

**CYCLOPHOSPHAMİDE'İN KANSEROJENİK  
ETKİSİNİN KALSİYUM KANAL BLOKERLERİ  
(VERAPAMİL) İLE KANDA VE KEMİK İLİĞİNDE  
AZALTILMASI**

**Adnan AYHANCI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Biyoloji Ana Bilim Dalı**

**ŞUBAT-1992**

**CYCLOPHOSPHAMİDE'İN KANSEROJENİK  
ETKİSİNİN KALSIYUM KANAL BLOKERLERİ  
(VERAPAMİL) İLE KANDA VE KEMİK İLİĞİNDE  
AZALTILMASI**

**Adnan Ayhancı**

**Anadolu Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca  
Biyoloji Ana Bilim Dalı  
Zooloji Bilim Dalında  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
olarak Hazırlanmıştır.**

**Danışman: Prof. Dr. Yalçın ŞAHİN**

**ŞUBAT-1992**

Adnan AYHANCI'nın YÜKSEKLİSANS tezi olarak hazırladığı "Cyclophosphamide'in Kanserojenik Etkisinin Kalsiyum Kanal Blokerleri (Verapamil) İle Kanda ve Kemik İliğinde Azaltılması" başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Üye: Prof. Dr. Yalçın ŞAHİN

Üye: Doç. Dr. Ruhi UYAR

Üye: Yard. Doç. Dr. Ayşe MERCANGÖZ

Fen Bilimleri Enstitüsü yönetim Kurulunun.....gün  
ve 3.04-12.....sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Rüstem KAYA

Enstitü Müdürü

## ÖZET

Çalışmamızda antikanser ilaçların en önemlilerinden biri olan Cyclophosphamide'in neden olduğu hematoksisite ve ürotoksisite üzerine Verapamil'in muhtemel koruyucu etkisi normal sıçanlarda test edilmiştir. Son zamanlarda kalsiyum kanal blokerlerinin bazı antineoplastik ilaçların toksisitesini azalttığı ve daha yüksek dozlarda kullanılmalarına olanak sağladığı bildirilmiştir. Bu deneysel çalışmanın amacı Cyclophosphamide nedenli hematoksisite ve ürotoksisitenin en aza indirilmesi veya ortadan kaldırılmasıdır. Elde edilen sonuçlar amacımızı destekler nitelikte bulunmuştur. Deney modelimizde 50, 100 ve 150 mg/kg Cyclophosphamide'in *Rattus norvegicus* (Albino sıçan) lökosit, trombosit, kemik iliği ve mesanedeki toksisiteleri karşılaştırılmıştır. 50 mg/kg Cyclophosphamide verilen deney grubunda lökosit ve trombosit sayılarında %50, kemik iliği çekirdekli hücre sayısında da %72'ye varan azalmalar kaydedilmiştir. 100 mg/kg Cyclophosphamide verilen deney grubunda bu değerlerin çok düştüğü saptanmıştır. Ancak en yüksek toksisitenin 150 mg/kg Cyclophosphamide verildiğinde ortaya çıktığı gözlenmiştir. Bu deney grubunda lökosit sayısı %85, trombosit sayısı %58, kemik iliği çekirdekli hücre sayısı da %94'lere varan bir azalma göstermiştir. Mesanede de Cyclophosphamide dozunun artışına paralel olarak hemoraji, hiperemi ve proliferatif lezyonlar gibi çeşitli bozulmalar saptanmıştır. 2 mg/kg Verapamil'in bu dozlardaki Cyclophosphamide toksisitesini önemli ölçüde azalttığı görülmüştür. Ancak 1 mg/kg Verapamil'in bu dozlardaki Cyclophosphamide toksisitesini azaltmada etkili olmadığı belirlenmiştir.

## SUMMARY

In this study one of the significant anticancerogen medicine, namely Cyclophosphamide is tested on the experimental animals with respect to its causes on hemotoxicity and urotoxicity with the probable role of protection of Verapamil. Recently calcium channel blockers reported to decrease the toxicity of antineoplastic medicines and besides they are reported to be used in high dosage rates. The aim of this experimental study is to remove or reduced to a minimum the effect of Cyclophosphamide on hemotoxicity and urotoxicity. The result obtained supported our claims. In our experimental model, 50, 100 and 150 mg/kg Cyclophosphamide is tested on *Rattus norvegicus* with respect to its leucocyte , thrombocyte , bone marrow and bladder toxicities on a comparative basis , 50 mg/kg Cyclophosphamide given experimental group is found to decrease leucocyte and thrombocyte numbers up to 50% whereas, bone marrow nucleus cell numbers to 72 % . The group which taken 100 mg/kg. Cyclophosphamide showed the above percentage values in less amounts. However, the highest toxicity value is observed in the 150 mg/kg Cyclophosphamide group . In the latest experimental group, the number of leucocyte decreased 85% whereas thrombocyte 58% and bone marrow 94% showed the same trends of decreases. As parallel to the increase in the dosage of Cyclophosphamide in the bladder and decays such as homorrage, hyperemy and prolipherative lesions are observed. It is observed that 2 mg/kg Verapamil decreased the to a great extent the Cyclophosphamide toxicity. However 1 mg/kg Verapamil was not effective in reducing the toxicity of Cyclophosphamide.

## TEŐEKKÜR

Bu tezin gerçekleŐtirilmesinde öncelikle, danışman hocam Prof.Dr. Yalçın ŞAHİN'e, her türlü yardımını esirgemeyen, fikir ve yorumlarıyla beni yönlendiren sayın hocam Doç.Dr. Ruhi UYAR'a, malzeme ve hayvan temininde, histolojik iŐlemlerin yapılmasında, istatistik iŐlemlerde ve fikir teatisinde bulunduğum değerli hocalarım;Prof. Dr. Ersoy CANKÜYER'e, Doç.Dr. Süleyman TOKUR'a, Doç.Dr. Cengiz BAYÇU'ya, Prof.Dr. Kazım ÖZDAMAR'a ve Yrd.Doç.Dr. Ayşe MERCANGÖZ'e en içten saygılarımla teŐekkür ederim.

Ayrıca tezin yazımında ve sayfa düzeninde yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Muhterem TAŐÇI, Sezai KESKİNER, Yılmaz ALTUNER, Cengiz MIŐE, Ümit R. DİNÇER ve Őahika YOLERİ'ye teŐekkürü bir borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET.....	iv
SUMMARY.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
1. 1. Cyclophosphamide (Siklofosfamid=CY).....	1
1. 2. Verapamil (Ver).....	5
2. MATERYAL VE METOD.....	9
2. 1. Deneysel Hayvanlar ve Kimyasal Maddeler.....	9
2. 2. Cyclophosphamide ve Verapamil Uygulaması.....	9
2. 3. Kan Alımı ve Kemik İliği Örneklerinin Hazırlanması.....	9
2. 4. Histolojik ve İstatistiksel Çalışmalar.....	11
3. BULGULAR.....	12
3. 1. Fizyolojik Bulgular.....	12
3. 2. Histopatolojik Bulgular.....	24
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	35
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	38

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa No</u>
1. 1. 1. Cyclophosphamide'in Kimyasal Yapısı.....	2
1. 1. 2. Cyclophosphamide'in Metabolizması.....	3
1. 2. 1. Verapamil'in Kimyasal Yapısı.....	7
3. 1. 1. Deney ve Kontrol Gruplarının Lökosit Değerlerinin Dağılımı.....	19
3. 1. 2. Deney ve Kontrol Gruplarının Trombosit Değerlerinin Dağılımı	20
3. 1. 3. Deney ve Kontrol Gruplarının Kemik İliği Çekirdekli Hücre Değerlerinin Dağılımı.....	21
3. 2. 1. Kontrol Grubu Mesanesi.....	25
3. 2. 2. Kontrol Grubu Mesanesi.....	26
3. 2. 3. 2 mg/kg Ver Verilen Grubun Mesanesi.....	26
3. 2. 4. 50 mg/kg CY Verilen Grubun Mesanesi.....	27
3. 2. 5. 50 mg/kg CY Verilen Grubun Mesanesi.....	27
3. 2. 6. 50 mg/kg CY Verilen Grubun Mesanesi.....	28
3. 2. 7. 50+1 mg/kg CY+Ver Verilen Grupta Mesane.....	28
3. 2. 8. 50+2 mg/kg CY+Ver Verilen Grupta Mesane.....	29
3. 2. 9. 100 mg/kg CY Verilen Grupta Mesane.....	29
3. 2. 10. 100 mg/kg CY Verilen Grupta Mesane.....	30
3. 2. 11. 100+1 mg/kg CY+Ver Verilen Grubun Mesanesi.....	30
3. 2. 12. 100+2 mg/kg CY+Ver Verilen Grubun Mesanesi.....	31
3.2. 13. 150 mg/kg CY Verilen Grupta Mesane.....	31
3. 2. 14. 150 mg/kg CY Verilen Grupta Mesane .....	32
3. 2. 15. 150 mg/kg CY Verilen Grupta Mesane.....	32
3. 2. 16. 150+1 mg/kg CY + Ver Verilen Grubun Mesanesi.....	33
3. 2. 17. 150+2 mg/kg CY + Ver Verilen Grubun Mesanesi.....	33
3. 2. 18. 150+2 mg/kg CY + Vre Verilen Grubun Mesanesi.....	34



