T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
RADYASYON ONKOLOJİSİ
ANABİLİM DALI

Tez Yöneticisi:
Doç. Dr. Vuslat YÜRÜT ÇALOĞLU

RATLARDA RADYOTERAPİYE BAĞLI GELİŞEN AKUT MESANE TOKSİSİTESİNDE AMİFOSTİN VE L-KARNİTİN ETKİNLİKLERİNİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK KARŞILAŞTIRILMASI

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Dilek NURLU

EDİRNE – 2011

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince mesleki bilgi ve deneyimimi arttırmamda bana önder olan değerli hocalarım; tez danışmanım Doç. Dr. Vuslat Yürüt Çaloğlu'na, Radyasyon Onkolojisi A.D. Başkanı Prof. Dr. M. Cem Uzal'a, Doç.Dr. Zafer Koçak'a, Doç. Dr. H. Murat Çaloğlu'na, Yrd. Doç. Dr. Ruşen Coşar'a, Yrd. Doç. Dr. Mert Saynak'a, Yrd. Doç. Dr. Kamuran İbiş'e; tezimin hazırlanmasında emeği geçen Üroloji A.D. Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Osman İnci, Yrd. Doç. Dr. Tevfik Aktöz'e, Patoloji A.D. Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ömer Yalçın'a, Medikal Fizikçi Mustafa Doğan'a, Vet. Hek. Ziya Çukur'a, çalışma ekibimize teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

GİRİŞ VE AMAÇ 1

GENEL BİLGİLER 3

- **MESANE ANATOMİSİ** 3
- **MESANE HİSTOLOJİSİ** 4
- **RADYASYONUN MESANE ÜZERİNE ETKİLERİ** 5
- **AMİFOSTİN** 10
- **KARNİTİN** 13

GEREÇ VE YÖNTEMLER 17

BULGULAR 19

TARTIŞMA 24

SONUÇLAR 32

ÖZET 34

SUMMARY 36

KAYNAKLAR 38

EKLER

SİMGE VE KISALTMALAR

ALC : Acetyl-L-Carnitine (Asetil-L-karnitin)

ALP : Alkaline Phoshatase (Alkalen Fosfataz)

ALT : Alanin Aminotransferaz

AMI : Amifostin

AST : Aspartat Aminotransferaz

cGy : Centi-Gray (Santi-Gray)

DNA : Dezoksiribonükleik asit

GGTP : Gama Glutamil Transpeptidaz

Gy : Gray

H^- : Hidroksil Radikali

H_2O_2 : Hidrojen Peroksit

İV : İntravenöz

İP : İntraperitoneal

İM : İntramüsküler

KAR : Karnitin

KT : Kemoterapi

LD : Letal Doz

O_2^- : Süperoksit Anyonu

OH^- : Hidroksil Radikali

OSR : Oksijen Serbest Radikalleri

PLC : Propionyl-L-Carnitine (Propionil-L-karnitin)

RNA **:** Ribonükleik asit

RT **:** Radyoterapi

SC **:** Subcutaneous (Subkutanöz)

SF **:** Serum Fizyolojik

SR **:** Serbest Radikal

TD **:** Tolerans Dozu

GİRİŞ VE AMAÇ

Pelvik tümörlerin tedavisinde, radyoterapi (RT) önemli bir yer tutmaktadır. Tüm kanserlerin %30'u pelvisten kaynaklanır veya önemli bir pelvik bileşeni vardır (1). Pelvik bölge tümörlerine erkeklerde daha sık rastlanır. 2009 yılı istatistiklerine bakıldığında erkeklerde %35 oranında (mesane, rektum, kolon ve prostat), kadınlarda ise %14 oranında (uterus, over, rektum ve vajen/vulva vb) yeni hastanın pelvik bölge kökenli tümör tanısı aldığı görülmektedir (2).

Radyoterapinin amacı, hedef volüme istenilen dozu homojen ve tam olarak verirken, çevre normal dokuların maksimum korunmasını sağlamaktır (3). Radyoterapi planlamasında normal dokular, mümkün olduğu kadar ışın alanı dışında bırakılarak korunmaya çalışılır. Normal dokularda RT'ye bağlı oluşan değişiklikler ışın tipine, RT parametrelerine (doz, fraksinasyon, toplam süre, ışınlama tekniği vb.), ışınlanan normal doku hacmine, doku ve hücre özelliklerine, radyoduyarlaştırıcı ve radyoprotektör ajanların veya kemoterapötik ilaçların RT ile beraber kullanılıp kullanılmaması gibi bir çok faktöre bağlıdır (4). Modern RT teknikleri (üç boyutlu konformal RT, yoğunluk ayarlı RT vb.) normal dokuları mümkün olduğunca korumaya olanak sağlamaktadır. Birçok tümörün tedavisinde belli oranda normal dokunun hedef volümün içerisinde yer alması kaçınılmazdır. Radyoterapi alanı içerisinde kalan normal dokuları, tümör kontrolünü azaltmadan radyasyon etkilerinden korumayı amaçlayan ilaçlar, 'radyoprotektör ajanlar' olarak tanımlanır (5).

Radyoprotektörlerin en iyi bilinen grubu sülfidril (SH) bileşikleridir. Sülfidril bileşiklerinin koruyucu etkisi, içerdikleri SH gruplarının, serbest radikalleri (SR) yakalama özellikleri tarafından sağlanmaktadır (6).

Amifostin, hücre içinde vasküler endotelyal hücrelerin alkalen fosfatazı (ALP) ile fosforile edilerek, aktif metaboliti olan serbest tiyole dönüşen bir ön ilaçtır. Serbest tiyol, radyasyonun meydana getirdiği oksijen serbest radikallerini (OSR) bağlayarak etki eder. Amifostinin, RT ve kemoterapiye (KT) bağlı normal doku hasarının önlenmesinde etkili olduğu ve tedavinin doz sınırlayıcı toksik etkilerini azalttığı çalışmalar ile gösterilmiştir (7,8).

Karnitin, yağ asitlerinin beta oksidasyonunda, mitokondri membranına taşınmasında, ve açil-CoA ve açilkarnitin gibi toksik metabolitlerin mitokondri dışına çıkarılmasında taşıyıcı olan doğal bir maddedir (9). Karnitin ve onun kısa zincir esterleri olan propiyonil-L-karnitin (PLC) ve açil-L-karnitin (ALC), hem insan vücudunda endojen olarak sentezlenirler hem de diyette bulunurlar (10). Karnitin, uzun zincirli yağ asitlerinin transformasyonunda gerekli bazı enzimlerin asıl faktörüdür ve OSR'yi temizleyici görev görür (11). Karnitin, antioksidan ve OSR temizleyici özelliği ile hücrelerde iyonizan radyasyona bağlı oluşabilecek OSR'a karşı modülatör rol oynayabilir (12).

Bu çalışmada, RT'ye bağlı mesanede meydana gelen akut hasarı önlemede sitoprotektif bir ajan olduğu bilinen amifostin ve karnitin'in etkinliğinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

MESANE ANATOMİSİ

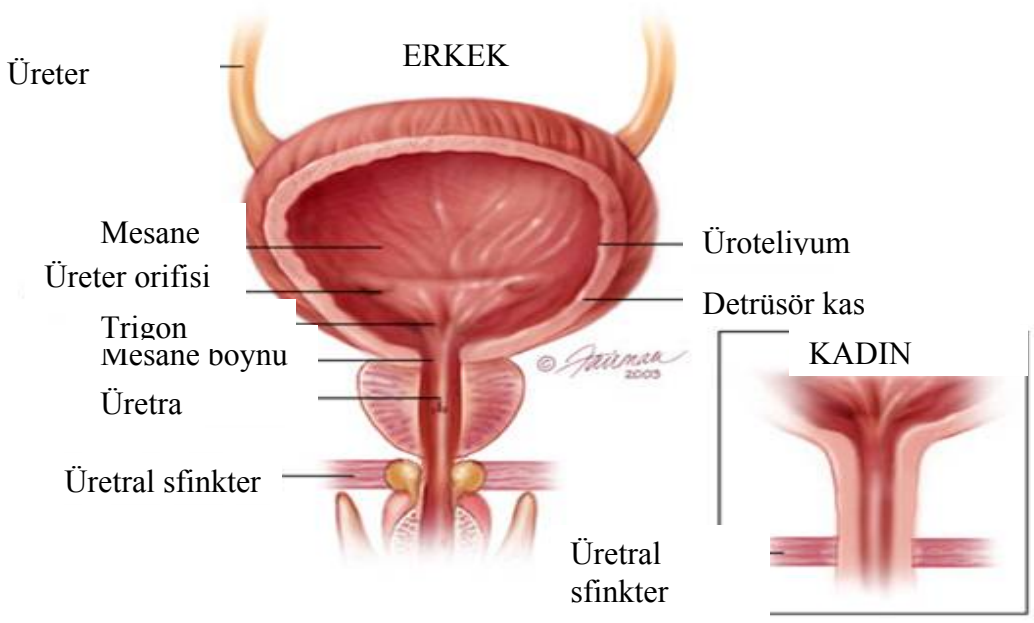
Mesane, idrar için depolama ve boşaltma görevi gören, içi boş, pelvik yerleşimli müsküler bir organdır. Yetişkinlerde kapasitesi yaklaşık 350-500 cc kadar olan ovoid bir organdır. Üç orifisi vardır. Bunlardan birisi üretra, diğer ikisi de üreterlerin açıldığı orifislerdir. Üç orifisin arasındaki bölgeye 'trigon' adı verilir (Şekil 1). Boş bir mesanede bir apex, bir süperior yüz, iki anterolateral yüz, bir taban, bir arka yüz ve bir de boyun bulunur. Mesane tabanı kadınlarda, vajen ön duvarı ve uterusla, erkeklerde ise rektumla komşudur.

Periton, mesanenin sadece ön-üst yüz, apex ve arka üst-yan yüzlerini örter. Mesanenin peritonla örtülü olmayan alt yan yüzleri, *symphysis pubisle* komşudur ve pubis ile aralarında 'retzius mesafesi' denilen bir aralık vardır. Bu aralıkta gevşek, areolar bağ dokusu ve santorini ven pleksusu bulunur. Yanlarda internal obturator ve levator ani kasları ile komşudur.

Arterleri, bilateral olarak, *arteria iliaca interna'*nın dalları olan, *arteria vesicalis süperior* ve *arteria vesikalis inferior*'dur. Venleri yüzeyel pleksuslar yaparak önde Santorini, yanlarda vesiko-vajinalis, arkada utero-vajinal pleksus'lara açılırlar. Bunlarda *vena iliaca interna*'ya dökülürler.

Lenfatikleri, eksternal iliak, internal iliak ve boynundan çıkanlar ise kommon iliak ve sakral lenf bezlerine açılır.

Mesanenin sinirleri ise otonom sinirlerden oluşan *plexus vesicalis*'ten gelir (13,14).



Şekil 1. Mesane anatomisi (14)

MESANE HİSTOLOJİSİ

Mesane histolojik olarak mukoza ve submukoza, musküler tabaka ve adventisiya olarak 3 tabakadan oluşur (Şekil 2).

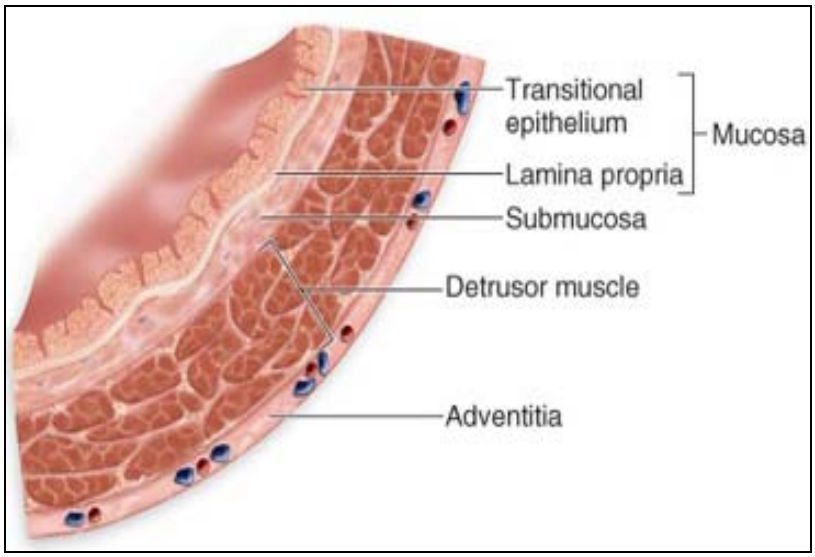
Mesane, epiteli bazal membranın üzerine oturmuş, üç-yedi katlı değişici epitel hücrelerinden oluşur. Yüzeyel tabakada, tek sıralı sitoplazmik veziküller içeren hekzagonal umbrella hücreleri bulunur. Bu tabaka sulfatlanmış polisakkaritler (glikozaminoglikan) ile kaplıdır (14,15).

Orta tabaka, kuboidal, alçak kolumnar, geniş oval sitoplazmalı hücrelerden meydana gelir. Bazal tabaka, düzenli bir bazal lamina üzerinde ve ona yapışık olarak bulunan tek sıralı kuboidal hücrelerden oluşmaktadır (16).

Lamina propria, mukozal bazal membran ile *muskularis propria* arasında uzanan ganglion hücresi ve damardan zengin yoğun fibroelastik bağ dokusundan oluşan bir tabakadır. *Muskularis propria*, yüzeyel ve derin olmak üzere iki tabakadan oluşmaktadır. *Muskularis propria,* yağ ve periton tarafından çevrilidir.

Muskuler tabaka, detrüsör, trigon ve sfinkterden meydana gelir. Kas yapısı (detrüsör) oldukça kalın olup iç ve dışta longitudinal, ortada sirküler uzanan düz kas liflerinden oluşmuştur. Düz kastan oluşan ve istemli olarak uyarılabilen tek organ mesanedir.

Adventisia, en dış tabakasını örten yüzeyel gevşek bağ dokusu ve peritona ait mezotelden oluşur. İçinde kan damarları, küçük sinirler ve çok küçük gangliyonlar bulunur (17).



