemcitabine and capecitabine for advanced biliary cancer. *Cancer*. **110(6)**, 1307-1312.
- Rigatos, S. K., Stathopoulos, G. P., Dontas, I., Perrea-Kotsarelis, D., Couris, E. ve ark. (2002). Investigations of doxorubicin tissue toxicity: does amifostine provide chemoprotection? An experimental study. *Anticancer Research*. **22**, 129-134.
- Ritter, O. ve Neyses L. (2003). The molecular basis of myocardial hypertrophy and heart failure. *Trends in Molecular Medicine*. **9**, 313–321.
- Roca, J. (1995). The mechanisms of DNA topoisomerases. *Trends in Biochemical Sciences*. **20(4)**, 156-160.
- Roman, R. J. (2002). P-450 metabolites of arachidonic acid in the control of cardiovascular function. *Physiological Reviews*. **82**, 131–185.
- Saffe, A. S. ve Davidenka, J. (2001). Diagnosis of acute myocardial ischemia and infarction, In Cardiology, Ed; Crawford, M. H., Dimarco, J. P. ve Mosby, L. London 137-138.
- Saracoglu, A., Temel, H. E., Ergun, B. ve Colak, O. (2009). Oxidative stress-mediated myocardiotoxicity of ciprofloxacin and ofloxacin in juvenile rats. *Drug and Chemical Toxicology*. **32**, 238–242.
- Sarko, J. ve Pollack, C. V. (2002). Cardiac troponins. *The Journal of Emergency Medicine*. **23(1)**, 57–65.

Scheuer, J, Malhotra, A., Schaible, T. F. ve Capasso, J. (1987). Effects of gonadectomy and hormonal replacement on rat hearts. *Circulation Research*. **61**, 12-19.

Schroeder, P. E. ve Hasinoff, B. B. (2005). Metabolism of the one-ring open metabolites of the cardioprotective drug dexrazoxane to its active metal-chelating form in the rat. *Drug Metabolism and Disposition*. **33(9)**, 1367–1372.

Segev, S., Yaniv, I., Haverstock, D. ve Reinhart, H. (1999). Safety of long-term therapy with ciprofloxacin: data analysis of controlled clinical trials and review. *Clinical Infectious Disease*. **28(2)**, 299-308.

Seifert, C. F., Nesser, M. E. ve Thompson, D. F. (1994). Dexrazoxane in the prevention of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *The Annals of Pharmacotherapy*. **28**, 1063–1072.

Shakir, D. K. ve Rasul, K. I. (2009). Chemotherapy induced cardiomyopathy: pathogenesis, monitoring and management. *Journal of Clinical Medicine Research*. **1(1)**, 8–12.

Sharkey, L. C., Radin, M. J., Heller, L., Rogers, L. K., Tobias, A. ve ark. (2013). Differential cardiotoxicity in response to chronic doxorubicin treatment in male spontaneous hypertension-heart failure (SHHF), spontaneously hypertensive (SHR), and Wistar Kyoto (WKY) rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*. **273**, 47–52.

Shen, F., Chu, S., Bence, A. K., Bailey, B., Xue, X. ve ark. (2008). Quantitation of doxorubicin uptake, efflux, and modulation of multidrug resistance (MDR) in MDR human cancer cells. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. **324**, 95–102.

Shi, Y., Moon, M., Dawood, S., McManus, B. ve Liu, P. P. (2011). Mechanisms and management of doxorubicin cardiotoxicity. *Herz*. **36(4)**, 296-305.

Simoensa, S., Verhaegenb, J. Laekemana, G. ve Peetermansc, W. E. (2005). Treating respiratory tract infections in ambulatory care in Belgium: Fluoroquinolone consumption and resistance development. *Internatonal Journal of Microbial Agents*. **26(1)**, 62-68.

Simoncikova, P., Ravingerova, T. ve Barancik, M. (2008). The effect of chronic doxorubicin treatment on mitogen-activated protein kinases and heat stress proteins in rat hearts. *Physiological Research*. **57(2)**, S97-S102.