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

### Çizelge

2. 2. 1. Uygulanan CY ve Ver Dozlarının Gruplara Göre Dağılımı.....	10
3. 1. 1. 50, 100 ve150 mg/kg CY Verilen Deney Grupları ve Bunların Kontrol Gruplarının Lökosit, Trombosit ve Kemik İliği Çekirdekli Hücrelerinin Ortalama Değerleri.....	12
3. 1. 2. 50+1, 100+1 ve 150+1 mg/kg CY + Ver Verilen Deney Grupları ve Bunların Kontrol Gruplarının Lökosit, Trombosit ve Kemik İliği Çekirdekli Hücrelerinin Ortalama Değerleri.....	14
3. 1. 3. 50+2, 100+2 ve150+2 mg/kg CY + Ver Verilen Deney Grupları ve Bunların Kontrol Gruplarının Lökosit, Trombosit ve Kemik İliği Çekirdekli Hücrelerinin Ortalama Değerleri.....	16

## 1.GİRİŞ

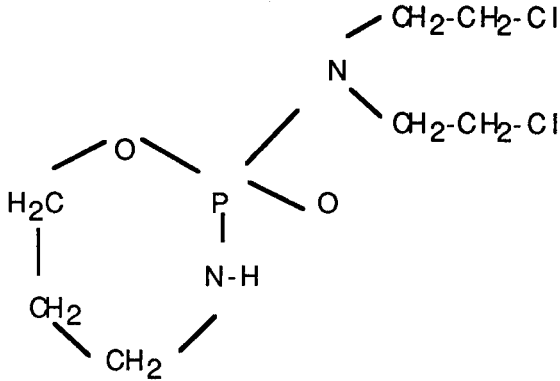
Birinci Dünya Savaşı sırasında zehirli bir gaz olarak kullanılan ve deride toksik vezikül oluşturan kükürtlü hardal (Sulphur mustard, dikloroetil sülfür) maddesinin insanlarda lenfoid doku ve kemik iliğinde atrofi yaptığının saptanması, daha sonraki yıllarda azotlu hardal bileşiklerinin hem kimyasal savaş aracı olarak geliştirilmesine hem de deney hayvanlarındaki tümörlerde denenmesine yol açmıştır. Bu incelemeler sonunda 1948' de bir azotlu hardal olan " Mekloreタミン" adlı ilk alkilleyici ilaç klinikte kullanılmaya başlanmış ve "Modern Kanser Kemoterapisi Çağı" açılmıştır. Alkilleyici ilaçlar uzun süreden beri kullanılan ilaçlar olmaları yanında, halen en fazla kullanılan antineoplastik ilaçlardır (Kayaalp, 1989). Günümüzde kanser kemoterapisi tamamen yerleşmiş bir tedavi yöntemidir ve bugün tedavide 40'tan fazla ilaç kullanılmaktadır. 43 yılda bu ilaçların kullanılmasında birçok gelişmeler kaydedilmiştir. En önemlileri kombine kemoterapi ve ilaçların cerrahi ve/veya radyoterapi ile birlikte kullanılmalarıdır (Sherman ve Sağlık Bakanlığı Ortak Yayını, 1990).

Kanser tedavisinde kullanılan antineoplastik ilaçların bazılarının kansere neden olduğu, gerek insanlar üzerinde yapılan gözlemler, gerekse hayvan deneyleriyle kanıtlanmıştır. Antineoplastik ilaçların en fazla karsinojenik olanları alkilleyici tipte olanlardır; Cyclophosphamide, Karmustin, Klorambusil, Prokarbazin vb. (Kayaalp, 1989). Bu ilaçların yararlarının yanında toksik etkilerinin de olduğunun saptanması, araştırmacıları bu ilaçların toksik etkilerini ortadan kaldırmak ya da bu toksik etkileri en aza indirmek için yoğun çalışmalara itmiştir.

### 1.1.Cyclophosphamide (Siklofosfamid=CY)

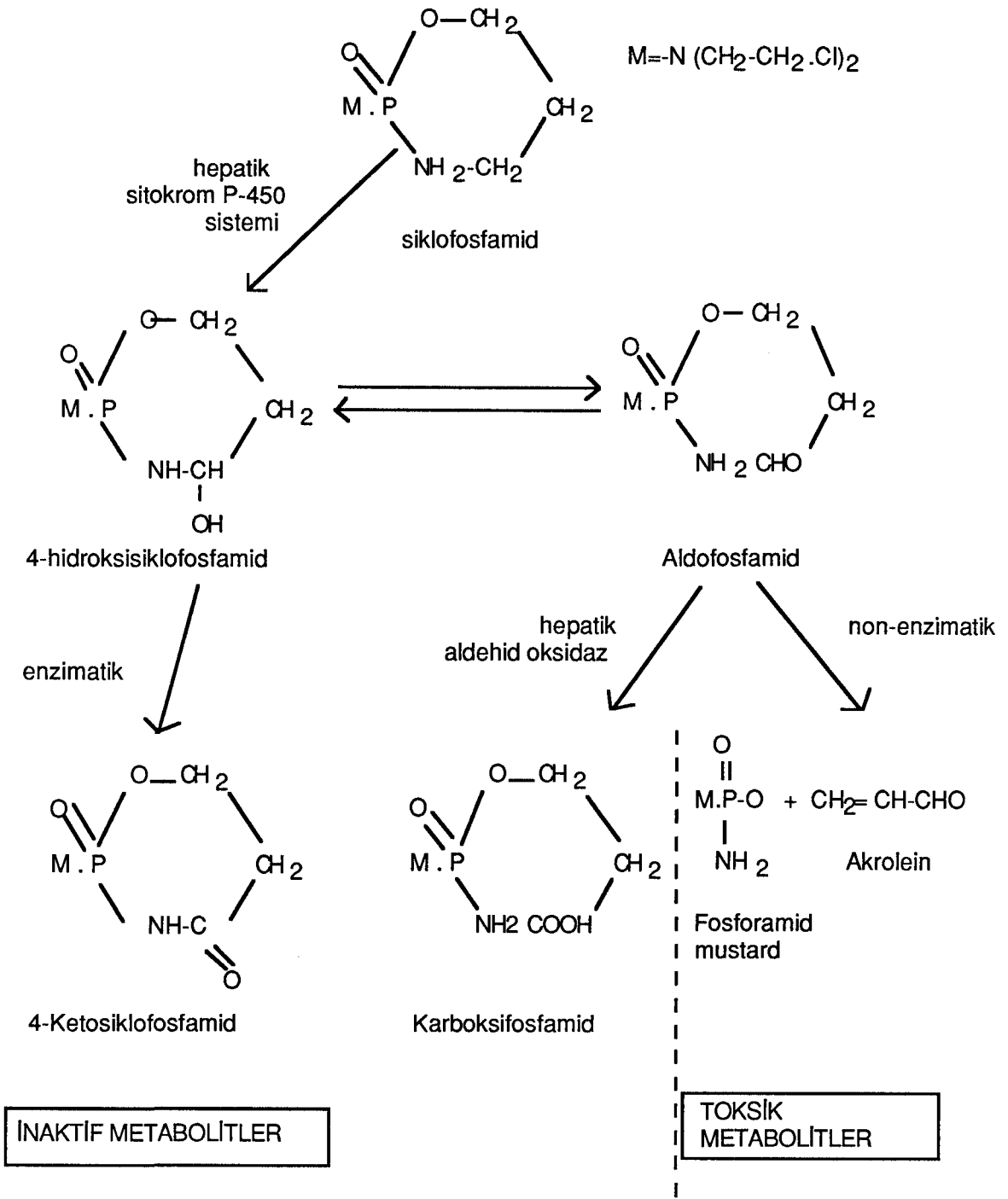
Kanser tedavisinde kullanılmakta olan CY antineoplastik ilaçların alkilleyici ilaçlar grubuna girmektedir ve en fazla kullanılanlardan biridir. Hem intravenöz hem de oral olarak kullanılan CY, karaciğerde etkin metabolitine (muhtemel olarak fosforamid hardalı) dönüşerek etkinlik

kazanır (Kayaalp, 1989). Antitümör ajanı ve bağışıklığı baskılayıcı (immünosuppressif) olan CY bir Oksazafosforin (Oxazaphosphorin)'dir. (Pool, et al., 1988). Kimyasal yapısı aşağıda gösterilmiştir (Budavari, 1989).



Şekil: 1.1.1. Cyclophosphamide'in kimyasal yapısı.

CY'in farmakolojik etkileri metabolik aktivasyonuna bağlıdır. Çünkü inaktif formdadır. Kanserostatik aktivitesi fosforamid mustard (PAM) oluşumunu veren "hepatik mikrozomal karma fonksiyon oksidaz" sistemi ile metabolizmasına bağlıdır (Bernacki, et al., 1987). Hem humoral hem de hücre sel bağışıklığın CY ile baskılandığı bildirilmektedir. CY tarafından oluşturulan bağışıklık baskılayıcılığı ana ilaçtan ziyade onun metabolitlerince meydana getirilmektedir. P-450 monooksijenaz sisteminin etkisi altında CY, 4-hidroksi CY'e metabolize olur. Bu metabolit non-enzimatik olarak aldofosfamid'e yeniden düzenlenir. Bu da PAM ve Akrolein'e yeniden ayrılır. PAM'in DNA'ya bağlanarak hücre bölünmesini baskıladığı, CY'in bağışıklık baskılayıcı ve antitümör etkilerine aracı olduğu düşünülmektedir. Öte yandan, akrolein'in önemli makromoleküllerin sulfidril gruplarıyla çabucak reaksiyona girdiği bilinmektedir. Bu yüzden de bağışıklığın baskılanmasında rol oynadığı da düşünülmektedir (Kawabata, et al., 1990). CY'in metabolizması Şekil: 1.1.2'de gösterilmiştir (Goodman Gilman, et al., 1990).