Şekil 2. Mesane Histolojisi (14)

RADYASYONUN MESANE ÜZERİNE ETKİLERİ

Mesanede oluşan radyasyon hasarı akut veya kronik olabilir. Hastalarda akut dönemde; geçici sistit bulguları, geç dönemde ise asemptomatik hematüriden, makroskobik hematüri, mesane kontraksiyonu, inkontinans, fistül oluşumu veya nekroza değin uzanan geniş bir komplikasyon yelpazesi görülebilir. Mesanede oluşan akut hasar, idrar kapasitesinin azalmasına bağlı sık idrara çıkma ve idrar yapma güçlüğü şeklinde ortaya çıkar. Bununla birlikte mesanede kanama, ödem, epitel hücrelerinin dejenerasyonu, kılcal damarların ve bağ dokusunun hasarlanması meydana gelebilir (1).

Radyasyonun meydana getirdiği biyolojik etkilerden iki mekanizma sorumlu tutulmaktadır. Bunlar, direkt ve indirekt etkiler şeklinde iki grup altında toplanabilir (6,18).

Direkt Etki

İyonizan radyasyonun, direkt olarak, DNA moleküllerini etkilemesiyle meydana gelir. Hedef atomda, radyasyon etkisiyle iyonizasyon meydana gelir ve biyolojik hasara sebep olan bir dizi reaksiyon başlar. Radyasyon, geçtiği yol boyunca bağ kırılmasına neden olarak direkt etki gösterir. İyonizan radyasyonların etkisi ile DNA'da oluşan hasar üç tiptir;

1. Subletal hasar: Tek başına ölümcül değildir ve tamir edilebilir. Subletal hasarların tamir edilemeyecek düzeyde olduğunda hücre ölümüne neden olabilir. Hasar DNA' da tek zincir kırığı olarak görülür.
2. Potansiyel letal hasar: Radyasyona maruziyet sonrası hücre ortamındaki çevresel değişikliklere bağlı olarak tamir edilebilir hasarlardır. Normal koşullarda bu tip hasar mitoza gitmekte olan hücre için öldürücü olabilirken, radyasyona maruz kalmış hücrede hasar tamir edilebilmektedir. Hasar DNA' da tek zincir kırığı olarak görülür.
3. Letal hasar: Hasar tamir edilemediği için hücrenin yaşamsal fonksiyonları etkilenir ve apoptotik hücre ölümüne yol açar. Hasar DNA' da çift sarmal kırığı olarak görülür.

İndirekt Etki

Radyasyon, canlı dokuda yoğun olarak bulunan su moleküleriyle etkileşerek SR oluşmasına neden olur.

Serbest radikaller, iyonizan radyasyon neticesi meydana gelen iyonların veya uyarılmış atomların biyolojik ortamdaki diğer atom ve moleküllerle kimyasal reaksiyona girmesi sonucu oluşurlar. Serbest radikaller dış yörüngelerinde eşleşmemiş bir elektrona sahip ve genellikle elektriksel açıdan yüksüz atom ya da moleküllerdir. Yaklaşık 10^{-5} saniye gibi bir ömürleri vardır. Serbest radikaller son derece reaktiftirler, yani diğer atom ya da moleküller ile kolayca reaksiyona girerler. Eşleşmemiş elektronun bir başka radikalin aynı durumundaki elektronu ile eşleşerek ya da bir elektron transferi reaksiyonu yaparak kararlı hale gelme eğilimi vardır. Bu sebeple, SR'ler elektron alıcı (oksitleyici) ya da elektron verici (redükleyici) özelliklere sahiptirler (6). Oluşan SR'ler, hücre içindeki önemli moleküllerle reaksiyona girerek onların yapısını ve fonksiyonunu bozarak indirekt etkiye neden olurlar. Radyasyonun reaksiyona girdiği molekül tamamen rastlantısaldır, herhangi bir karbonhidrat, lipit, protein, enzim veya DNA ya da RNA gibi bir nükleik asit olabilir. Radyasyon için asıl kritik hedefler, hücre zarı yapısında bulunan kompleks yapıdaki lipitler, metabolik olarak önemli enzimler ve nükleik asitlerdir. Bunların hasara uğraması ve fonksiyonlarının bozulması, hücrenin normal fonksiyonunu yitirmesine ve ölümüne yol açar (18).

Canlılar %70-90 oranında H_2O içerdiği için ışınlandıklarında, radyasyon enerjisinin büyük oranda H_2O molekülleri tarafından absorblanması olasılığı çok yüksektir. Radyasyon etkisi ile H_2O molekülleri iyonlaşır ya da uyarılırlar. İyonlaşma ile pozitif yüklü bir iyon

(H_2O^+) ve hızlı bir serbest elektron (e^-) oluşur. Bu olayı izleyen çeşitli reaksiyonlar ile değişik tipte SR'ler meydana gelir. Serbest elektron birçok sekonder iyonlaşma olayına yol açarak enerjisini kaybeder ve ortamda su molekülleri ile sarılarak hidrat elektron (e^-_{aq}) haline geçer. Pozitif yüklü iyon ise, bir hidrojen iyonu (H^+) ile bir hidroksil radikali ($OH^\cdot$) oluşturacak şekilde ayrılır. Bu olaylarla birlikte bir hidrojen radikali ($H^\cdot$) de meydana gelir:

$$H_2O \rightarrow H_2O^+ + e^-$$
$$e^- \rightarrow e^-_{aq}$$
$$H_2O^+ \rightarrow H^+ + OH^\cdot$$
$$e^-_{aq} + H^+ \rightarrow H^\cdot$$

Hidroksil radikali ve $H^\bullet$ radikalleri sadece suyun iyonlaşması ile gerçekleşen bu reaksiyonlar sonucu oluşmazlar. Aynı zamanda su moleküllerinin uyarılması ve uyarılmış molekülün ayrılması ile de meydana gelebilirler. Oluşan bu radikaller çok reaktiftirler. Aralarında radikal–radikal reaksiyonlar gelişebilir (19):

$$H^\cdot + H^\cdot \rightarrow H_2$$
$$OH^\cdot + OH^\cdot \rightarrow H_2O_2$$
$$H^\cdot + OH^\cdot \rightarrow H_2O$$

Kanser tedavisinde eksternal RT için kullanılan X, γ ve elektron ışınları gibi düşük lineer enerji transferi yapan radyasyonların etkisi daha çok indirekt yolla, yüksek enerji transferli olan α partikülleri gibi ağır partikül radyasyonlarının etkisi ise; daha çok direkt yolla meydana gelir. İndirekt etkide, O_2 molekülünün elektron verici özelliğinden dolayı, ortamdaki hemoglobin düzeyi ve O_2 konsantrasyonu önem taşımaktadır. Bu iki parametre iyonlaşmayı ve SR oluşumunu, dolayısı ile radyasyonun biyolojik etkisini etkilemektedir. Ağır partiküller ise 'direkt yolla' reaksiyona neden olduğundan ortamdaki O_2 konsantrasyonundan bağımsız olarak etkilerini gösterirler (6).

Radyasyonun neden olduğu akut yan etkiler genellikle tedavi sırasında başlar, RT bittikten sonra birkaç hafta daha devam eder. Özellikle hızlı bölünen ve çoğalan hücrelerin bulunduğu doku ve organlarda akut yan etkiler daha sık ve şiddetli olarak görülmektedir.

Barsak ve ürogenital sistemleri örten epitel hücreleri mitotik olarak çok aktiftir. Radyasyonun akut yan etkilerinin şiddeti ve sıklığını hücrelerin radyoduyarlılığı, tedavi tekniği, toplam radyasyon dozu, fraksinasyon özellikleri ve tedavi sahasının genişliği belirlemektedir (20).

Mesaneye ve üreterlere 20-35 Gy doz alan hastalarda 'radyasyon sistitin' semptomları olan azalmış mesane kompliansına bağlı idrar sıklığında artma ve dizüri gelişebilir. Mesane dozu toplamda 50 Gy veya altında ve fraksiyon dozu 2 Gy veya altında ise, semptomlara neden olan mukozal ve submukozal ödem ve eritem hafiftir, geçicidir ve genellikle maruziyetten sonraki 3 ay içinde iyileşir. Özellikle mesane dozu 50 Gy-60 Gy arasında ya da fraksiyon dozu 2 Gy'nin üstünde ise 5 yıl içinde hastaların %2-%5'inde geç dönem mesane ve üreter lezyonları gelişebilir. Mesane dozu 60-70 Gy ise, hasar daha ciddidir ve 5 yılda %50'ye varan insidansla daha sıktır (21).

Erken dönem lezyonların patogenezi, radyasyonun ürotelyal hücreler üzerine direkt etkisinden kaynaklanır. Mikrovasküler hasar, mesane duvarının bütün katmanlarında oluşur ve ödem gelişmesine sebep olur. Hastalarda, 'ani sıkışma' semptomu şeklinde kendini gösterir. Mukoza ve lamina propriada ödem mevcuttur ve hatta submukozal ödem gelişebilir; ödem alanlarında hafif ile orta dereceli akut ile subakut enflamasyon gelişebilir (21).

Hueper ve ark. (22)'nın yaptığı çalışmada submukoza ödemi ve kapiller konjesyon sonrasında epitelde dejenerasyon meydana geldiğini göstermiştir. Bu aşamalardan sonra epitel desquamasyonu oluşabilir, sonuçta üzeri fibrin ve lökosit kaplı yüzeyel ülserasyon oluşabilir. Dilate kapiller etrafında, perivaskuler infiltrasyon ve submukozal hemoraji de sıklıkla eşlik eder. Erken dönem değişikliklerin çoğu RT bittikten sonra kaybolmaktadır.

Geç etkiler, RT'nin tamamlanmasından aylar sonra ortaya çıkar. Akut etkilerin uzantısı olarak görülmemelidir. Geç etkilere neden olan hücreler birbirinden farklıdır. Geç etkiler, temelde yavaş çoğalan hücrelerin kaybı ve bunların yerini dolduran fibrotik dokular ile karekterizedir, erken etkilerin aksine, çoğunlukla geri dönememekte ve radyasyonun kalıcı etkilerini oluşturmaktadırlar (20). Erken değişiklikler, daha çok hücre zedelenmesi düzeyinde olurken, sonra meydana gelen değişiklikler daha çok bağ dokusunun ve mesanenin submukozasında bulunan kan damarların hasarı sonucu oluşur. Geç dönemde dokularda meydana gelen değişiklikler üç grupta incelenebilir (23).

1- Epitelyal ve parankimal değişiklikler

a) Atrofi
b) İskemik nekroz
c) Metaplazi
d) Atipi
e) Displazi
f) Neoplazi

2- Stromal değişiklikler

a) Fibrozis
b) Atipik fibroblastlar
c) Fibrinöz eksuda
d) Nekroz

3- Vasküler değişiklikler

Kapillerler ve sinuzoidlerin esasını endotel oluşturduğu için en radyosensitif vasküler yapılardır. Damarlarda hyalen dejenerasyonu meydana gelir.

Mesanede radyasyona bağlı meydana gelişen toksisitenin tedavisi semptom ve bulgulara bağlıdır. Bu nedenle gerek hekim, gerekse hasta tarafından farklı şiddette değerlendirilmesi mümkündür. Mesane toksisitesini değerlendirmek için birbirine çok yakın özellikler taşıyan birden çok değerlendirme sistemi kullanılmaktadır. Bu nedenle çalışmaları birbirleriyle kıyaslamak da oldukça zorlaşmaktadır (Late Effect of Normal Tissues-Subjective, Objective, Manegement and Analytic system LENT-SOMA, Common Terminology Criteria for Advers Events CTCAE) (24). Aşağıda mesane toksistesini değerlendirmek için bizim kliniğimizde de kullanılan Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) skorlama sistemi sunulmuştur (Tablo 1) (25).

Tablo 1. Radiation therapy oncology group pelvik radyoterapi sonrası görülen akut ve kronik yan etki (25)

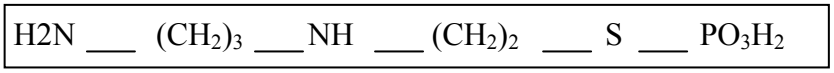
Grade	RTOG Akut	RTOG Kronik
0	-	-
1	-	Hafif epitelyal atrofi, mikroskopik hematüri
2	Sık idrara çıkma veya gece 4 den az idrara çıkma, lokal anastezikle geçen mesane spazmı	Sık idrara çıkma, generalize telenjektazi, aralıklı makroskopik hematüri
3	Gece 4 den fazla idrara çıkma, dizüri, pelvik ağrı, narkotikle geçen mesane spazmı, hematüri veya pıhtılı pasaj	sık idrara çıkma ve dizüri, şiddetli generalize telenjektazi, sık hematüri, mesane kapasitesinin azalması(<150cc)
4	Transfüzyon gerektiren hematüri, akut mesane obstruksiyonu, ülserasyon ve nekroz.	Nekroz, mesane kapasitesinin küçülmesi(<1000cc), şiddetli hemarojik sistit
5	ölüm	

RTOG: Radiation therapy oncology group.

AMİFOSTİN

Amifostin, organik tiyofosfat olan sisteamin analoğu bir ön ilaçtır. ABD ordusuna bağlı Walter Reed Ordu Araştırma Enstitüsü tarafından nükleer silah kaynaklı radyasyondan korumak amacını taşıyan çalışmaların ürünüdür. Bu program tarafından geliştirilen ve tiyol içeren bileşikler Walter Reed'in kısaltılmasıyla "WR" ön eki ile tanımlanmışlardır. WR-2721 amifostin olarak bilinmektedir. Formül yapısı Şekil 3'de gösterilmiştir. Yapısındaki fosfor, amifostini inaktif formda tutarken, sülfür SR temizleyici özellik kazandırır. Amifostin, plazma membranında alkalen fosfataz (ALP) sayesinde defosforilasyona uğrayarak aktif formu olan WR-1065 formuna dönüşür. Aktif ve en önemli metaboliti olan WR-1065 inorganik bir fosfat olup hücre içine girdikten sonra, yine SR temizleyici özelliği olan metabolitlerine

dönüşmektedir. WR-1065'in oksidasyonu ile en fazla oluşan metabolit WR-33278 (simetrik disülfid) olup, az miktarda mikst disülfidler de oluşmaktadır (26).