Simunek, T., Sterba, M., Holecková, M., Kaplanová, J., Klimtová, I. ve ark. (2005). Myocardial content of selected elements in experimental anthracycline-induced cardiomyopathy in rabbits. *Biometals*. **18**, 163–169.

Singh, H., Kishore, K., Gupta, M. S., Khetarpals, S., Jain, S. ve ark. (2002). Reported case of ciprofloxacin induced QTC prolongation. *Journal of the Association of Physicians of India*. **50**, 430-431.

Skrzypiec-Spring, M., Grotthus, B., Szelag, A., Schulz, R. (2007). Isolated heart perfusion according to Langendorff-still viable in the new millennium. *Journal of Pharmacology and Toxicology Methods*. **55(2)**, 113-126.

Solem, L. E., Henry, T. R. ve Wallace, K. B. (1994). Disruption of mitochondrial calcium homeostasis following chronic doxorubicin administration. *Toxicology and Applied Pharmacology*. **129(2)**, 214-222.

Speth, P. A., Linssen, P. C., Holdrinet, R. S. ve Haanen, C. (1987). Plasma and cellular adriamycin concentrations in patients with myeloma treated with ninety-six-hour continuous infusion. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. **41**, 661–665.

Suh, Y., Chun, C. Oh, S. ve Jung, S. (2006). Is the prophylactic use of colony stimulating factor and oral ciprofloxacin effective to prevent neutropenia in patients having docetaxel, doxorubicin, and cyclophosphamide for breast cancer as an adjuvant chemotherapy in Korea?. *Journal of Clinical Oncology*. **24**, 10736.

Suresh, A., Guedez, L., Moreb, J. ve Zucali, J (2003). Overexpression of manganese superoxide dismutase promotes survival in cell lines after doxorubicin treatment. *British Journal of Haematology*. **120(3)**, 457-463.

Süzer Ö. (1994) İzole Sıçan Kalbinde Perfüzyon Aritmileri. *Türk Farmakoloji Derneği Yayınları Ankara*. **6**, S:69-72.

Süzer, Ö. (1997) Langendorff İzole Kalp Preparatları ve Kullandığımız Çalışma Modelleri. *Türk Farmakoloji Derneği Yayınları Ankara*. **14**, S:40-47.

Takemura, G. ve Fujiwara, H. (2007). Doxorubicin-induced cardiomyopathy. From the cardiotoxic mechanisms to management. *Progress in Cardiovascular Diseases*. **49**, 330–352.

Talan, D. A., Naber, K.G. Palou, J. ve Elkharrat, D. (2004). Extended-release ciprofloxacin (Cipro XR) for treatment of urinary tract infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*. **23(1)**, 54-66.

Tatlidede, E., Sehirli, O., Velioğlu-Oğünc, A., Cetinel, S., Yeğen, B. C. ve ark. (2009). Resveratrol treatment protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity by alleviating oxidative damage. *Free Radical Research*. **43(3)**, 195–205.

Thompson, K. L., Rosenzweig, B. A., Zhang, J., Knapton, A. D., Honchel, R., ve ark. (2010). Early alterations in heart gene expression profiles associated with doxorubicin cardiotoxicity in rats. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. **66**, 303–314.

Thum, T. ve Borlak, J. (2000a). Cytochrome P450 mono-oxygenase gene expression and protein activity in cultures of adult cardiomyocytes of the rat. *British Journal of Pharmacology*. **130**, 1745–1752.

Thum, T. ve Borlak, J. (2000b). Gene expression in distinct regions of the heart. *Lancet*. **355**, 979–983.

Thum, T. ve Borlak, J. (2002). Testosterone, cytochrome P450 and cardiac hypertrophy. *FASEB J*. **16**, 1537–1549.