Şekil: 1.1.2. Cyclophosphamide'in metabolizması.

CY, hem hematolojik hem de solid tümörlerin tedavisinde başarılı bulunmuştur. Kullanılış yerleri; Hodgkin dışı lenfomalar, çocukların akut lenfositik lösemisi, küçük hücreli akciğer kanseri, Hodgkin hücreleri,

pediatrik solid tümörler, meme, over, testis, endometrium, serviks, baş-boyun, prostat ve mesane kanserleri, multipl myeloma, koriokarsinoma'dır. CY, güçlü bağışıklık baskılayıcı etkinlik göstermesi nedeniyle romatoid artirit, Behçet hastalığı, çocukların nefrotik sendromu ve diğer bazı otoimmün hastalıkların tedavisinde de kullanılır (Kayaalp, 1989). CY'nin küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde en aktif ajan olduğu ileri sürülmüştür (Thatcher, et al., 1988).

CY'in en sık görülen yan tesirleri, bulantı, kusma, diğer gastrointestinal bozukluklar ve kemik iliği depresyonudur. Kemik iliği depresyonuna bağlı lökopeni, ilaca başladıktan genellikle 1-2 hafta sonra en düşük değere iner ve son dozdan 10 gün sonra düzelir. Trombositopeni ve bazı hastalarda alopesi de yapar (Kayaalp, 1989). CY'in özellikle daha önce kemoterapi görmüş hastalarda lökopeni yaptığı bildirilmiştir (Bramwell, et al., 1987). CY'in sınır dozunda gösterdiği toksisite kemik iliğini baskılayıcı (Myelosuppresyon) toksisite olduğu ileri sürülmüştür (Thatcher, et al., 1988). CY'in kemik iliği mutajenitesi üzerinde yapılan çalışmalarda bu maddenin insanlarda ve sıçanlarda hematopoietik sistemde kanserojen olduğu gösterildi (Lahdetie, et al., 1990).

CY'in kendine özgü bir yan etkisi steril hemorajik sistit'tir (Urotoksisite). Bu durum, mesanede idrar içindeki ilaçtan ve onun 4-hidroksi metabolitinden çok tahriş edici bir madde olan akrolein oluşmasına bağlıdır. Sistit zamanla fibrozis'e dönüşebilir. Mesane kanseri yaptığı bildirilmiştir (Kayaalp, 1989). Hemorajik sistit'in nadir fakat zorlu bir CY komplikasyonu olduğu ve CY metabolitleri özellikle akroleinin mesane mukozası için toksik olduğu ileri sürülmüştür (Luce and Simons, 1988). Erkek Swiss farelerle yapılan bir çalışmada 200 mg/kg CY'in hemorajik sistit oluşturduğu saptanmıştır (Cavalletti, et al., 1986). Öte yandan CY'in insanlar ve deney hayvanları için kanserojenliği üzerine yeterli kanıt vardır. Epidemiyolojik çalışmalar çok çeşitli neoplazmların (tümörlerin) fazlalığını (özellikle mesane kanseri ve lösemi) ortaya çıkardı (Lahdetie, et al., 1990).

Sitotoksik ilaçlar kanser tedavisinde çok güçlü ilaçlardır. Fakat normal dokulara da genellikle zararlı etkileri vardır. Gerek antimikrobik gerekse antineoplastik tedavinin ana ilkesi, hastanın veya konakçının normal

hücrelerine zarar vermeksizin mikrop veya tümör hücresinin büyümesini ve çoğalmasını durdurmak veya onları yok etmektir. Bakteri hücresinin, yapısı ve biyokimyasal özellikleri yönünden, memeli hücresinden fazla farklı olması nedeniyle hastalık etkeni olan bakterilerin vücutta ilaçlar tarafından selektif olarak inhibisyonu veya yok edilmesi nispeten kolay olmaktadır. Halbuki CY gibi antineoplastik ilaçların kanserli hücreye karşı olan seçicilikleri antibiyotiklerin bakteri hücresine karşı olan seçiciliklerinden daha azdır. Çünkü malign hücre ile normal insan hücresi arasında kalitatif bakımdan fazla fark yoktur; mevcut fark daha çok kantitatif yöndedir. Bu nedenle CY ve benzeri antineoplastik ilaçlar vücutta patolojik bir şekilde çoğalmakta olan kanserli hücreleri yok ettikleri gibi hızlı bir biçimde çoğalan normal hücreleri (örneğin testisin jerminal epitel, barsak ve ağız mukoza epitel, kemik iliğinin hematopoietik hücreleri, kıl folikül hücreleri ve fötüs hücreleri) de yok edebilirler. Özetle, CY immunosupresyon, mutajenite, teratojenite ve karsinojenite gibi etkilere sahiptir. Sayılan bu etkiler CY'in kemoterapide dozunu kısıtlayan etkilerdir (Kayaalp, 1989). Bu yoldan hareketle, CY'in doz kısıtlayıcı toksik etkilerini önleyerek, daha yüksek dozlarda kullanılmasına olanak sağlayan yöntemler geliştirilmiştir. Bu çalışmada, CY'in antineoplastik etkinliğini düşürmeden toksisitesini düşürmeyi ya da ortadan kaldırmayı amaç edindik.

## 1.2. Verapamil (Ver):

Son zamanlarda kalsiyum kanal blokerlerinin (Kalsiyum Antagonistleri) bazı antikanser ilaçlarla etkileşme gösterdikleri bildirilmektedir (Uyar vd., 1990; Bayçu vd., 1990). Hücresel etkinliklerin çoğunun temelinde hücre içi serbest  $Ca^{++}$  iyon değişimi yattığından günümüzde  $Ca^{++}$  'a ikinci haberci gözü ile bakılmaktadır.  $Ca^{++}$  iyonu bütün kas hücreleri, sinir ve sekreter hücreler gibi çok çeşitli hücre tiplerinin işlevlerin düzenleyen en önemli hücre içi ikinci habercilerden biridir. Normal koşullarda hücre zarı  $Ca^{++}$  'a karşı geçirgen değildir. Hücre dışı  $Ca^{++}$  konsantrasyonunun hücre içindeki serbest  $Ca^{++}$  konsantrasyonundan yüksek olması da bunu kanıtlar. Fizyolog, Farmakolog ve Biyokimyacılar için

serbest sitoplazmik  $Ca^{++}$  konsantrasyonu büyük önem taşır, çünkü elektriksel stimuluslar, transmitterler, çeşitli hormonlar ve doku faktörleri son etkilerini hücre içi serbest  $Ca^{++}$  konsantrasyonunu artırarak gösterirler. Hücre içine  $Ca^{++}$  giriş ve çıkışı çeşitli mekanizmalar ile kontrol edilir ve hücre içi serbest  $Ca^{++}$  düzeyleri hep aynı değerlerde tutulur. Endoplazmik retikulum, sarkoplazmik retikulum ve mitokondrion gibi çeşitli organellerde bulunan  $Ca^{++}$  buralarda proteine bağlı durumdadır (Yıldızoğlu-Arı vd., 1988).

Hücre içi  $Ca^{++}$  konsantrasyonunu kontrol eden başlıca sistemler şunlardır.

- a) Pasif sızma
- b) İyonofor sistemleri
- c) Hücreden hücreye  $Ca^{++}$  hareketleri
- d) Kalsiyum pompaları
- e) Vezikülasyon ve endositoz sistemleri
- f) Kalsiyum kanalları

Kalsiyumun hücre içine girişinde rol oynayan en önemli yapı kalsiyum kanallarıdır. Kantitatif olarak  $Ca^{++}$  en fazla bu yapılardan hücre içine girer (Yıldızoğlu-Arı vd., 1988).

Kalsiyum kanalları, hızlı sodyum kanalları ve çeşitli tipteki potasyum kanalları gibi diğer voltaj bağımlı kanallardan farklı özellik ve yapıdadırlar. Myokard ve damar düz kas hücre zarlarından  $Ca^{++}$  geçişini regüle eden iki tip kalsiyum kanalı olduğu düşünülmektedir. Birincisi membran depolarizasyonu ile aktive olan ve hücre membranı boyunca bir voltaj değişimi oluşmasıyla açılan kanallardır. Bu kanallara Voltaj Bağımlı Kalsiyum Kanalları adı verilir. İkinci tip ise Reseptör Bağımlı Kalsiyum Kanalı adı verilen ve nöradrenalin'in alfa reseptörlere bağlanması ile aktive olan kanallardır. Bu kanallar intraselüler  $Ca^{++}$  depolarından sitoplazma içine  $Ca^{++}$  salınmasını regüle ederler (Alpan, 1989).