Şekil 3. Amifostinin kimyasal yapısı (26)

Hayvan deneyleri ve insan çalışmaları göstermiştir ki ALP, pH 7 üzerinde aktif olduğunu göstermistir. Alkalen fosfataz çeşitli doku arteriol endotel hücrelerinde, böbrek proksimal tübülüs hücrelerinde ve ince bağırsak mikrovilluslarında bolca miktarda bulunur. Alkalen fosfataz aracılı aktif transport çok hızlı gerçekleşir. Bunun nedeni, amifostinin plazma proteinlerine bağlanmaması ve metabolizmasının büyük oranda ALP aracılı aktif transporta uğramasıdır (26). Tümörler göreceli olarak hipovaskülerdir ve hipoksik bir ortama ve düşük interstisyel pH'a sahiptirler. Ayrıca malign dokularda ALP ekspresyonu azaldığı bilinmektedir. Ortaya çıkan bu kombinasyon tümör hücrelerinde aktif ilaç akümülasyonu düşük olmasını sağlamaktadır. Bu nedenle amifostin normal dokuları tümör dokularına kıyasla, hücre içi serbest tiyol konsantrasyonu farklılığı sayesinde, 100 kat kadar daha fazla koruyabilmektedir (27).

Faz II çalışmalar ile amifostinin tolerabl doz aralığı 740-910 mg/m^2 olarak belirlenmiştir. Amifostin oral kullanıldığında aktif değildir. 15 dakikalık intravenöz (İV) infüzyon sonrası ortalama maksimum plazma konsantrasyonu 0,1-0,235 mmol/L'dir. İlacın dağılım hacmi 6,44 L, plazma klirensi 2,17 dakikadır (28).

Farmokokinetik çalışmalar, hastalarda amifostinin plazma kompartmanından hızla temizlendiğini göstermiştir. İnsanlarda İV yoldan verilmesini ardından ilk 6 dakikada amifostinin yaklaşık %90'ı metabolize olur. Yapılan çalışmalarda amifostinin α yarı ömrü (dağılım yarı ömrü) <1 dakika; β yarı ömrü (eliminasyon yarı ömrü) = 8.8 dakika olarak saptanmıştır. WR-1065 metaboliti enjeksiyondan 10-30 dakika sonra pik düzeyine ulaşır (13). Bu nedenle, normal dokuların sitoproteksiyonunda optimum yarar sağlanabilmesi için RT ya da KT uygulamasından 20-30 dakika önce amifostin uygulanması gerektiği belirlenmiştir (29).

Serbest tiyol olan WR-1065'in normal hücreyi sitotoksik tedavilerin etkilerinden koruması çeşitli mekanizmalar ile açıklanmıştır. Serbest tiyol, intrasellüler ortamda direkt olarak alkilleyici ajanların veya sisplatinin aktif ürününe bağlandığı gibi, hasarlı hedef moleküllere de H^+ vererek hücresel koruma sağlar. Yapısındaki SH atomu sayesinde, KT

ajanları ve RT tarafından oluşturulan SR'ler ortadan kaldırılmadığında meydana gelen ve DNA hasarına yol açan, reaktif nükleofilleri yok eder (26,30).

Amerikan klinik onkoloji derneği rehberleri, sitoprotektif ajan olarak amifostinin günlük 200 mg/m^2 dozda İV yavaş olarak en az 3 dakikada, her RT fraksiyonundan 15-30 dakika önce verilmesini önermektedir. Bu düşük dozda yan etkilerin görülme riski de azaltılmış olmaktadır. Bununla birlikte amifostin uygulaması yakın hasta takibini gerektirmektedir. Birçok hasta antiemetik ihtiyacı duymaktadır. Belirtilen dozlarda amifostin ile ilişkili hipotansiyon nadiren görülmekle birlikte yakın takip gerekmektedir. Amifostin uygulanmasından önce ve infüzyondan hemen sonra kan basıncının ölçülmesi gerekir (31).

Amifostin genellikle iyi tolere edilmektedir. Bunun yanında doz ile ilişkili geçici yan etkiler (hipotansiyon, bulantı, kusma, hıçkırık, somnolans, infüzyon sırasında metalik tat hissi ve döküntü, ateş ve anafilaktik şok gibi alerjik reaksiyonlar) görülmektedir (30). Klinik olarak anlamlı yan etki çoğunlukla hipotansiyondur. Hastaların %60'ında geçici hipotansiyon oluşmaktadır, fakat tedaviye ara verilecek şiddette hipotansiyon oluşturması nadirdir (<%5). Bulantı amifostin uygulanmasından önce kullanılacak güçlü bir antiemetik rejimi ile azaltılabilmektedir. Paratiroit hormon salgılanmasının inhibisyonu ile ortaya çıkan geçici hipokalsemiler de bildirilmiştir Klinik olarak anlamlı bir hipokalsemi tek doz amifostin uygulamasını takiben yaygın değildir. Ancak günlük RT ile birlikte birden çok uygulamanın yapıldığı hastalarda periyodik kalsiyum düzeyi izlenmelidir (31). Amifostinin subkutanöz (SC) uygulanması ile ilgili yapılan çalışmalar İV uygulamadan daha az sıklıkta hipotansiyon, bulantı kusma olduğunu göstermiştir (32). Bununla beraber amifostinin SC uygulanmasının İV uygulamaya göre daha fazla oranda ateş ve cilt reaksiyonları ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Amifostin tiyol bileşiklerine ya da mannitole karşı hipersensitivitesi olduğu bilinen kişilerde kontrendikedir (33,34).

Amifostin SR temizleyici, hidrojen verici ve DNA hasarını inhibe edici özellikleri ile radyasyona karşı koruyucu ve KT'ye bağlı hücresel hasarı önleyici bir ajandır. Amifostin tümör hücrelerinden çok normal hücrelerde metabolize olmaktadır. Kanser tedavisinde antitümöral etkinliği düşürmeksizin, normal dokulardaki toksisiteyi azaltarak koruyucu etki göstermektedir. Preklinik çalışmalar amifostinin radyasyon hasarından koruyucu etkisinin yanında, alkilleyiciler ve platin türevleri gibi KT ajanlarının myelotoksik, nefrotoksik, nörotoksik etkileri üzerine koruyucu özelliği olduğunu göstermiştir. Amifostin KT'ye bağlı mutajen ve karsinojen etkiden de koruyucudur (35). Amifostin onkolojik tedavilerde güvenli ve etkin bir şekilde kullanılmaktadır. Sitoprotektif ajan olan amifostin, sisplatin uygulanan

ileri evre over kanserli ve küçük hücreli dışı akciğer kanserli hastalarda sisplatinin oluşturduğu kümülatif renal toksisiteyi azalttığı için, 1996 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde gıda ve ilaç dairesi tarafından onaylanmıştır (25).

Amifostin tarafından korunduğu bilinen normal dokular böbrek, akciğer, yemek borusu, periferik sinirler, kemik iliği, ince bağırsak, kalın bağırsak, immün sistem, tükrük bezleri, ağız mukozası, kalp ve testistir (26). Ayrıca pelvik kanserli hastalarda RT sırasında amifostin kullanılmasının, mesane ve alt GIS toksisitesinden koruduğu gösterilmiştir(36) .

KARNİTİN

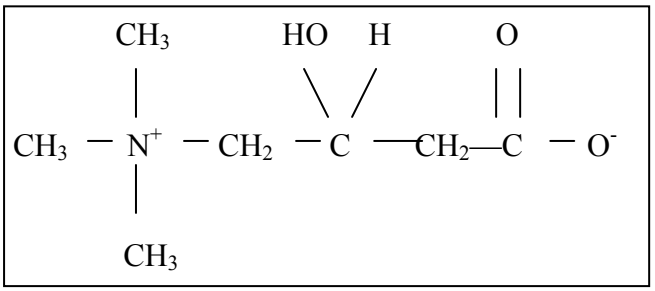
İlk olarak 1905 yılında Frankell tarafından karnitinin biyolojik tayini için yöntem geliştirilmiş ve kas dokusundan elde edildiğinden latince "carnis" kelimesinden yola çıkılarak karnitin adı verilmiştir. 1960'lı yıllarda biyolojik yapısı tam olarak aydınlatılmış ve "3-hydroxy-4-N-trimethyl ammonia butaonate" olduğu gösterilmiştir. Karnitinin fizyolojik formu L(-) izomeri yani levokarnitindir (37). "Propionyl-L-carnitin" PLC ve "acetyl-L-carnitin" ALC, karnitinin kısa zincirli esterleridir (38). Karnitinin kimyasal yapısı Şekil 4'de gösterilmiştir.

Karnitin vitamin benzeri bir maddedir ve yapısal olarak aminoasitlere benzemektedir. Karnitinin yaklaşık olarak %75'i besinlerden, %25'i endojen olarak sentezlenir (39). Diyetteki başlıca kaynakları et ve süt ürünleridir. İnvivo olarak lizin ve metiyonin esansiyel aminoasitlerinden sentezlenir. Ancak dokulardaki konsantrasyonu besinle alınan miktara bağlı olarak değişir. İnsanlarda birçok doku trimetil lizini gama bütüro betaine dönüştürebilir. Ancak karnitinin sentezinin tamamlanması için gerekli olan bütürobetainin en son hidroksilasyonu öncelikle karaciğerde gerçekleşir (40). Böbrek ve beyin de karnitin sentezine katılırlar ama kritik olarak, yağ asidi kullanılması için karnitine ihtiyaç duyan kalp ve iskelet kasları bu molekülü sentezleyemezler (41,42). Kastaki seviyesi, taşıyıcıya bağımlı sistemle karnitinin kan akımından çekilmesi ile korunur (41).

Sağlıklı bireylerdeki plazmadaki serbest karnitin düzeyi 40-50 μmol/L'dir. Toplam vücut karnitinin %90'ından fazlası iskelet kasında tutulur. Kalan kısımları ise karaciğer, böbrek ve kalp gibi organlardadır. %1'den azı da plazma ve eritrositlerde bulunur (43). Normal plazma konsantrasyonunda, filtre edilen karnitinin %90'dan fazlası böbrek tarafından reabsorbe edilir. Anlamlı metabolik yıkıma uğramaz (39).

İntrasellüler önemli fonksiyonları şunlardır:

1. Uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondri membranından içeri tarnsferini gerçekleştirerek mitokondrial yağ asidi oksidasyonunda kofaktör olarak yer alır.
2. Dallı-zincirli α-keto asit oksidasyonunu kolaylaştırır.
3. Karaciğerde, ß-oksidasyon ile kısa zincirli hale gelmiş açil kısmının peroksizomların dışına çıkarılmasını sağlar.
4. Memeli hücrelerinde, açil-CoA/CoA sülfidril oranını ayarlar.
5. Akut metabolik kriz sırasındaki esterifikasyon nedeniyle büyük miktarda artabilen ve potansiyel toksik olan açil-CoA metabolitlerini yakalar (40).



Şekil 4. Karnitinin kimyasal yapısı (38)

Karnitin karbonhidrat, glukoz ve lipid metabolizmasında rol alan bir amin bileşiğidir. Uzun zincirli yağ asitlerinin dokularda enerji substratı olarak kullanılabilmesi için gereklidir. Yağ asidi, iskelet ve kalp adalesi gibi bir çok sistem için primer enerji kaynağıdır ve karnitin yağ asitlerinin mitokondrial membran içine girişini kolaylaştırarak enerji temininde önemli rol oynar. Enerji üretiminde çok etkili metabolik yol olan β oksidasyonda rol alan karnitin, özellikle yüksek enerji ihtiyacı olan dokular için önemlidir. Hücre membran stabilizasyonunda, kas kontraktibilitesinde ve kalp fonksiyonlarında etkilidir (44,45). Ayrıca OSR'lerın temizlenmesinde görev alır (38). Serbest radikalleri yakalama özelliğinden dolayı aynı zamanda antioksidan olarak etki eden karnitinin vejeteryan tarzı beslenme ile eksikliği görülebilir (12). Karnitin seviyesi yaş ile azalır ve eksikliğinde örneğin kardiyomiyopati ve iskelet kas zayıflığı görülebilir (46). Karnitin ve esterleri doğal maddelerdir ve oral uygulama ile de iyi tolere edilebilirler. Karnitinin ilaç formunda oral olarak 1-6 gr'lık dozlarda alınmasından sonra biyoyararlanımı %5-18'dir. Buna karşın besinlerle alınan düşük miktarlardaki karnitinin biyoyararlanımı %75 gibi oldukça yüksek düzeydedir. İV uygulamadan sonra, ilk dağılım volümü yaklaşık olarak 0.2-0.3 L/kg'dır. Karnitin esas olarak renal yoldan atılır (47,48).

İnsanlarda yüksek dozda karnitin alımına bağlı toksisite bildirilmemiştir. Hayvanlarda ise letal doz (LD 50) 19.2 g/kg'dır. Doz çalışmaları ile bir seferde 2 g'dan fazla verilmesinin kan konsantrasyonunu değiştirmediği gösterilmiştir. Karnitin ile yapılan proteksiyon amaçlı çalışmalarda, 100-300 mg/kg/gün doz aralığı kullanılmıştır (49,50). Karnitin ve esterlerinin bir çok farmakolojik etkilerinin yanında terapötik yararları da gösterilmiştir. Örneğin SR'leri temizleme özellikleri sayesinde, ATP yapımında artış ve mitokondriyal fonksiyonlarda düzelme yaptıkları gözlenmiştir (38). ALC, ülser oluşumunda alkolün etkisine karşı koruyucu etkiye sahip olduğu gibi, paklitaksel ve sisplatin KT'si ile oluşan nörotoksisiteye karşı koruyucu etkiye sahiptir (51).

Uzun süreli diyaliz uygulamalarından sonra plazma ve doku karnitin düzeylerinin anlamlı ölçüde azaldığı bilinmektedir. Bunun nedeninin karnitinin diyalizle uzaklaştırılması olduğu gösterilmiştir. Gerçekten de hemodiyalizden hemen sonra plazma karnitin düzeyi %75 civarında azalmaktadır. Bu azalma öncelikle karaciğerden, az miktarda ise kaslardan geçiş ile kompanse edilir. Karnitinin kaslardan plazmaya geçişi oldukça yavaş olmasına rağmen, karaciğerden damar içine geçişi daha kolaydır. Bu nedenlerle plazma karnitin seviyeleri doku düzeylerini yansıtmaktan uzaktır (52). Yapılan bir çalışmada, hemodiyalize başladıktan 1 ay sonra plazma karnitinin normal seviyenin %30'u düzeyine indiği, 1 yıl sonra ise yine normalin %40 altına indiği gösterilmiştir (53). Hemodiyaliz hastalarında karnitinin İV verilmesinin diyaliz sırasında hipotansiyonu azalttığı, miyokardı koruduğu, anemi oluşumunu engellediği, kas gücü ve egzersiz kapasitesini olumlu etkilediği bildirilmektedir (54). Karnitinin üroloji literatüründe, özellikle sperm hareketliliğini arttırması ile ilgili olarak infertilitede kullanımı bildirilmiş olup, libidoyu arttırdığı, cinsel disfonksiyonlarda düzelme sağladığı ve testosteron düzeyini de arttırabileceği belirtilmektedir. Ancak karnitinin testosteron düzeyine etkisi olmadığını belirten çalışmalar da mevcuttur (55).