Tjan-Heijnen, V. C., Postmus, P. E., Ardizzoni, A., Manegold, C. H., Burghouts, J. ve ark. (2001). Reduction of chemotherapy-induced febrile leucopenia by prophylactic use of ciprofloxacin and roxithromycin in small-cell lung cancer patients: an EORTC double-blind placebo-controlled phase III study. *Annals of oncology*. **12**, 1359–1368.

Tokarska-Schlattner, M., Wallimann, T. ve Schlattner, U. (2006). Alterations in myocardial energy metabolism induced by the anti-cancer drug doxorubicin. *Comptes Rendus - Biologies*. **329(9)**, 657-668.

- Tokarska-Schlattner, M., Zaugg, M., da Silva, R., Lucchinetti, E., Schaub, M. C. ve ark. (2005). Acute toxicity of doxorubicin on isolated perfused heart: response of kinases regulating energy supply. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*. **289**, H37–H47.
- Trammell, R., Jhaveri, K. ve Toth, L. A. (2007). Neuroimmunology of sleep. Ed. Pandi-Perumal, S. R. ve Chrousos, G. *Neuroimmunology of sleep*. New York: Springer Press.
- Ulusoy, G. (2004). Genetic polymorphisms of alcohol inducible CYP2E1 in Turkish population. *Department of Biochemistry January*, **123**.
- Urbanova, D., Urban, L., Carter, A., Maasova, D. ve Mladoslaviceva, B. (2006). Cardiac troponins--biochemical markers of cardiac toxicity after cytostatic therapy. *Neoplasma*. **53**, 183–190.
- Urbanova, D., Urban, L., Simkova, I., Danova, K., Mikuskova, E. ve ark. (2010). Long-term cardiac effects of treatment for childhood leukemia. *Neoplasma*. **57**, 179–183.
- Valls, V., Castelluccio, C., Fato, R., Genova, M. L., Bovina, C. ve ark. (1994). Protective effect of exogenous coenzyme Q against damage by adriamycin in perfused rat liver. *Biochemistry and Molecular Biology International*. **33(4)**, 633-642.
- Van Asperen, J., Van Tellingen, O. ve Beijnen, J. H. (2000). The role of mdrla P-glycoprotein in the biliary and intestinal secretion of doxorubicin and vinblastine in mice. *Drug Metabolism and Disposition*. **28**, 264–267.
- Van Weert, E., Hoekstra-Weebers, J., Otter, R., Postema, K., Sanderman, R. ve ark. (2006). Cancer-related fatigue: predictors and effects of rehabilitation. *The Oncologist*. **11**, 184–196.
- Vici, P., Colucci, G., Giotto, F., Sergi, D., Filippelli, G. ve rak. (2011). A multicenter prospective phase II randomized trial of epirubicin/vinorelbine versus pegylated liposomal doxorubicin/vinorelbine as first-line treatment in advanced breast cancer. A GOIM study. *Journal of experimental and clinical cancer research*. **30**, 39.

Volkova, M., Palmeri, M., Russell, K. S. ve Russell, R. R. (2011). Activation of the aryl hydrocarbon receptor by doxorubicin mediates cytoprotective effects in the heart. *Cardiovascular Research*. **90(2)**, 305-314.

Von Hoff, D. D., Layard, M. W., Basa, P., Davis, H. L., Von Hoff, A. L. ve ark. (1979). Risk factors for doxorubicin-induced congestive heart failure. *Annals of Internal Medicine*. **91**, 710–717.

Von Minckwitz, G., Kümmel, S., du Bois, A., Eiermann, W., Eidtmann, H. ve ark. (2008). Pegfilgrastim +/- ciprofloxacin for primary prophylaxis with TAC (docetaxel/doxorubicin/cyclophosphamide) chemotherapy for breast cancer. Results from the GEPARTRIO study. *Annals of Oncology*. **19(2)**, 292-298.

Von Moltke, L. L., Greenblatt, D. J., Schmider, J., Duan, S. X., Wright, C. E. ve ark. (1996). Midazolam hydroxylation by human liver microsomes in vitro: inhibition by fluoxetine, norfluoxetine, and by azole antifungal agents. *Journal of Clinical Pharmacology*. **36**, 783–791.