Genel olarak kalsiyum kanal blokerleri (KKB) voltaj bağımlı kalsiyum kanallarından hücre içine  $Ca^{++}$  girişini etkilerler. Bu ilaçlar yüksek konsantrasyonlarda alfa adrenerjik reseptörler üzerine nöradrenalin ile rekabete girerek reseptör bağımlı kalsiyum kanallarını da bloke ederler. Değişik damar yataklarında bulunan reseptör bağımlı kanallar, aynı dozda verilen blokerlere farklı cevap verirler. Örneğin KKB büyük arter ve ven

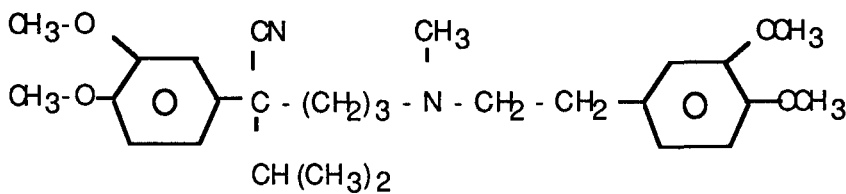
yataklarına çok az etkiliyken koroner, serebral ve ekstremite arterleri üzerine belirgin vazodilatör etki gösterirler. Kalp, iskelet ve damar düz kasında  $Ca^{++}$  mobilizasyonu ile ilgili farklar KKB'nin seçiciliğinde çok büyük önem taşır. KKB benzer etkilerine rağmen birbirinden çok farklı molekül yapılarına sahiptirler. Çok sayıda kalsiyum kanal blokajı yapan madde biliniyorsa da klinikte kullanılması açısından üç önemli KKB grubu vardır.

1)Dihidropiridin türevleri: Nifedipin, Nikardipin, Niludipin, Nimoldipin, Nisoldipin ve Nitrendipin bu gruba girer.

2)Benzotiazepin türevleri: Bu grubun en önemli üyesi Diltiazem'dir.

3)Papaverin türevleri: Bu grupta Verapamil, Gallopamil (D600) ve Tiapamil yer alır (Alpan, 1989).

Verapamil koroner dilatörü olarak çıkarılan ilk kalsiyum antagonistidir. Daha sonra atrioventriküler düğüm üzerinde depresyon yapıcı etkisi bulunmuş ve antiaritmik ilaç olarak intravenöz olarak da kullanılmaya başlanmıştır. Ver, koroner dilatörü ve periferik vazodilatör etkili bir ilaçtır. Koroner kan akımını artırır ve myokardın oksijen gereksinimini düşürür. Negatif inotrop etkisi, kan basıncını düşürmesinden doğan refleks sempatik etkisi ile kısmen tamponlanır. Genellikle sinoatrial düğümü deprese eder ve bradikardi oluşturur. Deney hayvanlarında kısa süren koroner oklüzyonu ile iskemi yaptıktan sonra oklüzyonun açılmasını izleyen reperfüzyon aritmilerinin önlenmesinde rol oynadığı ileri sürülmüştür (Kayaalp, 1989). Verapamil'in kimyasal yapısı papaverin'e benzer (Budavari, 1989).



Şekil: 1.2.1. Verapamil'in kimyasal yapısı.

Ver, mide-barsak kanalından çabuk ve tam olarak absorbe edilir, fakat ağızdan verilen Ver'in sistemik biyoyararlanımı oldukça düşüktür (%10-20), çünkü karaciğerden ilk geçişi sırasında ileri derecede inaktive edilir. Bu



nedenle antiaritmik olarak parenteral yoldan kullanılan dozu, oral dozun yaklaşık 1/10'udur. Akut verilikten sonra eliminasyon yarılanma ömrü 3-6 saattir; kronik tedavi ile 9 saatin üstüne çıkar. Ver, plazma proteinlerine %90 oranında bağlanır (Kayaalp, 1989).

Ver'in sitoprotektif etkileri olduğu öne sürülmüştür. Ayrıca yan etkileri bakımından da oldukça güvenli bir ilaç olduğu ileri sürülmektedir (Başaran vd., 1991). Ver'in adriamycin gibi sitotoksik ajanların etkinliğini artırdığı ve daha yüksek dozlarda kullanılmasına olanak sağladığı belirtilmiştir (Siegal, et al., 1990; Kerr, et al., 1986). Ver'in, kemirgenlerde hepatik monooksijenaz aktivitesini, insanlarda da yağda çözünen bazı ilaçların metabolizmasını inhibe ettiği ileri sürülmektedir (Kerr, et al., 1986). Yüksek dozda CY ve VP-16 (Etoposide) ile yapılan son doz kuvvetlendirme terapisi (Intensification) yaşam süresi üzerine olumlu bir etki yapmadığı ileri sürülmüştür. Burada başlıca problem VP-16 ve diğer ilaçlara gösterilen dirençtir. Bu ilaçlara direncin oluşmasında, arızalı ilaç transpotunun önemli bir faktör olduğu düşünülmüştür. Deneysel bir tümör modeli kullanılarak yapılan bir çalışmada Ver'in VP-16'ya direnci önlediği saptanmıştır. Mekanizma belli değildir, fakat direnç hücrelerinden ilacın dışarı çıkmasının membran seviyesinde engellenebileceği düşünülmektedir (Banham, et al., 1985; Siegal, et al., 1990).

Ver, insan K562 lösemik hücrelere karşı vinkristin toksisitesini artırmış, oysa normal kemik iliği granülosit-makrofaj prokürsörlerine karşı böyle bir etki göstermemiştir (Baeyens, 1988). Ver, vinkristin ve 5-fluorourasilin onkolitik etkinliğini doku kültüründeki hücrelerde artırmış, ancak normal kemik iliğinde toksik etki göstermemiştir (Morrow, et al., 1987). Tiotepa ve doksorubisin Ver ile birlikte kullanıldığında Ver bu ilaçların kemoterapotik etkinliğini artırmıştır (Simpson, et al., 1984).

Tüm bu bilgiler göz önüne alınarak Verapamil'in Cyclophosphamide toksisitesi ile ilgili etkileşme gösterebileceği düşünülmüştür. Bu amaçla Verapamil'in Cyclophosphamide toksisitesini hangi yönde etkilediği kemik iliği, lökosit, trombosit ve mesanede fizyolojik ve histolojik olarak incelenmiştir.

## 2. MATERYAL VE METOD

### 2. 1. Deney Hayvanları ve Kimyasal Maddeler

Her iki cinsten, yaklaşık 140-240 g ağırlığında albino sıçanlar (*Rattus norvegicus*) kullanılmıştır. Her grupta en az 4, en fazla 6 hayvan olacak şekilde 10 ayrı gruba (kontrol grupları hariç) ayrılan hayvanların hepsi enjeksiyondan önce bir haftalık stabilizasyona alınmıştır. Bu çalışmada kullanılan kimyasal maddeler Merck firmasından sağlanmıştır.

### 2. 2. Cyclophosphamide ve Verapamil Uygulaması

Kullanılan ilaçlardan CY (Endoksan-Asta)'in 500 mg'ı 25 ml bidistile suda eritilerek 25 ml/500 mg CY içeren çözelti hazırlanmış, her ampul içinde bulunan 2.2 ml/5 mg Verapamil hidroklorid ise doğrudan kullanılmıştır. Bu kimyasal maddeler ve kontrol gruplarına uygulanan gerekli dozlardaki serum fizyolojik intraperitoneal olarak verilmiştir.

Bütün hayvanlar ilk enjeksiyondan ve öldürülmeden önce tartılarak ağırlıkları saptanmıştır. Sadece CY verilen ilk üç gruptaki hayvanlar, CY enjeksiyonundan 3 gün sonra anestezi edilmiştir. Literatürlerde yaklaşık dozlar (70, 120 ve 200 mg/kg) uygulandığı görüldüğünden deneylerde CY'in 3 farklı dozu (50, 100 ve 150 mg/kg) uygulanmıştır (Lerza, et al. , 1988). Deney gruplarına verilen dozlar Çizelge 2.2.1.'de gösterilmiştir.

Ver uygulamasına CY uygulamasından 3 gün önce başlanmış ve deney sonuna kadar devam edilmiştir. Dördüncü günde hayvanlar tekrar tartılarak uygulanacak CY dozu belirlenmiş, böylece 4. gün CY+Ver verilmiştir. Yedinci gün hayvanlar anestezi edilerek örnekler alınmıştır (Uyar v.d.,1990). Verapamil'in CY ile birlikte 1 ve 2 mg/kg'lık dozlarından başka 2 mg/kg'lık dozuda tek başına kullanılmıştır.

### 2. 3. Kan Alımı ve Kemik İliği Örneklerinin Hazırlanması

Eterle anestezi edilmiş hayvanların kuyrukları kesilerek lökosit ve trombosit sayımları için kan alınmıştır. Lökositler, %2-3'lük Glasiyal Asetik

Asit çözeltisinde sulandırılarak klasik yöntemlerle Thoma lamında sayılmıştır.

Çizelge 2. 2. 1. Uygulanan CY ve Ver dozlarının gruplara göre dağılımı.

DOZLAR	50 mg/kgCY	100 mg/kgCY	150 mg/kgCY	1 mg/kgVer	2 mg/kgVer
I.GRUP	+				
II.GRUP		+			
III.GRUP			+		
IV.GRUP	+			+	
V.GRUP		+		+	
VI.GRUP			+	+	
VII.GRUP	+				+
VIII.GRUP		+			+
IX.GRUP			+		+
X.GRUP					+

Boya maddesi olarak Metilen mavisi kullanılmıştır. Trombositler ise %1'lik Amonyum Oksalat çözeltisinde sulandırılarak sayılmıştır (Uyar vd.,1990).