Radyasyon sırasında vücutta ortaya çıkan OSR lipidler, proteinler ve nükleik asitler üzerinde hasarlara neden olur. Hücre membrandaki lipid komponentin peroksidasyonunun, özellikle radyasyon hasarına duyarlı olduğu bildirilmiştir. Ek olarak membran lipid peroksidasyonu, radyasyona bağlı hücre ölümü ile ilişkilidir. Bu etki membran transportu akıcılığındaki ve bazı membran enzimlerinin aktivitelerindeki değişime bağlıdır. Karnitinin, radyasyonun sebep olduğu SR'ler ile oluşan hücresel hasarda modülatör bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bunun yanında radyasyonun, plazma total antioksidan kapasitesinde belirgin bir azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (12). Tüm vücut ışınlamasının antioksidan kapasitede azalmaya ve oksidatif streste artışa neden olduğu bilinmektedir. Hamsterlerde tüm

vücut ışınlaması sonuçlarını inceleyen bir çalışmada, anlamlı olarak karaciğer ve plazma malondialdehid seviyeleri ile karaciğer glutatyon seviyelerinde azalma olduğu ve bu etkilerin karnitin ile tersine çevrildiği gösterilmiştir. Tüm vücut RT'si uygulanan ratlarda, akciğer ve karaciğer dokularında yükselen malondialdehid, plazmada yükselen karaciğer enzimleri (ALT, AST ve GGTP) ile trigliserid ve kolesterol seviyelerinde karnitin ile anlamlı azalma olduğu da gösterilmiştir. Bu sonuçların ALC'nin antioksidan etkileri sayesinde membran permeabilitesini koruyarak oluşturduğu bildirilmiştir (56).

Ratlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada 5 fraksiyonda toplam biyolojik eşdeğer doz 60 Gy olacak şekilde tüm beyin ışınlanması yapılmış ve her fraksiyondan önce 100 mg/kg/gün İP karnitin uygulamasının RT'ye bağlı oluşan koklea hasarını önlemedeki etkisine bakılarak, bu hasarı düzeltebildiği gösterilmiştir (57).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma 2010 yılında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi (TÜTF) Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, Patoloji Anabilim Dalı, Üroloji Anabilim Dalı tarafından Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmamız TÜTFEK-2010/024 protokolü ile 07/06/2010 tarihinde TÜTF Etik Kurulu tarafından onaylandı (Ek 1).

ÇALIŞMA GRUPLARI VE DENEY

Çalışmada ortalama ağırlıkları 170-200 gr olan, 3 aylık, Wistar Albino cinsi 30 adet erkek rat kullanıldı. Ratlar, TÜTF Deney Hayvanları Araştırma Laboratuarından temin edildi. Tüm ratlar, deneyin sonuna kadar 8'er ratlık kafeslerde, %50-60 nem oranı, 22±1 ºC sıcaklıkta, 12 saat gece ve 12 saat gündüz ışık periyodu olan ortamda saklandı. Ratların günlük temizlikleri yapıldı. Ratların tümüne %20 protein içeren yem ve su verildi. Çalışma süresince günlük takibi yapıldı. Çalışmada 4 grup oluşturuldu:

1. Grup I: Yalnız RT uygulanan grup (8 rat)
2. Grup II: Yalnız serum fizyolojik (SF) verilen (KONT) grup (6 rat)
3. Grup III: L- Karnitin+ RT (KAR+RT) alan grup (8 rat)
4. Grup IV: Amifostin+ RT (AMI+RT) uygulanan grup (8 rat)

Çalışmada kontrol ve deney grubundaki tüm hayvanlar gruplarına göre numaralandırıldı. Çalışmanın başında, aynı stresi oluşturmak amacı ile tüm gruplara aynı yöntemle anestezi uygulandı ve aynı yöntemle amifostin, karnitin veya SF uygulaması yapıldı. RT, KAR+RT ve AMI+RT gruplarının mesane bölgesine eksternal RT uygulandı. RT grubundaki hayvanlara RT öncesi intraperitoneal (İP), SF uygulandı. KAR+RT grubundaki

hayvanlara RT'den 30 dakika önce İP olarak 300 mg/kg karnitin, AMI+RT grubundaki hayvanlara RT'den 30 dakika önce İP olarak 200 mg/kg amifostin uygulandı. RT'nin tamamlanmasından sonra hayvanlar genel durum takibi ardından 5. gün sakrifiye edildi. Tüm gruplardaki ratlara anestezi uygulandıktan sonra pelvis bölgesi açıldı. Mesane çıkartıldı ve histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehitin içine kondu.

ANESTEZİ YÖNTEMİ

Denekler 50-60 mg/kg ketamin (Ketalar, Pfizer, İstanbul, Türkiye) ve 10 mg/kg xylazine (Rompun, Bayer, İstanbul, Türkiye) ile intramüsküler (İM) olarak anestezi uygulandı.

RADYOTERAPİ UYGULAMASI

Her bir rat anestezi sağlandıktan sonra pron pozisyonda mavi köpük (Styrofoam, Med-Tec, Orange City, IA) üzerine sabitlendi. Simülatör (Simics 2, Mecaserto SA, Fransa) kullanılarak mesaneyi içeren pelvis alanı 4x3 cm boyutlarında bir alan simüle edildi. Kaynak-cilt mesafesi 65 cm olmak üzere cilde Cirrus Co- 60 cihazı ile γ ışını kullanılarak tek fraksiyonda 129,13cGy/dk doz hızında 20 Gy eksternal RT uygulandı.

HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Dokular 24 saatlik formaldehit tespitinden sonra ortadan 1 transvers kesi ile dilimlere ayrıldı ve doku takibine kondu. Doku takibi sonrası parafine gömülerek 4 mikron kalınlığında kesitler alındı. Kesitler hematoksilen-eozin boyası ile boyanarak ışık mikroskobunda incelendi. Damar duvar kalınlıkları Zeiss Axioplan 2 imaging ışık mikroskobu (KS 300 Imaging System) ile ölçüldü.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel değerlendirme, AXA507C775506FAN3 seri numaralı STATISTICA AXA 7.1 istatistik programı kullanılarak yapıldı. Ölçülebilen verilerde normal dağılıma uygunluk testi yapıldı ve normal dağılıma uymadığı için gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis varyans analizi ve anlamlı çıkanlara ikili karşılaştırmalarda Mann Whitney U testi kullanıldı. Gruplar arasındaki damar duvar kalınlığı farkları ANOVA test ile değerlendirildir. Tüm istatistikler için anlamlılık sınırı $p<0.05$ alındı.

BULGULAR

Çalışma; KONT grubunda 6 hayvan, yalnız RT yapılan grupta 8 hayvan, KAR+RT grubunda 8 hayvan, AMI+RT grubunda 8 hayvanın sakrifiye edilmesi ile tamamlanmıştır. Histopatolojik verileri değerlendirilmiştir.

MESANE DOKUSU İLE İLGİLİ HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Mesanedeki histopatolojik değişiklikler olarak epitel desquamasyonu, epitel rejenerasyonu, stroma ödemi, stromada fibrosiz, stromada iltihap, damarlanma artışı ve damar duvar kalınlığı değerlendirildi. Değerlendirilen bu parametreler arasında, epitelyal desqumasyon (p=0.001), stroma ödemi (p=0.003) ve damar duvar kalınlığında (p=0.003) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı oranda farklılık gösterdiği belirlendi. Gruplar arasındaki farlılık saptandıktan sonra, hangi grupların birbirinden farklı veya hangilerinin benzer olduğu değerlendirildi.

Epitelyal desquamasyon, 30 hayvanın 14'ünde görüldü. RT grubunda ve KAR+RT grubunda 8 hayvanın 6'sında epitel desquamasyon görüldü. Kontrol grubunda 6 hayvanın 1'inde epitel desquamasyon görüldü. KAR+RT ile RT grupları arasında epitelyal desquamasyon yönünden istatiksel anlamlı farklılık görülmedi. RT grubunda (p=0.001) ve KAR+RT grubunda (p=0.001), KONT grubu ile karşılaştırıldığında istatiksel olarak anlamlı oranda kötü bulundu (Tablo 2). AMI+RT grubunda 8 hayvanın 1'inde epitel desquamasyon görüldü. AMI+RT ile KONT grubu arasında ise epitelyal desqumasyon yönünden istatiksel anlamlı fark görülmedi. Radyoterapiye amifostin eklenmesi, sadece RT verilmesine göre epitelyal desquamasyon anlamlı oranda azaltmıştı (p=0.003).

Tablo 2. Gruplarda görülen epitel desquamasyon

Epitel desquamasyonu	KONT (n=6)	RT (n=8)	KAR+RT (n=8)	AMI+RT (n=8)
Var	1	6	6	1
Yok	5	2	2	7

KONT: Kontrol**; RT**: Radyoterapi; **KAR**: Karnitin; **AMI**: Amifostin.
Epitel desquamasyonda $p<0.03$.

Stroma ödemi, 30 hayvanın 18'inde görüldü. RT grubunda 8 hayvanın 7'sinde stromal ödem görüldü. KONT grubunda 6 hayvanın hiçbirinde görülmedi. Beklendiği gibi stroma ödemi, RT grubunda KONT grubuna göre anlamlı oranda fazla bulundu ($p<0.0001$) (Tablo 3). AMI+RT grubunda 8 hayvanın 5'inde, KAR+RT grubunda ise 8 hayvanın 6'sında stromal ödem görüldü. Benzer şekilde, AMI+RT ($p=0.008$) ve KAR+RT ($p=0.002$) gruplarında da stroma ödemi KONT grubuna oranla istatistiksel anlamlı oranda fazlaydı. Stroma ödeminin, gerek AMI+RT gerekse KAR+RT gruplarında, RT grubu ile benzer olduğu saptandı.

Tablo 3. Gruplarda görülen stroma ödemi

Stroma ödemi	KONT (n=6)	RT (n=8)	KAR+RT (n=8)	AMI+RT (n=8)
Var	-	7	6	5
Yok	6	1	2	3

KONT: Kontrol**; RT**: Radyoterapi; **KAR**: Karnitin; **AMI**: Amifostin.
Stroma ödeminde $p<0.01$.

Damar duvar kalınlığı, sadece RT uygulanan hayvanlarda KONT grubuna göre anlamlı olarak artmıştı ($p<0.0001$) (Tablo 4). RT grubunda en yüksek duvar kalınlığı 27.4 μm, en düşük 16,78 μm, ortalama 21.92; KAR+RT grubunda en yüksek duvar kalınlığı 23,02 μm, en düşük 12,55 μm, ortalama 19.15; AMI+RT grubunda en yüksek duvar kalınlığı 23.3 μm, en düşük 10.05 μm, ortalama 17.36; KONT grubunda en yüksek duvar kalınlığı 20.31 μm, en düşük 10.05 μm, ortalama 15.72 olarak bulunmuştur. RT ile birlikte amifostin verilmesi

damar duvar kalınlığını istatiksel anlamlı oranda azaltmıştı (p=0.009). RT ile birlikte verilen karnitinin ise benzer bir etkisi saptanmadı. KONT grubuna göre KAR+RT grubunda damar duvar kalınlığı anlamlı oranda arttırmıştı (p=0.005). Ancak, AMI+RT ve KONT grubunda anlamlı farklılık yoktu.

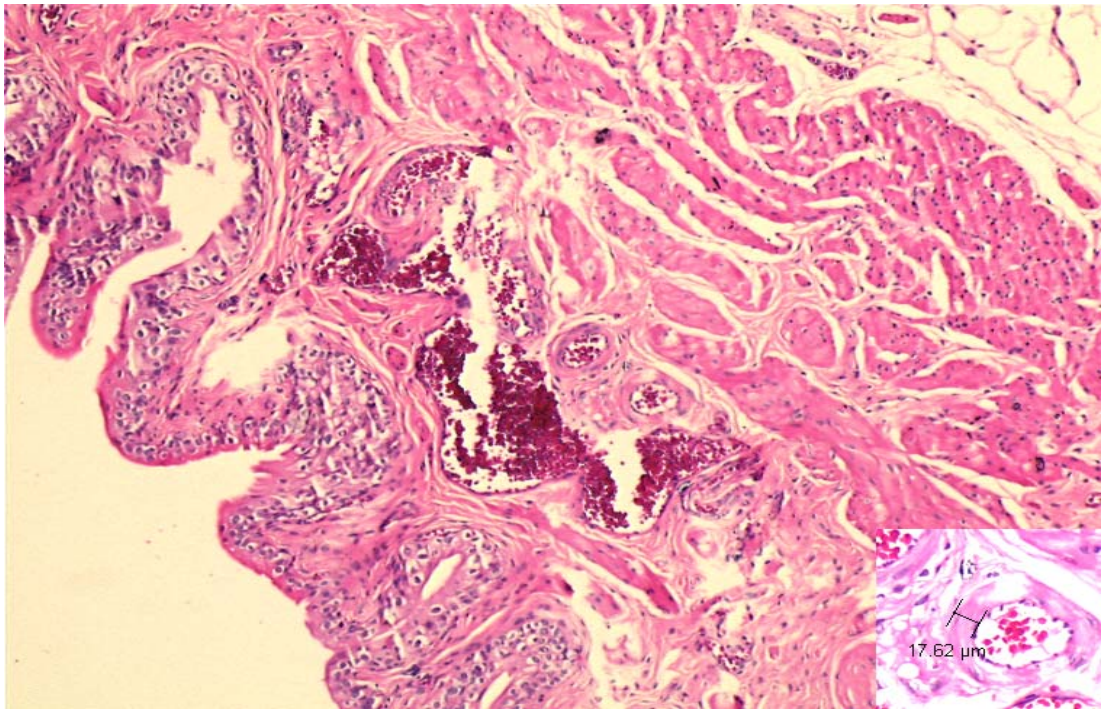
Tablo 4. Gruplarda görülen damar duvar kalınlığı