Wallace, K. B. (2003). Doxorubicin-induced cardiac mitochondrionopathy. *Pharmacology & Toxicology*. **93(3)**, 105–115.

Wallace, K. B., Hausner, E., Herman, E., Holt, G. D., MacGregor, J. T. ve ark. (2004). Serum troponins as biomarkers of drug-induced cardiac toxicity. *Toxicologic Pathology*. **32(1)**, 106–121.

Wang, S., Konorev, E. A., Kotamraju, S., Joseph, J., Kalivendi, S. ve ark. (2004). Doxorubicin induces apoptosis in normal and tumor cells via distinctly different mechanisms. intermediacy of H₂O₂- and p53-dependent pathways. *Journal of Biological Chemistry*. **279(24)**, 25535-25543.

Warren, K. E., McCully, C. M., Walsh, T. J. ve Balis, F. M. (2000). Effect of fluconazole on the pharmacokinetics of doxorubicin in nonhuman primates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **44**, 1100–1101.

Weidner, W., Wagenlehner, F. M. E. ve Naber, K. G. (2008). Chronic bacterial prostatitis. Chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome. Humana Press. UK. 31-43.

- Williams, J. A., Ring, B. J., Cantrell, V. E., Jones, D. R., Eckstein, J. ve ark. (2002). Comparative metabolic capabilities of CYP3A4, CYP3A5, and CYP3A7. *Drug Metabolism Disposition*. **30**, 883–891.
- Wolska, A., Robak, T., Szmigielska-Kaplon, A., Pluta, A., Kopka, P. ve ark. (2012). Ciprofloxacin prophylaxis for patients undergoing high-dose chemotherapy and autologous stem cell transplantation (ASCT) - a single-center experience. *Advances in Medical Sciences*. **57(1)**, 118-123.
- Wrighton, S. A., Brian, W. R., Sari, M. A., Iwasaki, M., Guengerich, F. P. ve ark (1990). Studies on the expression and metabolic capabilities of human liver cytochrome P450III_{A5} (HLp3). *Molecular Pharmacology*. **38**, 207–213.
- Wu, A. H., Apple, F. S., Gibler, W. B., Jesse, R. L., Warshaw, M. M. ve ark. (1999). National Academy of Clinical Biochemistry Standards of Laboratory Practice: recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery diseases. *Clinical Chemistry*. **45**, 1104–1121.
- Wu, S., Chen, W., Murphy, E., Gabel, S., Tomer, K. B. ve ark. (1997). Molecular cloning, expression, and functional significance of a cytochrome P450 highly expressed in rat heart myocytes. *The Journal of Biological Chemistry*. **272**, 12551–12559.
- Xie, H. J., Yasar, U., Lundgren, S., Griskevicius, L., Terelius, Y. ve ark. (2003). Role of polymorphic human CYP2B6 in cyclophosphamide bioactivation. *Pharmacogenomics Journal*. **3**, 53–61.
- Xu, M. F., Tang, P. L., Qian, Z. M. ve Ashraf, M. (2001). Effects by doxorubicin on the myocardium are mediated by oxygen free radicals. *Life Science*. **68**, 889–901.
- Yamada, H., Kaneko, H., Takeuchi, K., Oguri, K. ve Yoshimura, H. (1992). Tissue-specific expression, induction, and inhibition through metabolic intermediate-complex formation of guinea pig cytochrome P450 belonging of the CYP2B subfamily. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. **299**, 248–254.

Yeh, Y. C., Lai, H. C., Ting, C. T., Lee, W. L., Wang, L. C. ve ark. (2007). Protection by doxycycline against doxorubicin-induced oxidative stress and apoptosis in mouse testes. *Biochemical Pharmacology*. **74**, 969–980.

Zeldin, D. C., Foley, J., Ma, J., Boyle, J. E, Pascual, J. M. ve ark. (1996). CYP2J subfamily P450s in the lung: expression, localization, and potential functional significance. *Molecular Pharmacology*. **50(5)**, 1111-1117.