Kan alınından sonra hafif eter anestezisi ile öldürülen hayvanların bir femuru kaslarından iyice temizlenerek ortaya çıkarılmıştır (Lerza, et al., 1988; Uyar vd., 1990). Kemik iki ucundan kesilerek bir pens yardımıyla tutulmuş, enjektördeki serum fizyolojik femurun bir ucundan basınçla fışkırtılarak iliğin tamamının tüpün içine geçmesi sağlanmıştır. Toplam 5 ml serum fizyolojik ve kemik iliği içeren dereceli tüpteki hücrelerin dağılımının homojen olması için aynı enjektörle tüp içindeki hücreli sıvı birkaç kez çekilip boşaltılmıştır. Bu işlem yapılırken sıvının köpürmemesine dikkat edilmiştir. Kemik iliği içeren tüpler dengelendikten sonra 3000 RPM'de 5 dk. santrifüj edilmiş ve süpernatant enjektörle alınmıştır. Dereceli

tüpte 0.5 ml serum fizyolojik ile hücreleri içeren bu karışım tekrar pastör pipeti ile birkaç kez çekilip boşaltılarak homojen hale getirilmiştir. Daha sonra önceden temizlenip hazırlanmış bir lamel üzerine pastör pipeti ile tüpteki sıvıdan bir damla konmuştur. Bu karışımdan alınan örnekteki çekirdekli hücreler lökosit sayımında olduğu gibi Turck solusyonu ile sulandırılarak Thoma lamında sayılmıştır (Uyar vd., 1990).

#### **2. 4. Histolojik ve İstatiksel Çalışmalar**

Otopsileri yapılan sıçanların mesaneleri dikkatli bir şekilde kesilerek alınmıştır. Mesaneler tartıldıktan sonra , içinde % 10'luk nötral formalin bulunan renkli şişelere konmuştur. Rutin histolojik doku takibinden sonra parafin blokları hazırlanan dokulardan alınan 6 mikronluk kesitler hematoksilin-eosin boyası ile boyanmış ve ışık mikroskobunda incelendikten sonra fotoğrafları çekilmiştir (Uyar vd., 1990).

İstatistiksel uyumluluk için student's t testi uygulanmıştır.

### 3. BULGULAR

#### 3. 1. Fizyolojik Bulgular

50, 100 ve 150 mg/kg CY uygulanan deney gruplarının ve serum fizyolojik verilen kontrol gruplarının lökosit, trombosit ve kemik iliği çekirdekli hücrelerinin ortalama değerleri Çizelge 3.1.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1.1: 50, 100 ve 150 mg/kg CY verilen deney grupları ve bunların kontrol gruplarının lökosit, trombosit ve kemik iliği çekirdekli hücreleri ortalama değerleri.

GRUPLAR	LÖKOSİT (10 <sup>3</sup> )	TROMBOSİT (10 <sup>5</sup> )	KEMİK İLİĞİ (10 <sup>6</sup> )
KONTROL	17 <sup>-</sup> + 1.4 n=5	11 <sup>-</sup> + 1.4 n=5	18 <sup>-</sup> + 2.6 n=5
I.GRUP 50 mg/kg CY	8.3 <sup>-</sup> + 0.7 n=6	6.4 <sup>-</sup> + 0.6 n=6	5.0 <sup>-</sup> + 0.4 n=4
KONTROL	17 <sup>-</sup> + 1.8 n=5	11.4 <sup>-</sup> + 1.0 n=5	18 <sup>-</sup> + 2.6 n=5
II. GRUP 100 mg/kg CY	3.0 <sup>-</sup> + 0.2 n=4	6.2 <sup>-</sup> + 0.4 n=4	1.3 <sup>-</sup> + 0.02 n=4
KONTROL	18 <sup>-</sup> + 0.9 n=5	11 <sup>-</sup> + 0.4 n=5	18 <sup>-</sup> + 3.0 n=5
III.GRUP 150 mg/kg CY	2.4 <sup>-</sup> + 0.2 n=5	4.6 <sup>-</sup> + 2.3 n=5	1.2 <sup>-</sup> + 0.07 n=5

Çizelge 3.1.1.'de görüldüğü gibi 50 mg/kg CY verilen deney grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında lökosit değeri kontrole göre önemli bir azalma göstermiştir. Lökosit sayısındaki bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (P < 0,001). Bu grupta trombosit sayısı da kontrole oranla önemli ölçüde düşüş göstermiştir (P < 0,001). Kemik iliği çekirdekli

hücre sayısı kontrolle karşılaştırıldığında kontrole göre yaklaşık % 72 oranında bir azalma göstermiştir ( $P < 0,05$ ).

100 mg/kg CY verilen deney grubunda lökosit sayısı doz artışına paralel olarak kontrole göre oldukça düşüş göstermiştir ( $P < 0,001$ ). Bu deney grubunda trombosit sayısı kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma göstermiştir ( $P < 0,005$ ). Kemik iliği çekirdekli hücre sayısı kontrolle karşılaştırıldığında yaklaşık % 93 oranında bir azalma göstermiştir ( $P < 0,001$ ).

150 mg/kg CY verilen deney grubunda lökosit sayısı kontrole oranla aşırı bir azalma göstermiştir. Lökosit sayısı kontrole göre yaklaşık % 87 oranında azalmıştır ( $P < 0,001$ ). Bu grupta trombosit sayısı da kontrole göre belirgin bir biçimde azalmıştır ( $P < 0,001$ ). Kemik iliği çekirdekli hücre sayısı da kontrole göre oldukça düşüş göstermiştir ( $P < 0,001$ ). Kemik iliği çekirdekli hücre sayısı bakımından en fazla düşüş bu grupta bulunmuştur.

50, 100 ve 150 mg/kg CY verilen deney grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında lökosit ve trombosit değerleri bakımından istatistiksel olarak aralarında anlamlı bir fark bulunmuştur. Bu deney grupları kemik iliği çekirdekli hücre sayıları bakımından kendi aralarında karşılaştırıldıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. 50 mg/kg CY verilen deney grubu ile 100 mg/kg CY verilen deney grubu lökosit sayısı bakımından karşılaştırıldığında 100 mg/kg CY verilen grupta lökosit sayısı artan doza paralel olarak önemli ölçüde düşüş gösterdi ( $P < 0,001$ ). Lökosit sayısındaki azalma 50 mg/kg CY verilen gruba göre yaklaşık %64 civarında bulundu. 50 ve 100 mg/kg CY verilen bu iki deney grubunda trombosit sayısı da anlamlı bir fark gösterdi ( $P < 0,001$ ). 100 mg/kg CY verilen deney grubunda trombosit sayısı 50 mg/kg CY verilen gruba göre çok az bir düşüş gösterdi. Bu iki deney grubu kemik iliği çekirdekli hücre sayısı bakımından karşılaştırıldıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $P > 0,05$ ).

150 mg/kg CY verilen deney grubunda lökosit sayısı 50 mg/kg CY verilen deney grubuna göre oldukça önemli bir düşüş (%72) gösterdi ( $P < 0,001$ ). 150 mg/kg CY verilen grupta trombosit sayısı da 50 mg/kg CY verilen gruba oranla anlamlı bir azalma gösterdi ( $P < 0,01$ ). Kemik iliği çekirdekli hücre sayısı bakımından 150 mg/kg CY verilen grupla 50 mg/kg

CY verilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $P>0,05$ ).

100 mg/kg CY verilen deney grupları karşılaştırıldığında 150 mg/kg CY verilen grupta lökosit sayısı 100 mg/kg CY verilen gruba göre az (%20) bir düşüş gösterdi ve bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $P<0,01$ ). Trombosit sayısı da artan doza paralel olarak 150 mg/kg CY verilen grupta 100 mg/kg CY verilen gruba oranla önemsenebilir bir azalma gösterdi ( $P<0,05$ ). Kemik iliği çekirdekli hücre sayısı bakımından 100 mg/kg CY verilen grupla 150 mg/kg CY verilen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $P>0,05$ ).

50 mg/kg CY + 1 mg/kg Ver, 100 mg/kg CY + 1 mg/kg Ver ve 150 mg/kg CY + 1 mg/kg Ver verilen deney gruplarının ve serum fizyolojik verilen kontrol gruplarının lökosit, trombosit ve kemik iliği çekirdekli hücrelerinin ortalama değerleri Çizelge: 3.1.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1.2. 50+1, 100+1 ve 150+1 mg/kg CY + Ver verilen deney grupları ve bunların kontrol gruplarının lökosit, trombosit ve kemik iliği çekirdekli hücrelerinin ortalama değerleri.

GRUPLAR	LÖKOSİT ( $10^3$ )	TROMBOSİT ( $10^5$ )	KEMİK İLİĞİ ( $10^6$ )
KONTROL	$18 \bar{+} 0.9$ n=5	$11 \bar{+} 0.6$ n=5	$18 \bar{+} 3.0$ n=5
IV.GRUP 50+1 mg/kg CY+Ver	$8.4 \bar{+} 0.5$ n=4	$11 \bar{+} 1.4$ n=5	$5.0 \bar{+} 0.8$ n=4
KONTROL	$18 \bar{+} 0.6$ n=5	$11 \bar{+} 0.7$ n=5	$18 \bar{+} 3.0$ n=5
V.GRUP 100+1 mg/kg CY+Ver	$4.1 \bar{+} 0.5$ n=4	$9.6 \bar{+} 0.2$ n=5	$1.6 \bar{+} 0.3$ n=4
KONTROL	$17 \bar{+} 0.6$ n=5	$11 \bar{+} 1.0$ n=5	$18 \bar{+} 3.0$ n=5
VI.GRUP 150+1 mg/kg CY +Ver	$3.2 \bar{+} 0.7$ n=5	$7.2 \bar{+} 3.0$ n=6	$1.3 \bar{+} 3.0$ n=5

Çizelge:3.1.2.'de görüldüğü gibi 50 mg/kg CY + 1 mg/kg Ver verilen deney grubunda lökosit sayısı kontrole göre yaklaşık 1/2 oranında bir azalma göstermiştir ( $P<0,001$ ). Trombosit sayısı bakımından kontrole karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $P>0,05$ ). Bu grupta kemik iliği çekirdekli hücre sayısı kontrole karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma göstermiştir ( $P<0,01$ ). Bu azalma kontrole göre yaklaşık %72 civarında bulunmuştur.