Damar duvar kalınlığı	**KONT** (n=6)	**RT** (n=8)	**KAR+RT** (n=8)	**AMI+RT** (n=8)
1	20.31	27.4	16.95	17.55
2	14.91	19.72	23.02	23.3
3	17.56	19.37	13.41	17.62
4	11.23	26.76	26.9	10.05
5	20.31	26.9	12.55	19.27
6	10.05	16.78	22.88	16.55
7		17.18	17.99	16.95
8		21.32	19.53	17.63

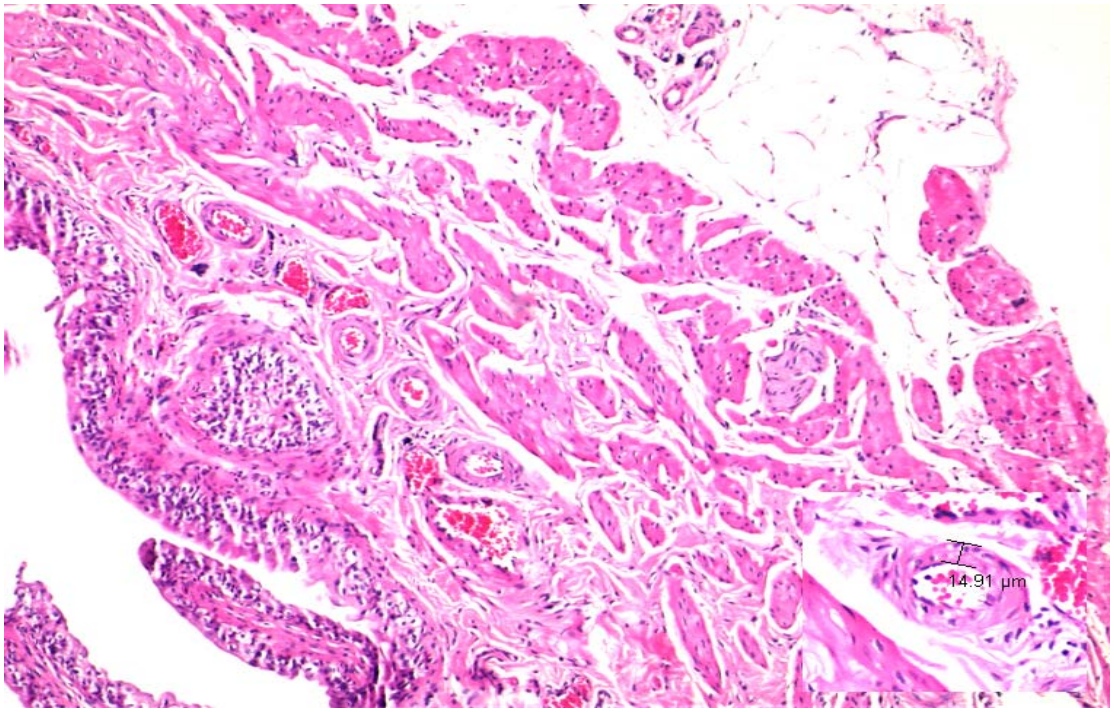
KONT: Kontrol**; RT**: Radyoterapi; **KAR**: Karnitin; **AMI**: Amifostin.

Damar duvar kalınlığında $p<0.01$.

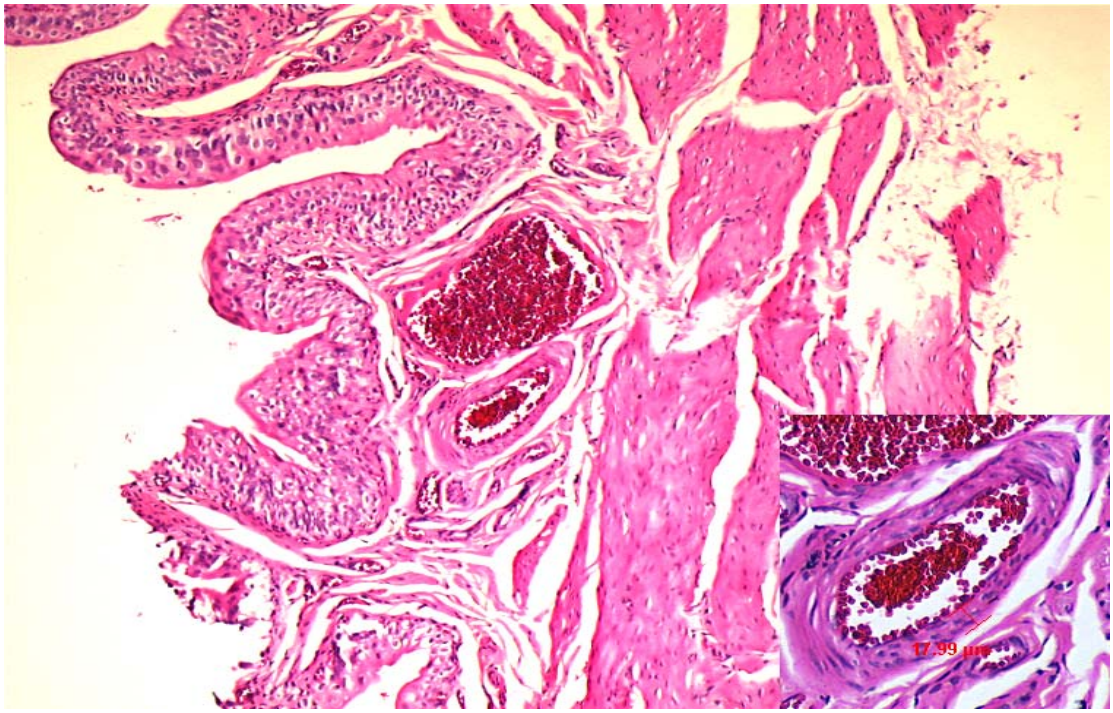
Histopatolojik bulgulara örnekler, Şekil 5-8'de verilmiştir.



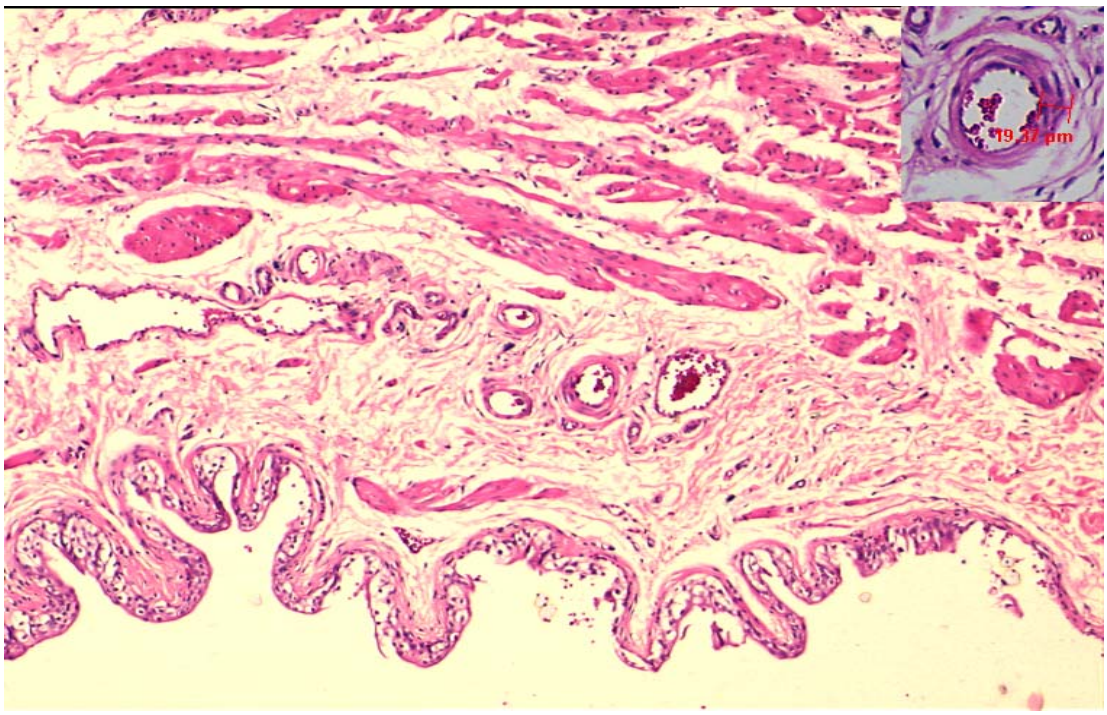
Şekil 5. Amifostin+radyoterapi grubu. Yüzey epitelinde rejenerasyon yanı sıra, stromada dağınık ve hafif derecede iltihabi hücreler, ödem, bağ doku artışı dikkati çekmektedir. İzlenebilen en kalın damar duvarı kalınlığı 17,62 µm'dir (Hematoksilen- eosin, X50).



Şekil 6. Kontrol grubu. Yüzey epiteli normal görünümde olup, stromada hafif ödem ve fibrozis dikkati çekmektedir. İzlenebilen en kalın damar duvarı kalınlığı 14,91 (Hematoksilen- eosin, X50).



Şekil 7. Karnitin+radyoterapi grubu. Yüzey epitelinde deskuamasyon ve rejenerasyon yanı sıra, stromada dağınık ve hafif derecede iltihabi hücreler, ödem, bağ doku artışı dikkati çekmektedir. İzlenebilen en kalın damar duvarı kalınlığı 17,99 µm'dir (Hematoksilen- eosin, X50).



Şekil 8. Radyoterapi grubu. Yüzey epitelinde deskuamasyon yanı sıra, stromada belirgin ödem ve bağ doku artışı dikkati çekmektedir. İzlenebilen en kalın damar duvarı kalınlığı 19,37 µm'dir (Hematoksilen- eosin, X50).

TARTIŞMA

Günümüzde, gelişmiş RT tekniklerinin kullanılması kanser tedavisinde önemli gelişmeler sağlamıştır. Modern tedavi teknikleri kullanılarak, maksimum tümör kontrolü sağlarken, minimum normal doku toksisitesi elde etmek amaçlanmaktadır (3). Bununla birlikte, bütün teknolojik gelişmelere rağmen RT'ye bağlı oluşan gerek akut gerekse geç yan etkileri tümüyle ortadan kaldırmak mümkün olmamaktadır. Bu nedenle, notmal doku toksisitesini en aza indirmek amaçıyla, ışınlama sırasında, kullanılacak radyoprotektörlerin rolü önem kazanmaktadır.

Çalışmamızda, tek fraksiyonda uygulanan 20 Gy RT'nin, mesanede akut olarak meydana getirdiği histopatolojik değişiklikler olarak; epitel desquamasyonu, epitel rejenerasyonu, stroma ödemi, stromada fibrosiz, stromada iltihap, damarlanma artışı ve damar duvar kalınlığı değerlendirildi. Yukarıdaki histopatolojik değişikliklerden epitel desquamasyon, stroma ödemi ve damar duvar kalınlığı yönünden istatiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. Amifostinin, epitelyal desquamasyon ve damar duvar kalınlığı değişimlerini istatistiksel anlamlı oranda azalttığı, stromal ödemi etkilemediği görülmüştür. Radyoterapi öncesi uygulanan karnitinin epitelyal desquamasyon, damar duvar kalınlığı ve stromal ödem üzerine istatiksel anlamlı oranda koruyucu etkisi görülmemiştir.

Radyoterapiye bağlı akut mesane toksisitesi RT sırasında başlar ve birkaç ay içinde ortadan kaybolur. Tedavi genellikle hastanın şikayetlerine yönelik yapılmaktadır. Hastanın şikayetleri ise subjektiftir. Mesane toksisitesini değerlendirebilmek için birçok skorlama sistemi tanımlanmıştır ve genel olarak birbirlerinden büyük farklılık göstermezler. Radyasyona bağlı mesanede oluşan hasarlar akut ve geç dönemde ortaya çıkabilmektedir.

Mesanenin RT toleransı (TD 5/5), mesanenin %15 ve daha azı ışınlandığında 80 Gy iken, mesane volümünün %50'si ışınlandığında 65 Gy'e düşmektedir. Mesanenin toleransı değerlendirilirken, fraksiyonasyon şeması ve tedavi alanının volümü mesanenin toleransını önemli ölçüde etkilemektedir. Bir çok fraksinasyon şeması belirtilmekle birlikte günümüzde en sık kullanılan tedavi rejimi, 1.5-1.8 Gy fraksiyonda tüm mesaneye 52.5-55 Gy ardından boost olarak parsiyel mesaneye 1.5-1.8 Gy fraksiyonda 12-15 Gy, toplam doz 64-65 Gy'dir. Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) çalışma grubunun son çalışmasında bu protokolle tedavi edilen mesane kanseri hastalarda, geç dönem grade 3 toksisite oranı % 6 olarak bildirilmiştir. Bununla birlikte, daha büyük fraksiyonlarda, akselere olarak uygulanan tedavilerin komplikasyon oranını arttıracağı açıktır (58).

Elliot ve Malaeb (25)'in yaptığı çalışmada, prostat, mesane, kolorektal ve jinekolojik kanserler nedeniyle pelvik radyoterapi alan hastalarda görülen akut ve geç toksisite değerlendirmesinde Radiation Therapy Oncology Group (RTOG)'nin yaptığı derecelendirme sistemi kullanılmaktadır (Tablo 1). Bu çalışmada mesane kanseri nedeniyle pelvise 60 Gy RT alan hastalarda grade 2 geç toksisite %18, grade 3 %6, grade 4 %3 olarak belirtilmektedir.