Zhang, J., Knapton, A., Lipshultz, S. E., Cochran, T. R., Hilaragi, H. ve ark. (2014). Sex-related differences in mast cell activity and doxorubicin toxicity: a study in spontaneously hypertensive rats. *Toxicologic Pathology*. **42(2)**, 361-375.

Zhang, Y., El-Sikhry, H., Chaudhary, K. R., Batchu, S. N., Shayeganpour, A. ve ark. (2009). Overexpression of CYP2J2 provides protection against doxorubicin-induced cardiotoxicity. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*. **297**, H37–H46.

Zhou, S., Palmeira, C. M. ve Wallace, K. B. (2001). Doxorubicin-induced persistent oxidative stress to cardiac myocytes. *Toxicology Letters*. **121(3)**, 151-157.

Zhu, S. G., Kukreja, R. C., Das, A., Chen, Q., Lesnefsky, E. J. ve ark. (2011). Dietary nitrate supplementation protects against doxorubicin-induced cardiomyopathy by improving mitochondrial function. *Journal of the American College of Cardiology*. **57**, 2181–2189.

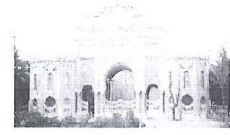
Zordoky, B. N. M. ve El-Kadi, A. O. S. (2007). H9c2 cell line is a valuable in vitro model to study the drug metabolizing enzymes in the heart. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. **56**, 317–22.

Zordoky, B. N., Anwar-Mohamed, A., Aboutabl, M. E. ve El-Kadi, A. O. (2010). Acute doxorubicin cardiotoxicity alters cardiac cytochrome P450 expression and arachidonic acid metabolism in rats. *Toxicology Applied Pharmacology*. **242(1)**, 38-46.

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 2012/167

29/11/2012

Sn: Prof. Dr. Zeliha YAZICI
İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi

Karar No :2012/ 167

Başvuru :19.11.2012

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, aşağıda çalışma materyali belirtilen, Doktora Öğrencisi Andleeb SHAHZADI' ye ait "Siprofloksasinin Sıçanlarda Doksorubisinin Farmakokinetiğine Etkisi: CYP1A1, CYP1A2, CYP2J2 Ve CYP3A4 Genlerinin Rolü" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Sıçan
	Cinsiyeti	Erkek
	Sayısı	80
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi		10.12.2012/10.12.2013

Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ
İ.Ü.HADYЕК Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALTIRIK
İ.Ü.HADYЕК Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Pınar YAMANTÜRK ÇELİK
Üye

Prof. Dr. Ufuk ÇAKATAY
Üye

Doç. Dr. Alper OKYAR
Üye

Yard. Doç. Dr. Altan ARMUTAK
Üye

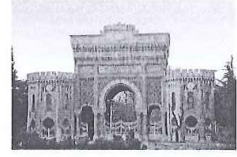
Uzm.Vet.Hek.Fatma TEKELİ
Üye

Mak.Yük.Müh. Yard.Doç.Dr.Burak OLGUN
Üye

Avukat Selma DEMİR
Üye



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 2014/20

03/04/2014

Sayın: Prof. Dr. Zeliha YAZICI
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

İLGİ: 25.03.2014 tarihli Dilekçeniz.

Kurulumuzca 29.11.2012 tarih ve 2012/167 no'lu Etik Kurul Onayı ile kabul edilen "Siprofloksasinin sıçanlarda doksorubisinin farmakokinetiğine etkisi: CYP1A1, CYP1A2, CYP2J2 ve CYP3A4 genlerinin rolü" başlıklı çalışmanıza yönelik olarak dilekçeniz değerlendirilmiş ve yukarıda bildirilen çalışmanın başlığının "Siprofloksasinin sıçanlarda doksorubisinin farmakokinetiğine etkisi: CYP1A1, CYP1A2, CYP2J3 ve CYP3A1 genlerinin rolü" olarak değiştirilmesi uygun bulunmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ
İÜ HADYЕК Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Andleeb	Soyadı	Shahzadi
Doğ.Yeri	Pakistan	Doğ.Tar.	05.11.1983
Uyruğu	Pakistan	TC Kim No	99895261054
Email	shahzadiandleeb@yahoo.com	Tel	+90 554 508 34 51