100 mg/kg CY + 1 mg/kg Ver verilen deney grubunda lökosit, trombosit ve kemik iliği çekirdekli hücre sayısı kontrole karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma göstermiştir ( $P<0,001$ ). Bu grupta en anlamlı düşüş kemik iliğinde (yaklaşık %91) bulundu. 150 mg/kg CY + 1 mg/kg Ver verilen grupta da lökosit, trombosit ve kemik iliği çekirdekli hücre sayısı kontrole göre çok belirgin bir azalma göstermiştir ( $P<0,001$ ).

50+1, 100 + 1 ve 150+ 1 mg/kg CY Ver verilen deney grupları kendi aralarında karşılaştırıldıklarında Çizelge: 3.1.2.'de de görüldüğü gibi istatistiksel olarak değişik bulgular elde edildi. 50+1 ile 100 +1 mg/kg CY + Ver verilen deney grupları karşılaştırıldığında lökosit sayısı 100+1 mg/kg CY + Ver verilen grupta 50+1 mg/kg CY + Ver verilen gruba göre önemli bir azalma göstermiştir ( $P<0,001$ ). Trombosit sayısı 100 + 1 mg/kg CY + Ver verilen grupta 50+1 mg/kg CY + Ver verilen gruba göre düşüş göstermesine rağmen bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $P>0,05$ ). Kemik iliği çekirdekli hücre sayısı 100+1 mg/kg CY + Ver verilen grupta 50+1 mg/kg CY + Ver verilen gruba göre önemli bir düşüş (%68) göstermiştir ( $P<0,001$ ). 50 + 1 ile 150+1 mg/kg CY + Ver verilen deney grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında lökosit değeri 150+1 mg/kg CY + Ver verilen grupta 50+1 mg/kg CY + Ver verilen gruba kıyasla çok önemli bir azalma göstermiştir ( $P<0,001$ ). Lökositler 50+1 mg/kg CY + Ver verilen gruba göre yaklaşık %62 azalmıştır. Trombosit sayıları karşılaştırıldığında 150+1 mg/kg CY + Ver verilen grupta 50+1 mg/kg CY + Ver verilen gruba kıyasla önemli bir düşüş göstermiştir ( $P<0,05$ ). 50+1 ile 150+1 mg/kg CY + Ver verilen bu iki grup arasındaki en önemli fark kemik iliği çekirdekli hücre sayıları arasında bulunmuştur. 150+1 mg/kg CY + Ver verilen grupta kemik iliği çekirdekli hücre sayısı 50+1 mg/kg CY + Ver verilen gruba göre %74 azalmıştır



( $P < 0,001$ ). 100+1 ile 150+1 mg/kg CY + Ver verilen deney grupları karşılaştırıldığında; lökosit, trombosit ve kemik iliği sayısı 150+1 mg/kg CY + Ver verilen grupta 100+1 mg/kg CY + Ver verilen gruba göre azalma göstermiştir ancak; bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $P > 0,05$ ).

50 mg/kg CY + 2 mg/kg Ver, 100 mg/kg CY + 2 mg/kg Ver, 150 mg/kg CY + 2 mg/kg Ver ve 2 mg/kg Ver verilen deney gruplarının ve serum fizyolojik verilen kontrol gruplarının lökosit, trombosit ve kemik iliği çekirdekli hücre sayısı ortalama değerleri Çizelge: 3.1.3.'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.1.3. 50+2, 100+2, 150+2 mg/kg CY + Ver ve sadece 2 mg/kg Ver verilen deney grupları ve bunların kontrol gruplarının lökosit, trombosit ve kemik iliği çekirdekli hücre sayısı ortalama değerleri.

GRUPLAR	LÖKOSİT ( $10^3$ )	TROMBOSİT ( $10^5$ )	KEMİK İLİĞİ ( $10^6$ )
KONTROL	$18 \bar{+} 1.0$ n=5	$11 \bar{+} 0.7$ n=5	$19 \bar{+} 2.2$ n=5
VII.GRUP 50+2 mg/kg CY+Ver	$17 \bar{+} 1.1$ n=4	$10 \bar{+} 1.4$ n=5	$12 \bar{+} 0.3$ n=4
KONTROL	$18 \bar{+} 1.0$ n=5	$11 \bar{+} 1.0$ n=5	$18 \bar{+} 2.9$ n=5
VIII. GRUP 100+2 mg/kg CY+Ver	$17 \bar{+} 2.8$ n=4	$12 \bar{+} 2.0$ n=6	$9.8 \bar{+} 1.9$ n=5
KONTROL	$18 \bar{+} 0.8$ n=5	$11 \bar{+} 0.6$ n=5	$17 \bar{+} 4.3$ n=5
IX.GRUP 150+2 mg/kg CY +Ver	$14 \bar{+} 3.3$ n=4	$8.5 \bar{+} 1.2$ n=6	$9.1 \bar{+} 1.9$ n=4
KONTROL	$17 \bar{+} 1.4$ n=5	$10 \bar{+} 1.0$ n=5	$18 \bar{+} 2.6$ n=5
2 mg/kg Ver	$17 \bar{+} 1.4$ n=4	$11 \bar{+} 1.4$ n=6	$18 \bar{+} 2.6$ n=6

Çizelge: 3.1.3.'de de görüldüğü gibi 50+2 mg/kg CY + Ver verilen deney grubunda lökosit ve trombosit sayıları kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $P > 0,05$ ). Bu grupta kemik iliği çekirdekli hücre sayısı kontrole kıyasla yaklaşık %37 azalma göstermiştir. Bu azalma istatistiksel olarak çok anlamlı bulunmuştur ( $P < 0,01$ ). 100+2 mg/kg CY+Ver verilen deney grubunda da lökosit ve trombosit sayıları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir ( $P > 0,05$ ). Bu grupta kemik iliği çekirdekli hücre sayısı kontrole göre anlamlı bir azalma (yaklaşık %46) göstermiştir ( $P < 0,001$ ). 150+2 mg/kg CY + Ver verilen deney grubunda lökosit, trombosit ve kemik iliği çekirdekli hücre değerleri kontrol grubuna göre anlamlı bir fark göstermiştir. Bu grupta lökosit sayısı kontrole kıyasla yaklaşık %22 azalmıştır ( $P < 0,05$ ). Trombosit sayısı da kontrole kıyasla %23 azalma göstermiştir ( $P < 0,01$ ). Kemik iliği çekirdekli hücre sayısı kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma (yaklaşık %46) saptanmıştır ( $P < 0,01$ ).

50+2, 100+2 ve 150+2 mg/kg CY + Ver verilen deney grupları istatistiksel olarak kendi aralarında karşılaştırıldı. 50+2 ile 100+2 mg/kg CY + Ver verilen deney gruplarının lökosit ve trombosit sayıları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. Kemik iliği çekirdekli hücre değeri 100+2 mg/kg CY + Ver verilen grupta 50+2 mg/kg CY + Ver verilen gruba kıyasla yaklaşık %18 düşüş göstermiştir ( $P < 0,01$ ). 50+2 ile 150+2 mg/kg CY + Ver verilen deney grupları kıyaslandığında lökosit sayısı bakımından aralarında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Lökosit sayısı 150+2 mg/kg CY + Ver verilen grupta 50+2 mg/kg CY + Ver verilen gruba kıyasla yaklaşık %28 oranında bir azalma göstermesine rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ( $P > 0,05$ ). Trombosit sayısı 150+2 mg/kg CY + Ver verilen grupta 50+2 mg/kg CY + Ver verilen gruba kıyasla anlamlı bir azalma göstermiştir ( $P < 0,05$ ). Kemik iliği çekirdekli hücre sayısı 150+2 mg/kg CY + Ver verilen grupta 50+2 mg/kg CY + Ver verilen grubu kıyasla belirgin bir azalma (yaklaşık %24) göstermiştir ( $P < 0,01$ ). 100+2 ile 150+2 mg/kg CY + Ver verilen deney grupları arasında lökosit ve kemik iliği çekirdek hücre sayıları arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır ( $P > 0,05$ ). Trombosit değeri ise