Pelvik RT uygulanan hastalarda, tedavi sonrası, mesane disfonksiyonu sıklıkla rastlanmaktadır. Ancak patogenezi tam olarak bilinmemektedir. Jaal ve Dörr (59)'ün yaptığı çalışmada, fare mesanesinde radyasyonun erken ve geç yan etkileri değerlendirilmiştir. Çalışmada tek fraksiyonda 20 Gy doz uygulandıktan sonra mesane süperfisyal üretelyel hücre sayısındaki değişiklikler ölçülmüştür. Seçilen doz, LQ modeline göre ve α/β oranı 5 Gy alındığında kabaca biyolojik eşdeğer dozu olarak 2 Gy fraksiyondan yaklaşık olarak 70 Gy' e karşılık gelmektedir. Çalışmada, RT grubunda ışınlamadan iki-üç gün sonra kontrol grubuyla karşılaştırıldığında süperfisiyal umbrella hücrelerinde % 7 oranında kayıp oluşturduğu bulunmuştur. Benzer olarak, Schreiber ve ark. (60) tarafından yapılan çalışmada, ratlarda mesaneye 20 Gy RT uygulamasından sekiz gün sonra üreteliyal hücrelerde kayıp saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da bu çalışma referans alınarak pelvik bölgeye tek doz 20 Gy RT uygulanmış ve beşinci günde RT'nin akut yan etkileri gözlemlenmiştir.

Radyoterapiye bağlı akut mesane toksisitesi RT sırasında başlar ve birkaç ay içinde ortadan kaybolur. Stewart ve ark. (61)'nın fare mesanesinde, radyasyona bağlı akut ve geç hasarı üriner sıklık ve sistometri ile değerlendirdiği çalışmasında, 10- 30 Gy tek doz mesane ışınlamasından 1-3 hafta sonra farelerde geçici bir hasar dalgası görülmüştür. Bu dönem süresince idrar sıklığının doza bağlı olarak, kontrol grubuna kıyasla, RT grubunda iki kat ve daha fazla oranda arttığı bulunmuştur. Yine bu dönemde kontrol grubuyla kıyaslandığında, 20

Gy doz alan farelerin %20-40'ında mesane volümünün yaklaşık %50'nin altına indiği görülmüştür. Erken dönem hasarı yaklaşık bir haftada sonlanmıştır. Lundbeck ve ark. (62) ise fare mesanesini tek doz 5-30 Gy ışınladıktan sonra 30 gün içerisinde mesane fonksiyonlarını sistometrik olarak değerlendirmişlerdir ve bu dönemde, doza bağımlı olarak mesane duvar kompliansının azaldığını bulmuşlardır. Bununla birlikte ortaya çıkan hasarın ikinci ayda düzeldiğini gözlemlemişlerdir.

Tedavi tekniklerinin gelişmesine rağmen, pelvik ışınlamalarda mesanenin bir kısmının veya tamamının ışınlanması kaçınılmazdır. Prostat kanseri nedeniyle pelvik alana 63- 79.2 Gy arasında konformal radyoterapi uygulanan 331 hastada görülen akut toksisitenin değerlendirildiği Harsolia ve ark. (63)'nın çalışmasında, grade 2-3 akut toksisite sıklığı %39.6 olarak bildirilmiştir. Bunlar, inkontinans %0.3, retansiyon %4.5, hematüri %1.8, ağrı %0.3 genitouriner toksisite %4.5, cilt reaksiyonları %2 oranındadır. Grade 4 toksisite %0 olarak saptanmıştır.

Tümör dokusu ve normal dokular arasındaki radyosensivitenin farklı olması, radyasyonun normal dokularda anlamlı oranda hasar meydana getirmesine sebep olmaktadır. Antonakopolos ve ark. (64), radyasyonu takiben insan mesanesindeki ultrastriktürel değişiklikleri değerlendirmişler ve mesanede görülen klinik sekellerin hücresel düzeyde mesane duvarında dejenerasyon ve yaygın nekroz ile açıklanabileceğini belirtmişlerdir. Suresh ve ark. (65), pelvik bölgesine 35-75 Gy eksternal RT gören 18 hastanın, 15 sistektomi ve 3 biyopsi materyallerini incelemişlerdir. Radyoterapi ile biyopsi arasındaki süre 6 ay ile 4 yıl arasında değişmektedir. En sık karşılaşılan bulgu, akut ve kronik inflamatuar hücrelerin yer aldığı submukozal hücre infiltrasyonudur. Bununla birlikte, bizim çalışmamızda stromal inflamasyona rastlanmamıştır. Bunu sıklık olarak submukozal fibroz takip etmektedir. Sunulan çalışmada da stromal fibrozis değerlendirilmiş fakat görülmemiştir. Yüzeyel ülserasyon sıklıkla erken örneklerde görülmektedir. Benzer olarak epitelyal hücre atipisinde erken biyopsi örneklerinde, geç biyopsi örneklerine göre daha sık görülmüştür. Bizim çalışmamızda da radyasyona bağlı epitelyal dejenerasyon kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Vasküler değişiklikler olarak luminal oklüzyon, ektazi, damar duvarında hyalinizasyon ve fibrinoid nekroz altı erken materyalin sadece birinde ve oniki geç materyalin sadece birinde görülmüştür. Bizim çalışmamızda radyasyona bağlı damar duvar kalınlığı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Prostatektomi sonrası en yeni tekniklerden biri olan yoğunluk ayarlı RT ile tüm pelvis bölgesi tedavi edilen prostat kanserli hastalarda %89 oranında RTOG grade 1 akut genitoüriner toksisite görüldüğü belirtilmektedir (66). Mesane kanserli hastalara, cerrahi yerine hipofraksiyone RT uygulanan, Koukourakis ve ark. (67)'nın yaptığı çalışmada 38 invazıv mesane kanseri hastaya 15 fr x 3.4 Gy, (pelvise 2.7 Gy ve mesaneye 0.7 Gy konkomitan boost ile total biyolojik doz 66-72 Gy 19 günde) verilmiştir. 9 hasta lipozomal doksorubisin 2 haftada bir 25 mg/m^2 den toplam 6 defa almıştır. 24 hasta RT'den 20-30 dakika önce amifostin 1000 mg, 9 hasta 750-800 mg, 3 hasta 500 mg subcutanöz olarak uygulanmıştır.. Lipozomal doksorubisinin sistemik yan etkilerini azaltmıştır. Medyan takip 22 aydır. 750-1000 mg amifostin alan hastalarda akut yan etkilerden sistit ve diyareyi anlamlı olarak azaltmıştır. Akut yan etkiler, grade 1 dizüri % 5, grade 2 diyare % 18 oranında görülmüştür. Geç yan etkiler ise; %5.5 grade 2 dizüri, %7.8 grade 1 sık idrara çıkma ve %2.8 grade 2 inkontinanstır. 38 hastanın 32'sinde (%84.2) tam yanıt elde edilmiştir. Çalışma grubundaki hastalarda RT'ye bağlı akut mesane ve rektum toksistesinin, literatürle karşılaştırıldığında minimal olduğu bildirilmektedir.

Radyoterapiye bağlı çeşitli doku ve organlarda meydana gelen akut ve geç yan etkilerde amifostinin koruyucu etkisi olduğu, birçok preklinik çalışmada gösterilmiştir. Damron ve ark. (68)'nın ratlarla yaptıkları çalışmasında, tek fraksiyonda 17.5 Gy RT öncesi sırası ile 0, 50, 100, 150, 200 ve 250 mg/kg İP amifostin uygulaması karşılaştırılmıştır. Amifostin dozlarına göre ortalama büyüme, büyüme kaybı ve bacak boyları arasında istatistiksel anlamlı olarak doz bağımlı farklılıklar bulunmuştur. Ortalama büyüme, amifostinin 50 mg/kg uygulamasında %14 iken 250 mg/kg uygulamasında %57 bulunmuştur. Artan amifostin dozları ile büyüme kaybı ve sağlam bacakla olan boy farkında anlamlı azalma olduğu gösterilmiştir. Lamproglou ve ark. (69)'nın çalışmasında, 30 Gy tüm beyin ışınlaması öncesi ratlara 37.5 mg/kg, 75 mg/kg, 150 mg/kg amifostin uygulanmış ve 75 mg/kg ile 150 mg/kg amifostin kullanımının radyasyona bağlı öğrenme ve geçici hafıza bozukluğunu önlediği saptanmıştır.

Uğuzalp-Kaldır ve ark. (70)'nın yaptığı çalışmada 400 mg/kg İP amifostin uygulaması sonrası karaciğer ve böbreği kapsayan tek alandan, 600 cGy RT alan 3-4 aylık ratlarda derece I tübülüs atrofisi görülme oranını %70'den %50'ye düşürürken, derece II böbrek fibrosiz oranını %30'dan %0'a düşürmüştür. RT hepatositlerin ekstraksiyon ve sekresyon fonksiyonlarında bozulma olmuştur. Amifostin uygulaması sonrası RT uygulamasının hepatositlerin ekstraksiyon ve sekresyon fonksiyonunda düzelme sağlamıştır.

Jirtle ve ark. (71)'nın yaptığı çalışmada sıçanlarda, amifostinin hepatositler üzerinde koruyucu etkisi olup olmadığını araştırmışlardır. Işınlamadan hemen sonra amifostin (400 mg/kg) enjeksiyonu yapılmasının hepatositler üzerine koruyuculuğunun olmadığı, buna karşın ışınlamadan 30 dakika önce intraperitoneal olarak uygulanan aynı dozda amifostinin parankimal hepatositleri koruduğu gösterilmiştir. Ancak 200 mg/kg altında dozlar kullanılması ile ilacın koruyuculuğunda azalma oluşmuştur. Bizim çalışmamızda da daha önce yapılan çalışmalar referans alınarak 200 mg/kg amifostin dozu kullanılmıştır.

Amifostinin sadece RT değil ayrıca alkilleyici ajanlar ve sisplatinli KT'lere karşı normal dokuyu koruduğu, özellikle hematolojik toksisiteyi azalttığı saptanmıştır (72,73). Kemp ve ark. (74) tarafından over kanserli hastalarda yapılan faz III çalışmada amifostinin yukarıda belirtilen kemoterapötik ajanlara karşı koruyuculu özelliği gösterilmiştir. Çalışmaya katılan 242 hastaya 1000 mg/m^2 siklofosfamid ve 100 mg/m^2 sisplatin verilmiştir. Çalışma kollarından biri 910 mg/m^2 amifostin ve KT, diğer kol sadece KT almıştır. Amifostin alan grupta nefrotoksisitede anlamlı azalma saptanmıştır. Gruplar arasında antitümöral etkinlik açısından anlamlı fark görülmemiştir. Bourhis ve ark.(75)'nın yaptığı %33 küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, %65 baş-boyun kanseri, %2 pelvik kanser nedeniyle RT alan 431 hasta ve radyokemoterapi alan 688 hastada amifostinin, genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalıma olumlu etkisi olduğunu göstermiştir. Amifostinin KT ajanlarına karşı koruyucu özelliği olması ayrıca antitümöral özelliği olmaması nedeniyle günlük RT pratiğinde kullanımını arttırmaktadır.

Güncel araştırmalarda, bazı klinik durumlarda (örneğin anoreksi, kronik yorgunluk, koroner kalp hastalığı, difteri, hipoglisemi ve erkeklerde infertilite gibi) diyete karnitin eklenmesinin yararı bildirilmektedir(76). Ayrıca Şener ve ark.'nın (77) çalışmasında 500 mg/kg İP olarak uygulanan karnitinin, SR'leri temizleme yolu ile oksidatif organ hasarını düzelttiği ve kronik renal hasara bağlı aorta ve korpus kavernosum disfonksiyonunu önlediği gösterilmiştir.

Daha önceki preklinik çalışmalarda karnitinin böbrek, retina, spinal kord ve kalp gibi organlarda iskemi sonrası perfüzyonun geri gelmesine bağlı oksidatif hasarı önlemdeki etkisi de bildirilmiştir. İnvivo ve invitro çalışmalar sisplatine bağlı böbrek ve ince bağırsak hasarlarını da önlediğini göstermektedir. Karnitin esteri olan ALC'nin ratların, akciğer dokusunda, bleomisine bağlı oksidatif strese ve enerji tüketimine karşı koruyucu etkiye sahip olduğu bildirilmektedir. Ayrıca ALC'nin primer mürin kültürlerinde, nöronlarda, talasemik

hastaların eritrositlerinde ve kardiak otonomik sinir sisteminde nörotropik faaliyette anti-apopitotik aktivitesi de gözlenmiştir (37).

Topçu-Tarladaçalışır ve ark. (78)'nın yaptığı çalışmada, γ ışınlama ile sıçan testis seminifer tübüllerinde açığa çıkacak hasarlara karşı karnitinin muhtemel koruyucu etkisini araştırmışlardır. Hayvanlar, biri kontrol ikisi deney grubu olmak üzere toplam 3 gruba ayrılmıştır. Radyasyon hasarı oluşturmak amacıyla kontrol grubu dışındaki deneklerin skrotal bölgelerine tek fraksiyonda 10 Gy γ ışını uygulanmıştır. Üçüncü grup deneklere; ışınlamadan 1 gün önce başlayarak, haftada 3 kez olmak üzere 3 hafta boyunca İP yoldan 200 mg/kg karnitin, ikinci grup deneklere ise aynı şekilde 0,2 ml SF verilmiştir. Karnitinin antioksidan, antiinflamatuar ve antiapoptotik etkileri aracılığı ile germinal epitel hücreleri ve tübüllerin rejenerasyon hızını arttırmak suretiyle radyasyona bağlı erkek infertilite süresinin kısaltılması ile testis morfolojisinde gösterdiği koruyucu etkinin yanı sıra, spermatogenetik iyileşme sürecini hızlandırdığını da tespit etmişlerdir.

Sezen ve ark. (50)'nın çalışmasında, 200 mg/kg İP karnitin uygulaması sonrası tek fraksiyonda 15 Gy tüm beyin RT'si alan 8-12 haftalık ratlarda, radyasyona bağlı beyin hasarının önlendiği gösterilmiştir. Aynı grubun başka bir çalışmasında da, karnitinin 100 mg/kg İP olarak enjeksiyonu sonrası tüm beyin RT'si uygulanan 12-16 haftalık ratlarda katarakt oluşumunu azalttığı gösterilmiştir (79). Mansour (39)'un çalışmasında ise karnitinin, 250 mg/kg İP verilmesinin ardından tüm vücut ışınlaması uygulanan yetişkin ratlarda, karaciğer enzim (ALT, AST ve GGTP) aktivitelerindeki değişimleri onardığı ve membran permeabilitesini koruduğu bildirilmiştir.