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora	İstanbul Üniversitesi Sağ. Bil. Enst, Tıbbi Farmakoloji	2014
Yük.Lis.	University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan, Dept. of Pharmacology & Physiology	2010
Lisans	Zahauddin Zakariya University, Eczacılık	2005
Lise	BISE, Faisalabad, Pakistan,	2000

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Erasmus Stajyeri	Worked as clinical scientist in Queen Mary University of London, William Harvey Research Institute	2011-2012
2.	Öğretim Görevlisi:	Faisalabad Üniversitesi (TUF) Pakistan Eczacılık Fakültesi	2009-2010
3.	Stajyer	Nuclear Institute for Agriculture and Biology	2006-2007

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	İyi	İyi	79	
Türkçe	Orta	Orta	Orta		C1

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Bahauddin Zakariya University, Multan, Pakistan (Computer Literacy Programme)	Çok İyi

MS-Word/Power Point, Excel	Çok İyi
Windows 2000, XP, ve 8	Çok İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Yayınları SCI

- **Shahzadi, A.**, I. J. Hasan, B. Aslam, F. Muhammad, M. R. Asi, M. Y. Ashraf and Zia-ur-Rehaman. 2010. Therapeutic effect of ciprofloxacin on the pharmacokinetics of carbamazepine in healthy male volunteers. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 24: No.1, January 2011, pp.63-68.
- Ijaz Javed, Imran Faisal, Zia-Ur-Rahman, Muhammad Zargham Khan, Faqir Muhammad, Bilal Aslam, Mahmood Ahmad and **Andleeb Shahzadi**. Lipid lowering effect of cinnamomum zeylanicum in hyperlipidaemic albino rabbits. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 25: No 1, January 2012, pp. 141-147.
- Ghulam Mustafa Kamal, Muhammad Yasin Ashraf, Abdullah Ijaz Hussain, **Andleeb Shahzadi** and Muhammad Ismail Chughtai. Antioxidant potential of peel essential oils of three pakistani citrus species: *citrus reticulata*, *citrus sinensis* and *citrus paradisi*. *Pak. J. Bot.*, 45(4): 1449-1454, 2013.
- Shazia Anwer Bukhari, Sadia Javed, Mohsin Farooq and **Andleeb Shahzadi**. 2014. Serum haematological and biochemical indices of oxidative stress and their relationship with DNA damage and homocysteine in Pakistani type II diabetic patients. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, INPRESS.

Kitaplar

Pharmacokinetic Interaction between Carbamazepine and Ciprofloxacin, ISBN: 978-38473-0593-4, Copyright © 2011 LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co. KG.

Ulusal ve Uluslararası Kongreler

- Annual Frontiers of Clinical Investigation Symposium: Metabolism, 2009 October 8-10, 2009 at the Hilton La Jolla Torrey Pines, La Jolla, CA.
- Trace Elements in the Environment: Contamination Cleanup to Phytoproducts. Istanbul University Faculty of Science, Vezneciler Istanbul, Turkey 11-17 June 2010.
- Pharmaco-Economics: Basic principles and evaluation of health states Symposium: Istanbul University Faculty of Medicine, Cerrahpasa Istanbul, Turkey 24 May 2013.
- Assessment of cardiac function and cardiotoxic effects of doxorubicin alone and along with ciprofloxacin in Sprague Dawley rats. 4-7 Nov-2013, **22. Ulusal Farmakoloji Kongresi**, Antalya, Istanbul.

Sertifikaları/Ödülleri

Tübitak BİDEB Doktora Bursu
Başarı Bursu Y.Lisans ve Lisans

Özel İlgi Alanları (Hobileri):