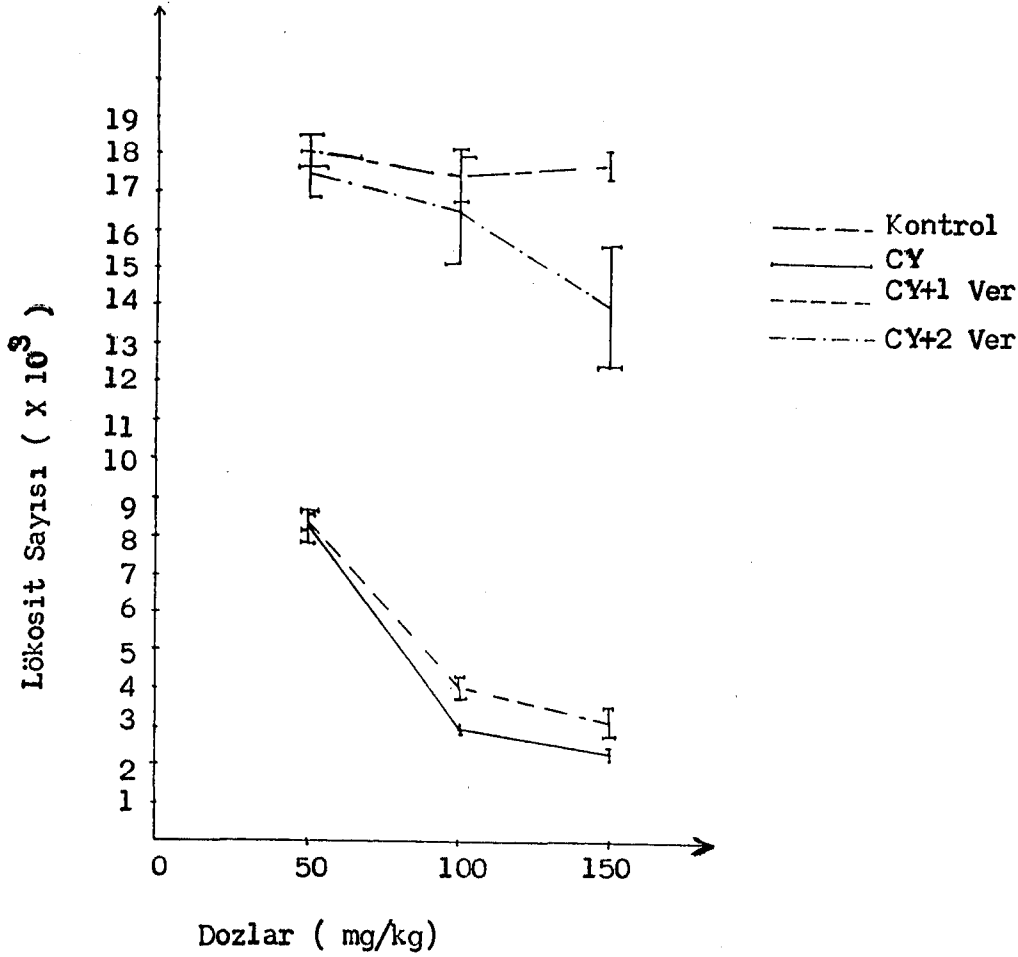
150+2 mg/kg CY + Ver verilen grupta 100+2 mg/kg CY + Ver verilen gruba kıyasla çok belirgin bir azalma göstermiştir ( $P<0,01$ ).

Sadece 2 mg/kg CY Ver verilen deney grubu kontrol grubu ile kıyaslandığında; lökosit, trombosit ve kemik iliği çekirdekli hücreleri sayısı değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $P>0,05$ ).

Bütün deney grupları lökosit, trombosit ve kemik iliği çekirdekli hücre sayısı değerleri bakımından ayrı ayrı karşılaştırılarak sonuçlar grafiksel olarak da gösterilmiştir.

Şekil: 3.1.1.'de görüldüğü gibi 50 mg/kg CY verilen deney grubu 50+1 mg/kg CY + Ver verilen grupla karşılaştırıldığında lökosit değerleri arasındaki fark anlamlı bulunmadı ( $P>0,05$ ). 50 mg/kg CY ile 50+2 mg/kg CY+Ver verilen deney grupları lökosit değerleri bakımından karşılaştırıldığında 50+2 mg/kg CY + Ver verilen grupla lökosit sayısı Şekil: 3.1.1. 'de görüldüğü gibi çok belirgin bir şekilde artış göstermiştir ( $P<0,001$ ). 50+1 ile 50+2 mg/kg CY + Ver verilen gruplar kıyaslandığında yine 50+2 mg/kg CY + Ver verilen grupta lökosit sayısı 50+1 mg/kg CY + Ver verilen gruba göre oldukça önemli bir artış göstermiştir ( $P<0,001$ ). 100 mg/kg CY verilen deney grubu ile 100+1 mg/kg CY + Ver verilen deney grubu lökosit değerleri bakımından kıyaslandığında 100+1 mg/kg CY + Ver verilen grupta lökosit sayısındaki artış istatistiksel olarak çok anlamlı bulundu ( $P<0,01$ ). 100 mg/kg CY verilen grupla 100+2 mg/kg CY + Ver verilen gruba göre lökosit sayısı anlamlı bir azalma gösterdi ( $P<0,001$ ). 100+1 mg/kg CY + Ver + 100+2 mg/kg CY + Ver verilen deney grupları kendi aralarında kıyaslandığında 100+2 mg/kg CY + Ver verilen grupta lökosit sayısı 100+1 mg/kg CY + Ver verilen gruba göre anlamlı bir yükselme gösterdi ( $P<0,001$ ). 150 mg/kg CY verilen deney grubu 150+1 mg/kg CY + Ver verilen grupla karşılaştırıldığında; lökosit değerleri arasında Şekil: 3.1.1.'de görüldüğü gibi anlamlı bir fark bulunmuştur ( $P<0,05$ ). 150 mg/kg CY ile 150+2 mg/kg CY + Ver verilen gruplar ve 150+1 mg/kg CY + Ver ile 150+2 mg/kg CY + Ver verilen gruplarda lökosit değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ( $P<0,001$ ). 150+2 mg/kg CY + Ver verilen deney grubunda lökosit sayısı 150 mg/kg CY ve 150+1 mg/kg CY + Ver verilen

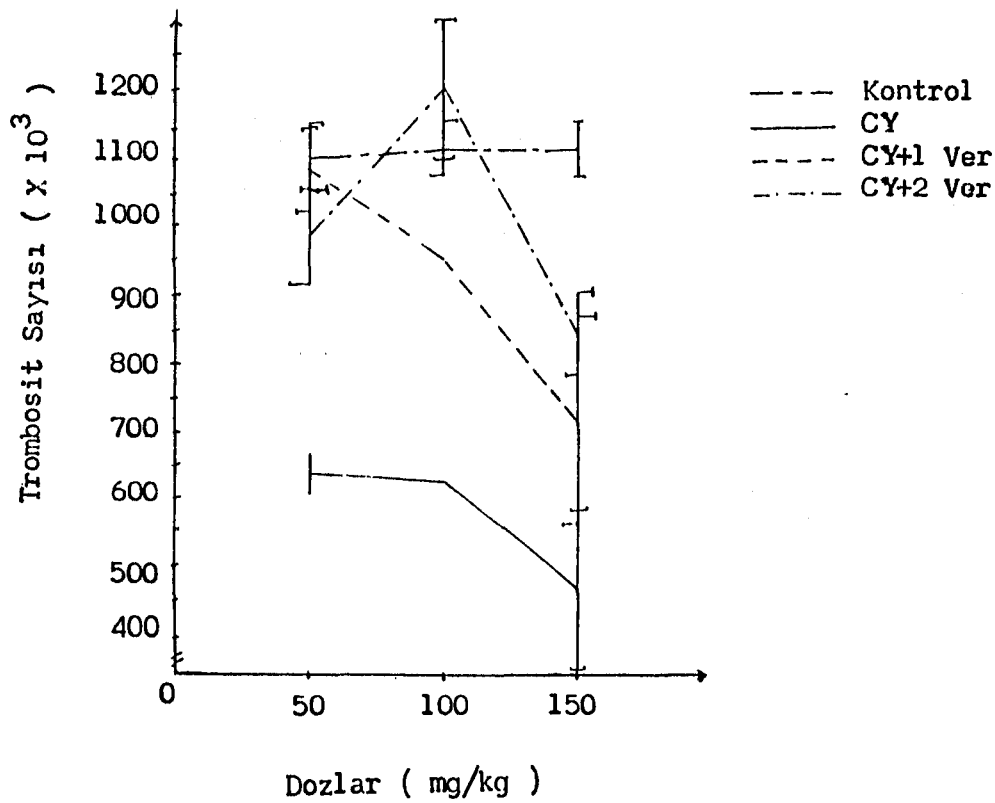
gruplara göre önemli bir artış göstermiştir (Şekil: 3.1.1.).