Atlas ve ark. (57)'nın 100 mg/kg İP karnitin uygulaması sonrası, ratlara günlük 6.6 Gy, 5 gün tüm beyin RT'si uygulanmış ve koklear hasarı azalttığını göstermişlerdir. Ratlar üç gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna, karnitin ve RT uygulanmamış ve koklear dejenerasyon saptanmamıştır. Radyoterapi grubunda, tüm beyin ışınlaması sonrası 4, 24 ve 96. saatteki histopatolojik olarak koklear dejenerasyon; stria vaskülaris, spiral ganglion, dıştaki saçlı hücreler ve içteki saçlı hücrelerde görülmüştür. Karnitin ardından RT uygulanan grupta ise karnitinin, koklear dejenerasyonu azalttığı istatiksel anlamlı olarak saptanmıştır. Bizim çalışmamızda, seçilen karnitin dozu 300 mg/kg'dır.

Amifostin radyoprotektör özelliği kabul görmüş standart bir ajandır. Birçok ajanın amifostin ile radyoprotektör özelliklerini karşılaştıran çalışmalar bulunmakla birlikte standarta giren başka bir radyoprotektör bulunmamaktadır. Literatürde karnitin ile yapılmış çalışmalar bulunmakla birlikte, iki ajanının etkinliğini karşılaştıran fazla sayıda çalışma

bulunmamaktadır. Yürüt-Çaloğlu ve ark. (80)'nın gelişimini tamamlamamamış bebek ratların femoral epifiz bölgelerine, tek fraksiyonda 20 Gy RT'den 30 dakika önce 300 mg/kg karnitin ve 200 mg/kg amifostin İP uygulanmıştır. Radyoterapi öncesi ve sonrası 6. ayda tüm ratlara Tc-99m MDP (metilen difosfonat) kemik sintigrafisi ve Dual Enerji X-ray Absorbsiometri (DEXA) ile kemik yoğunluk ölçümü yapılmıştır. Histopatolojik incelemede RT öncesi uygulanan karnitin ve amifostinin, kemik büyümesini ve epifizyal kartilajı istatistiksel anlamlı olarak benzer oranda koruduğu gösterilmiştir. Çaloğlu ve ark. (81) ratlarda böbreğe tek doz 9 Gy RT öncesi, karnitin (300 mg/kg) ve amifostin (200 mg/kg) İP uygulamış ve oluşan hasarı Tc-99m MDP sintigrafisi ve histopatolojik inceleme kullanarak değerlendirmiştir. Her iki ajanında bövreği gerek fonksiyonel gerekse histopatolojik olarak istatistiksel olarak anlamlı şekilde ve eşit oranda koruduğunu saptamışlardır.

İbiş (82) ise karnitinin olası radyoprotektif etkisini amifostin ile karşılaştırmıştır. Çalışmacılar, 3 aylık ratlarda, kalbi 20 Gy ışınlamışlar ve hayvanları 6 ay takip etmişlerdir. Radyoterapi öncesi kullanılan amifostinin atriyal fibrozis, miyokardiyal dejenerasyon ve ventriküler fibrozis açısından kalbi koruduğu saptanmıştır. Bununla birlikte RT'ye karnitin eklenmesi ise yalnızca miyokardiyal dejenerasyon ve ventriküler fibrozis açısından kalbi korurken, atriyal fibrozisi etkilemediği saptanmıştır. Her iki ajanında vasküler hasar üzerine koruyucu etkisi saptanmamıştır. Çalışmacılar, RT'ye bağlı gelişen kardiyak toksisiteyi önelemede amifostinin, karnitinden üstün olduğunu belirtmektedir.

Radyoterapiye bağlı oluşan akut ve geç etkileri önleyebildiği gösterilen karnitin'in mesane dokusu üzerine etkinliği ilk kez bu çalışmada karşılaştırılmıştır. Yine ilk kez bu çalışmada, karnitinin olası radyoprotektör etkisi amifostin ile karşılaştırılmıştır. Çalışmada, 3 aylık gelişimini tamamlamış yetişkin fareler kullanılmıştır. Literatüre uygun olarak 200 mg/kg amifostin ve 300 mg/kg karnitin RT'den 30 dakika önce uygulanmıştır. Deney, ışınlama günü '0' kabul edilerek, işlem sonrası 5. günde sonlandırılmıştır. 20 Gy eksternal RT ile mesanede histopatolojik olarak hasar meydana getirilmiştir. Amifostinin, radyasyona bağlı akut mesane hasarında koruyucu etkisi gösterilmesine rağmen, karnitin için koruyucu etkinin ancak kismi olduğu söylenebilir. Karnitinin mesane üzerine etkinliğinin düşük olması, ilacın mesane dokusuna dağılımının az olması, daha yüksek doz uygulanma ihtiyacı veya ilacın tek doz yerine ardışık uygulama gerekliliği ile ilgili olabilir.

Sonuç olarak; literatürde RT'ye bağlı mesane hasarını önlemede etkinliği gösterilmiş olan amifostinin bu etkisi, bizim çalışmamızda da ortaya konmuştur. Özellikle epitel dejenerasyon ve damar duvar kalınlığında saptanan anlamlı koruma etkisi yönünden literatüre

benzer derecede kanıtlara ulaşılmıştır. Çalışmamız, RT'ye bağlı mesane hasarını önlemede karnitinin radyoprotektör etkisini inceleyen, literatürdeki ilk çalışma olup, epitelyal dejenerasyon ve damar duvar kalınlığında anlamlı koruma sağlayamadığını saptanmıştır. Bununla birlikte, karnitinin daha yüksek dozlarda ve fraksiyone uygulamalarla, karşılaştırmalı olarak çalışılması sonucunda potansiyel koruyucu etkisinin ortaya konulabileceği düşüncesindeyiz.

SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi (TÜTF) Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, Patoloji Anabilim Dalı, Üroloji Anabilim Dalı tarafından yapılan mesanesi ışınlanan ratlarda, amifostin ve karnitinin, RT'ye bağlı mesane hasarını önlemedeki olası koruyucu etkinliğinin histopatolojik olarak karşılaştırıldığı çalışmamızda aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

1- Radyoterapi sonrası akut dönemde (5.gün) yapılan histopatolojik değerlendirmede; RT'nin epitel desquamasyon, stroma ödemi ve damar duvar kalınlığında artışa neden olduğu bulunmuştur.

2- Radyoterapiye amifostin eklenmesi, sadece RT uygulanan gruba göre epitelyal desquamasyonu azaltmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamış olması; epitel desquamasyon açısından, RT'ye amifostin eklenmesi ile mesanenin RT'nin toksik etkilerinden tamamen koruduğunun güçlü bir göstergesidir.

3- Radyoterapi sonrası akut dönemde (5.gün) yapılan histopatolojik değerlendirmede; RT'ye amifostin eklenmesinin sadece RT uygulanan gruba göre damar duvar kalınlığını istatiksel anlamlı oranda azalttığı gösterilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise damar duvar kalınlığının benzer bulunmuş olması RT'ye amifostin eklenmesinin RT'ye bağlı meydana gelen damar duvar kalınlığındaki artışı tamamen önlediğini göstermektedir.

4- Radyoterapi sonrası akut dönemde (5.gün) yapılan histopatolojik değerlendirmede; epitel desquamasyon ve damar duvar kalınlığında artış sadece RT veya RT ile

birlikte karnitin uygulanan gruplarda benzer bulunmuştur. Bu sonuç, karnitinin, mesaneyi RT'ye bağlı akut yan etkilerden korumadığını desteklemektedir.

5- Histopatolojik olarak; gerek amifostin ve gerekse karnitin, RT'ye bağlı oluşan stroma ödemini istatistiksel olarak etkilememiştir.

ÖZET

Tedavi amaçlı, pelvis bölgesine uygulanacak yüksek doz radyoterapinin mesane üzerinde ciddi ve çeşitli yan etkileri olabilmektedir. Günümüzde kanser tanı ve tedavisinde sağlanan gelişmeler, kanserli hastaların sağkalım süresini uzatması nedeniyle, kanser tedavisinin akut ve geç etkilerini ön plana çıkarmıştır. Normal dokuları, radyasyonun olumsuz etkilerinden koruma amaçlı radyoprotektör ajanlar önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir.

Çalışmamızda, radyoterapiden önce uygulanan amifostin ve karnitin ardından mesanesi ışınlanan 12 haftalık ratlarda, etkili bir radyoprotektör olduğu bilinen amifostin ile karnitinin radyoterapiye bağlı mesane hasarından koruyucu etkinliğinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Kontrol, radyoterapi, amifostin ardından radyoterapi ve karnitin ardından radyoterapi grubu olmak üzere dört grup oluşturulmuş, radyoterapi gruplarına mesane alanına tek fraksiyonda 20 Gy radyoterapi uygulanmıştır. Deney gruplarına radyoterapiden 30 dakika önce amifostin 200 mg/kg ve karnitin 300 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Radyoterapide 5 gün sonra ratlara ötenazi uygulanıp, histopatolojik inceleme yapılmıştır.

Mesane dokusu, histopatolojik olarak epitel desquamasyonu, epitel rejenerasyonu, stroma ödemi, stromada fibrosiz, stromada iltihap, damarlanma artışı ve damar duvar kalınlığı açısından değerlendirilmiştir. Radyoterapiye amifostin eklenmesinin sadece radyoterapi grubuna göre epitelyal desquamasyon ve damar duvar kalınlığındaki artışı azalttığı gösterilmiştir. Ancak radyoterapiye karnitin eklenmesinin kontrol grubuna göre epitel desquamasyon ve damar duvar kalınlığında koruyucu etkisi bulunamamıştır. Her iki

maddenin de stroma ödemi açısında koruyucu etkisi saptanmamıştır. Bununla birlikte amifostinin, karnitine göre epitel desquamasyon ve damar duvar kalınlığı açısından koruyucu etkisi daha belirgindir.

Anahtar kelimeler: Radyoterapi, mesane, amifostin, karnitin, rat

THE HISTOPATHOLOGIC COMPARISON BETWEEN THE EFFECTIVENESS OF AMIFOSTINE AND L-CARNITINE IN ACUTE BLADDER TOXICITY DEVELOPED SECONDARY TO RADIOTHERAPY IN RATS

SUMMARY

For the treatment of high-dose radiation therapy applied to the pelvis may cause some serious side effects on the bladder. Today, advances in diagnosis and treatment of cancer, extending the duration of survival of cancer patients, acute and late effects of cancer therapy highlighted. The agents which can protect normal tissue from irradiation toxic effect has become an important research topic.

The aim of the present study was to evaluate the radioprotective efficacy of carnitine in bladder comparison to amifostine. Twelve-week-old Wistar albino rats were randomly assigned to four groups: control, irradiation alone, amifostine plus irradiation, carnitine plus irradiation. The rats in the irradiation alone, amifostine plus irradiation, and carnitine plus irradiation were irradiated individually with a single dose of 20 Gy to bladder. Carnitine (300 mg/kg) and amifostine (200 mg/kg) were applied 30 min before irradiation. The rats were euthanized 5 days after irradiation and the histopathological analysis was done.

Bladder tissue were evaluated according to epithelial desquamation, epithelial regeneration, stromal edema, stromal fibrosis, stromal inflammatory infiltration, increase in

vascularity, and increase in vessel wall thickening. The epithelial desquamation, stromal edema, and increase in vessel wall thickening were significantly different between the groups. Pretreatment with amifostin ameliorated epithelial desquamation and increase in vessel wall thickening compared with irradiation alone. However, we didn't find any protective effect of carnitine on epithelial desquamation and increase in vessel wall thickening. Both of them has not any protective effect on stromal edema. In conclusion, this study showed that the acute radioprotective effect of amifostine on bladder was higher than carnitine.

Key words: Radiotherapy, bladder, amifostine, carnitine, rat

KAYNAKLAR

1. Cox JD, Guse C, Asbell S, Rubin P, Sause WT. Tolerance of pelvic normal tissues to hyperfractionated radiation therapy: results of protocol 83-08 of the Radiation Therapy Oncology Group. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1988;15(6):1331-6.

2. Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics. CA Cancer J Clin 2010;50(1):7-33.

3. Wingo PA, Cardinez CJ, Landis SH, Greenlee RT, Ries LA, Anderson RN. Long-Term trends in cancer mortality in the United States, 1930-1998. Cancer 2005;103(12):2658.

4. Engin K, Erişen L. Baş-boyun kanserleri. Bursa: Nobel Tıp Kitabevi, 2003:754-5.

5. Wasserman TH. The role of amifostine as a radioprotector. Oncology (Williston Park) 2001;15(10):1349-60.

6. Özalpan A. Temel Radyobiyoloji. 1. basım. İstanbul: Haliç Üniversitesi Yayınları, 2001:1-217.

7. Tokatlı F, Uzal C, Doganay L, Kocak Z, Kaya M, Ture M. The potential cardioprotective effects of amifostine in irradiated rats. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2004;58(4):1228-34.

8. Uzal C, Altun G, Caloglu M, Ergulen A, Altaner S, Yigitbasi O. The protective effect of amifostine on radiation-induced acute pulmonary toxicity: Detection by Tc-99m DTPA transalveolar clerances. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2004;60(2):564-9.

9. Moreno FA, Macey H, Schreiber B. Carnitine levels in valproic acid-treated psychiatric patients: A cross-sectional study. J Clin Psychiatry 2005;66(5):555-8.

10. Goa KL, Brogden RN. L-Carnitine. A preliminary review of its pharmacokinetics, and therapeutic use in cardiac disease and primary and secondary carnitine deficiencies in relationship to its role in fatty acid meetabolism. Drugs 1987;34(1):1-24.

11. Izgut-Uysal VN, Agac A, Derin N. Effect of carnitine on stress-induced lipid peroxidation in rat gastric mucosa. J Gastroenterol 2001;36(4):231-6.

12. Dokmeci D, Akpolat M, Aydogdu N, Uzal C, Doganay L, Turan FN. The protective effect of L-carnitine on ionizing radiation-induced free oxygen radicals. Scand J Lab Anim Sci 2006;33(2):75-83.

13. Korkut G, Karabay K. Üroloji. İstanbul: Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, 1985;46-9.

14. Lewis WH, The Urınary Bladder. In: Williams PL, Warwick R, Dayson M, Bannister LH (Eds.). Anatomy of the human body Henry Gray. London: Churchill Livingstone 1989.p.1416-21.

15. Wahle GA, Young GPH, Raz S. Anatomy and pathophysiology of pelvic support. In: Raz S (Ed.). Female Urology 4th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1996.p.635-41.

16. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. Ankara: Güneş Kitabevi,1997:401-6.

17. Reuter VE. Urinary bladder and renal pelvis. In: Stenberg SS (Ed). In histology forpathologists. 2th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1997.p.835-47.

18. Dröge W. Free radikals in the physiological control of cell function. Physiol Rev 2002;82(1):47-95.

19. Robbins MEC, Zhao W. Chronic oxidative stress and radiation late normal tissue injury: a review. Int J Radiat Biol 2004;80(4):251-9.

20. Chao KSC, Perez CA, Brady LW. (Çeviri: C. Gemici). Radyasyon onkolojisi tedavi kararları. İstanbul: Nobel tıp kitabevi; 2004:4-5.

21. Fajardo LF. The pathology of ionizing radiation as defined by morphologic patterns. Acta Oncol 2005;44(1):13-22.

22. Hueper WC, Fisher CV, Forero DC. The pathology of experimental roentgen-cystitis in dogs. J Urol 1942;47(2):156-67.

23. Withers RH. Biologic basis of radiation therapy. In: Perez CA, Brady LW (Eds.). Principles and practice of radiation oncology. 5th. Philadelphia: Lippincott Co;1992.p.64-98.

24. Vıswanathan AN, Yorke ED, Marks LB, Eıfel PJ, Shipley WU. Radiation dose-volume effects of the urınary bladder. Int J Radiation Oncology Biol Phys 2010;76(3):116-22.

25. Elliott SP, Malaeb BS. Long-term urinary adeverse effect of pelvic radiotherapy. World J Urol 2011;29(1):35-41.

26. Spencer CM, Goa KL. Amifostine. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential as a radioprotector and cytotoxic chemoprotector. Drugs 1995;50(6):1001-31.

27. Yuhas JM. Active versus passive absorption kinetics as the basis for selective protection of normal tissues by S-2-(3-aminopropylamino)-ethylphosphorothioic acid. Cancer Res 1980;40(5):1519-24.

28. Blumberg AL, Nelson DF, Gramkowski M, Glover D, Glick JH, Juhas JM et al. Clinical trials of WR-2721 with radiation therapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1982;8(3-4):561-3.

29. Kouvaris JR, Kouloulias VE, Vlahos LJ. Amifostine: the first selective-target and broad-spectrum radioprotector. Oncologist 2007;12(6);738-47.

30. Vijgh WJ, Peters GJ. Protection of normal tissues from the cytotoxic effects of chemotherapy and radiation by amifostine (Ethyol): Preclinical aspects. Semin Oncol 1994;21(5 Suppl 11):2-7.

31. Hensley ML, Schuchter LM, Lindley C, Meropol NJ, Cohen GI, Broder G et al. American Society of Clinical Oncology clinical practice guidelines for the use of chemotherapy and radiotherapy protectants. J Clin Oncol 1999;17(10):3333-55.

32. Glover D, Riley L, Carmichael K, Spar B, Glick J, Kligerman MM et al. Hypocalcemia and inhibition of parathyroid hormone secretion after administration of WR-2721 (a radioprotective and chemoprotective agent). N Engl J Med 1983;309(19):1137-41.

33. Koukourakis MI, Kyrias G, Kakolyris S, Kouroussis C, Frangiadaki C, Giatromanolaki A et al. Subcutaneous administration of amifostine during fractionated radiotherapy: a randomized phase II study. J Clin Oncol 2000;18(11):2226-33.

34. Sasse AD, Clark LG, Sasse EC, Clark OA. Amifostine reduces side effects and improves complete response rate during radiotherapy: Results of a metaanalysis. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2006;64(3):784-91.

35. Schuchter LM. Guidelines for the administration of amifostine. Semin in Oncol 1996;23(4 Suppl 8):40-3.

36. Peters GJ, van der Vijgh WJ. Protection of normal tissues from the cytotoxic effects of chemotherapy and radiation by amifostine (WR-2721): Preclinacal aspects Eur J Cancer 1995;31(A Suppl 1):1-7.

37. Protectıve effect of amıfostıne durıng fractıonated radıotherapy ın patıents with atıents with pelvic carcınomas: Results osults of a randomized trial. Int J Radiation Oncology Biol Phys 2003;56(4):1154-60.

38. Mitchell ME. Carnitine metabolism in human subject. I. Normal metabolism. Am J Clin Nutr 1978;31(2):293-306.

39. Mansour HH. Protective role of carnitine ester against radiation-induced oxidative stres in rats. Pharmacol Res 2006;54(3):165-71.

40. Tein I. Carnitine transport: Pathophysiology and metabolism of known molecular defects. J Inherit Metab Dis 2003;26(2-3):147-69.

41. Carter AL, Abney TO, Lapp DF. Biosynthesis and metabolism of carnitine. J Child Neurol 1995;10(2):3-7.

42. Rebouche CJ, Seim H. Carnitine metabolism and its regulation in microorganisms and mammals. Annu Rev Nutr 1998;18:39-61.

43. Vaz FM, Wanders RJ. Carnitine biosynthesis in mammals. Biochem J 2002;361(3):417-29.

44. Vanella A, Russo A, Acquaviva R, Campisi A, Di Giacomo C, Sorrenti V et al. L-propionyl-carnitine as superoxide scavenger, antioxidant, and DNA cleavage protector. Cell Biol Toxicol 2000;16(2):99-104.

45. Dergisi Duranay M, Akay H, Üre M. Hemodiyaliz hastalarında L-Karnitin tedavisi. Türk Nefro Diyaliz ve Transp Derg 2005;14(2):62-4.

46. Siliprandi N, Di Lisa F, Menabo R, Ciman M, Sartorelli L. Transport and functions of carnitine in muscles. J Clin Chem Clin Biochem 1990;28(5):303-6.

47. Bremer J. The role of carnitine in intracellular metabolism. J Clin Chem Clin Biochem 1990;28(5):297-301.

48. Costell M, O'Connor JE, Grisolia S. Age-dependent decrease of carnitine content in muscle of mice and humans. Biochem Biophys Res Commun 1989;161(3):1135-43.

49. Evans AM, Fornasini G. Pharmacokinetics of L-carnitine. Clin Pharmacokinet 2003;42(11):941-67.

50. Sezen O, Ertekin MV, Demircan B, Karslıoglu I, Erdogan F, Kocer I et al. Vitamin E and L-carnitine, separately or in combination, in the prevention of radiation-induced brain and retinal damages. Neurosurg Rev 2008;31(2):205-13.

51. Arafa HM, Sayed-Ahmed MM. Protective role of carnitine esters against alcohol-induced gastric lesions in rats. Pharmacol Res 2003;48(3):285-90.

52. Evans A. Dialysis-related carnitine disorder and levocarnitine pharmacology. Am J Kidney Dis 2003;41(4 Suppl 4):13-26.

53. Leschke M, Rumpf KW, Eisenhauer T, Fuchs C, Becker K, Kothe U et al. Quantitative assessment of carnitine loss during hemodialysis and hemofiltration. Kidney Int Suppl 1983;16:143-6.

54. Calvani M, Benatti P, Mancinelli A, D'Iddio S, Giordano V, Koverech A et al. Carnitine replacement in end-stage renal disease and hemodialysis. Ann N Y Acad Sci 2004;1033:52-66.

55. Cavallini G. Male idiopathic oligoasthenoteratozoospermia. Asian J Androl 2006;8(2):143-57.

56. Chevion S, Or R, Berry EM. The antioxidant status of patients subjected to total body irradiation. Biochem Mol Biol Int 1999;47(6):1019-27.

57. Atlas E, Ertekin MV, Gundogdu C, Demirci E. L-carnitine reduces cochlear damage induced by gamma irradiation in guinea pigs. Ann Clin Lab Sci 2006;36(3):312-8.

58. Viswanathan AN, Yorke ED, Marks LB, Eifel PJ, Shipley WU. radiation dose-volume effects of the urınary bladder, Int J Radiat Oncol Biol Phys 2010;76(3):116-22.

59. Jaal J, Dörr W. Radiation-induced damage to Mouse urthelial barrier. Int J Radiation Oncology Biol Phys 2010;76(3):116-22.

60. Schreiber H, Oerlert W, Kugler K. Rejeneration and proliferation kinetic of normal and x-irradiated transitional epithelium in the rat. Virchows Arch B Cell Pathol 1969;4(1):30-44.

61. Stewart FA, Lundbeck F, Oussoren Y, Luts A. Acute and late radiation damage in Mouse bladder: a comparison of urınation frequency and cystometry. Int J Radiation Oncology Biol Phys 1991;21(5):1211-9.

62. Lundbeck F, Ulso N, Overgaard. Cystometric evaluation of early and late irradiation damage to the Mouse urinary bladder. J Radiotherapic Oncology 1989;15(4):383-92.

63. Harsolia A, Vargas C, Yan D, Brabbins D, Lockman D, Liang J et al. Predictors for chronic urinary toxicity after treatment of prostete cancer with adaptive three-dimensional conformal radiotherapy: dose-volume analysis of a phase II dose-escalation study. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2007;69(4):1100-9.

64. Antonakopoulos GN, Hicks RM, Berry RJ. The subcellular basis of damage to the human urinary bladder induced by irradiation. J Pathol 1984;143(2):103-16.

65. Suresh UR, Smith VJ, Lupton EW, Haboubi NY. Radiation disease of the urinary tract: Histological features of 18 cases. J Clin Pathol 1993;46(3):228-31.

66. Deville C, Vapiwala N, Hwang WT, Lin H, Bar Ad V, Tochner Z et al. Comparative toxicity and dosimetric profile of whole-pelvis versus prostate bed-only intensity-modulated radiation therapy after prostatectomy. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2011;19;41:1-8.

67. Koukourakis MI, Tsolos C, Touloupidis S. Radical hypofractionated accelerated radiotherapy with cytoprotection for invasive bladder cancer Urology 2007;69(2):245-50.

68. Damron TA, Spadaro JA, Margulies B, Damron LA. Dose response of amifostine in protection of growth plate function from irradiation effects. Int J Cancer 2000;90(2):73-9.

69. Lamproglou I, Djazouli K, Boisserie G, Patin PH, Mazeron JJ, Baillet F. Radiation-induced cognitive dysfunction: the protective effect of ethyol in young rats. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2003;57(4):1109-15.

70. Uğuzalp-Kaldır M, Yürüt-Çaloğlu V, Çoşar-Alas R, Çermik TF, Altaner Ş, Eskiocak S ve ark. Radyasyona bağlı oluşan karaciğer ve böbrek toksisitesini önlemede amifostinin rolü. Türk Onk Derg 2007;22(3):105-17.

71. Jirtle RL, Pierce LJ, Crocker IR, Strom SC. Radiation protection of rat parenchymal hepatocytes with S-2-(3-aminopropylamino)ethylphosphorothioic acid. Radiother Oncol 1985;4(3):231-7.

72. Spencer CM, Goa KL. Amifostine. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential as a radioprotector and cytotoxic chemoprotector. Drugs 1995;50(6):1001-31.

73. Capizzi RL. Clinical status and optimal use of amifostine. Oncology (Williston Park) 1999;13(1):47-59.

74. Kemp G, Rose P, Lurain J, Berman M, Manetta A, Roullet B et al. Amifostine pretreatment for protection against cyclophosphamide-induced and cisplatinin duced toxicities: results of a randomized control trial in patients with advanced ovarian cancer. J Clin Oncol 1996;14(7):2101-12.

75. Bourhis J, Blanchard P, Maillard E, Brizel DM, Movsas B, Buentzel J et al. Effect of amifostine on survival among patients treated with radiotherapy: a meta-analysis of individual patient data. J Clinic Oncol 2011;29(18):2590-7.

76. Bremer J. The role of carnitine in intracellular metabolism. J Clin Chem Clin Biochem 1990;28(5):297-301.

77. Sener G, Paskaloglu K, Satiroglu H, Alican I, Kacmaz A, Sakarcan A. L-carnitine ameliorates oxidative damage due to chronic renal failure in rats. J Cardiovasc Pharmacol 2004;43(5):698-705.

78. Topcu-Tarladacalisir Y, Kanter M, Uzal MC. Role of L-carnitine in the prevention seminiferous tubules damage induced by gamma radiation: a light and electron microscopic study. Arch Toxicol 2009;83(8):735-46.

79. Kocer I, Taysi S, Ertekin MV, Karslioglu I, Gepdiremen A, Sezen O et al. The effect of L-carnitine in the prevention of ionizing radiation-induced cataracts: a rat model. Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol, 2007;245(4):588-94.

80. Yürüt-Çaloğlu V, Durmuş-Altun G, Çaloğlu M, Usta U, Saynak M, Uzal C ve ark. Comparison of protective effect of L-Carnitine and amifostine on radiation-induced toxicity to growing bone: Histopathology and scintgraphy findings. Asian Pacific J Cancer Prev 2010;11(3):661-7.

81. Çaloğlu M, Yürüt-Çaloğlu V, Durmuş-Altun G, Öz-Puyan F, Üstün F, Çoşar-Alas R ve ark. Histopathological and scintigraphic comparisons of the protective effects of L-carnitine and amifostine againts radiation-induced late renal toxicity in rats.Clin Exp Pharmacol Physiol 2009;36(5-6):523-30.

82. İbiş K. Radyoterapinin kalp üzerine oluşturduğu kardiyak hasarı önlemede amifostin ve L-karnitinin etkinliğinin amifostin ile karşılaştırılması (tez). Edirne: Trakya üniversitesi Tıp Fakültesi;2008.

EKLER

Ek 1

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Oturum Sayısı: 4 **Karar Tarihi: 07.06.2010**

KARAR NO: 2010/04.10
Yürütücülüğünü Tıp Fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr Vuslat Yürüt Çaloğlu'un yaptığı Araş. Gör. Dr. Dilek Nurlu'nun tıpta uzmanlık tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2010/024 protokol nolu "Ratlarda radyoterapiye bağlı gelişen akut mesane toksisitesinde amifostin ve L-karnitin etkinliklerinin histopatolojik olarak karşılaştırılması" başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda: Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve Radyasyon Güvenlik Komitesi olurundan sonra çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvani/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Doç.Dr. Burhan AKSU Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Vet.Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivi Üye	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
İlyas ÖZMEN Sivil Üye	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç.Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç.Dr. S. Arzu VARDAR Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Doç. Dr. Nilda TURGUT Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☒ yok	☒ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç.Dr. Ruşen COŞAR-ALAŞ Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç.Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	