Şekil: 3.1.1. 50, 100 ve 150 mg/kg CY; 50+1, 100+1 ve 150+1 mg/kg CY + Ver, 50+2, 100+2 ve 150+2 mg/kg CY + Ver verilen hayvan grupları ile bunların kontrol gruplarının lökosit değerleri dağılımı

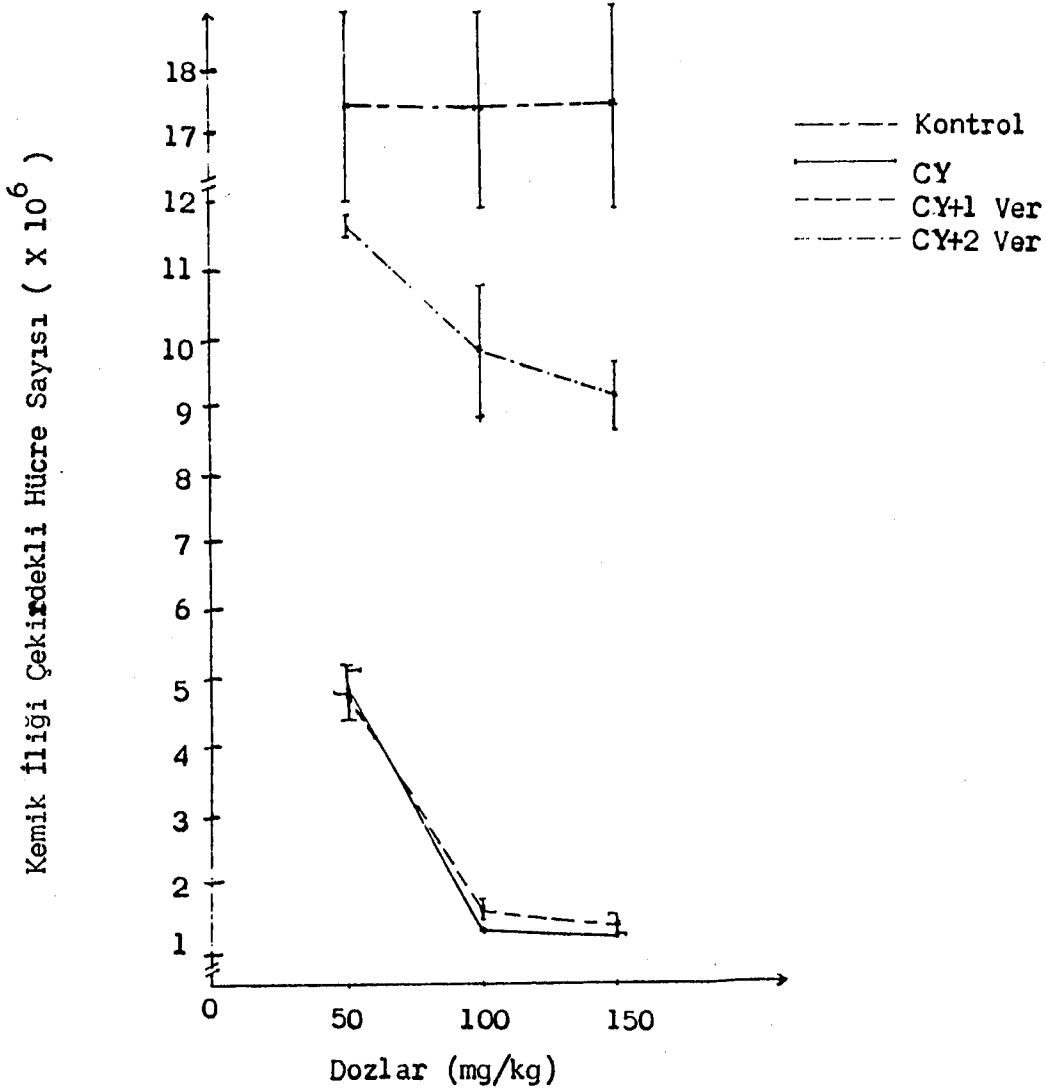
Şekil: 3.1.2.'de de görüldüğü gibi 50 mg/kg CY verilen deney grubu ile 50+1 mg/kg CY + Ver verilen deney grupları trombosit değerleri bakımından kıyaslandığında bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ( $P < 0,001$ ). 50+1 mg/kg CY + Ver verilen grupta trombosit sayısı 50 mg/kg CY + Ver verilen grupta trombosit sayısı 50 mg/kg CY verilen gruba göre yaklaşık %42 oranında artmıştır. 50+2 mg/kg CY + Ver verilen deney grubunda da trombosit sayısı 50 mg/kg CY verilen gruba göre çok anlamlı bir artış göstermiştir ( $P < 0,001$ ). Bu artış yaklaşık %36 civarında bulunmuştur. 50+2 mg/kg CY + Ver verilen deney grubunda trombosit sayısı 50+1 mg/kg CY + Ver verilen gruba göre anlamlı bir fark göstermemiştir ( $P > 0,05$ ). 100 mg/kg

CY verilen deney grubu ile 100+1 mg/kg CY + Ver verilen deney grupları trombosit değerleri bakımından kıyaslandığında 100+1 mg/kg CY + Ver verilen grupta trombosit sayısı 100 mg/kg CY verilen gruba göre yaklaşık %37 oranında artış göstermiştir ( $P<0,001$ ). 100+2 mg/kg CY + Ver verilen grupta da trombosit sayısı 100 mg/kg CY verilen gruba göre çok belirgin bir artış (yaklaşık %48) göstermiştir ( $P<0,001$ ). 100+1 ile 100+2 mg/kg CY + Ver verilen deney grupları trombosit sayıları bakımından kıyaslandığında 100+2 mg/kg CY + Ver verilen grupta 100+1 mg/kg CY + Ver verilen gruba göre anlamlı bir artış bulunmuştur ( $P<0,001$ ). 150 mg/kg CY ile 150+1 mg/kg CY + Ver ve 150+1 ile 150+2 mg/kg CY + Ver verilen deney gruplarında trombosit sayıları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $P>0,05$ ).



Şekil: 3.1.2. 50, 100 ve 150 mg/kg CY; 50+1, 100+1 ve 150+1 mg/kg CY + Ver; 50+2, 100+2 ve 150+2 mg/kg CY + Ver verilen deney grupları ile bunların kontrol gruplarının trombosit değerlerinin dağılımı

150 mg/kg CY verilen deney grubu ile 150+2 mg/kg CY + Ver verilen deney grupları trombosit sayıları bakımından kıyaslandığında; Şekil: 3.1.2.'de de görüldüğü gibi 150+2 mg/kg CY + Ver verilen deney grubunda trombosit sayısı 150 mg/kg CY verilen gruba göre çok belirgin bir artış göstermiştir ( $P<0,01$ ).



Şekil: 3.1.3. 50, 100 ve 150 mg/kg CY; 50+1, 100+1 ve 150+1 mg/kg CY + Ver ile 50+2, 100+2 ve 150+2 mg/kg CY+Ver verilen deney grupları ile bunların kontrol gruplarının kemik iliği çekirdekli hücre değerlerinin dağılımı.

Kemik iliği çekirdekli hücre değerlerinin dağılımı Şekil: 3.1.3'de

gösterilmiştir. 50 mg/kg CY verilen deney grubu ile 50+1 mg/kg CY + Ver verilen deney gruplarında kemik iliği çekirdekli hücre sayısı kıyaslandığında bu iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmadı ( $P>0,05$ ). 50 mg/kg CY verilen grup ile 50+2 mg/kg CY + Ver verilen grup kemik iliği çekirdekli hücre sayısı bakımından kıyaslandığında oldukça anlamlı bir fark bulundu. 50+2 mg/kg CY + Ver verilen grupta kemik iliği çekirdekli hücreleri 50 mg/kg CY verilen gruba göre yaklaşık %53 artmıştır ( $P<0,001$ ). 50+1 ile 50+2 mg/kg CY + Ver verilen grupların kemik iliği çekirdekli hücre sayısı kıyaslandığında 50+2 mg/kg CY + Ver verilen grupta kemik iliği çekirdekli hücre sayısının çok belirgin bir şekilde arttığı görülmüştür ( $P<0,001$ ). 100 mg/kg CY verilen grup ile 100+1 mg/kg CY + ver verilen grubun kemik iliği çekirdek hücre sayıları arasında Şekil: 3.1.3'te de görüldüğü gibi istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $P>0,05$ ). 100 mg/kg CY verilen grup ile 100+2 mg/kg CY + Ver verilen grupta kemik iliği çekirdekli hücreleri çok anlamlı bir farklılık göstermiştir ( $P<0,001$ ). Bu grupta 100+2 mg/kg CY + Ver verilen grupta kemik iliği çekirdekli hücre sayısı 100 mg/kg CY verilen gruba göre yaklaşık %82 artmıştır. 100+1 ile 100+2 mg/kg CY + Ver verilen grupların kemik iliği çekirdekli hücre sayısı da istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ( $P<0,001$ ). 100+2 mg/kg CY + Ver verilen grupta kemik iliği çekirdekli hücre sayısı 100+1 mg/kg CY + Ver verilen gruba göre yaklaşık %76 artmıştır. 150 mg/kg CY verilen deney grubu ile 150+1 mg/kg CY + Ver verilen deney grubu arasında kemik iliği çekirdekli hücre sayısı bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır. 150+1 mg/kg CY + Ver verilen grupta kemik iliği çekirdekli hücre sayısı 150 mg/kg CY verilen gruba kıyasla biraz artmış, ancak bu artış, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $P>0,05$ ). 150 mg/kg CY verilen grup ile 150+2 mg/kg CY + Ver verilen grubun kemik iliği çekirdekli hücreleri çok belirgin bir farklılık göstermiştir. 150+2 mg/kg CY + Ver verilen grupta kemik iliği çekirdekli hücre sayısı 150 mg/kg CY verilen gruba göre yaklaşık %83 artmıştır ( $P<0,01$ ). 150+1 ile 150+2 mg/kg CY + Ver verilen gruplar kemik iliği çekirdekli hücreleri bakımından anlamlı bir fark göstermiştir. 150+2 mg/kg CY + Ver verilen grupta kemik iliği çekirdekli hücre sayısı 150+1 mg/kg CY + Ver verilen gruba göre yaklaşık %79 artmıştır ( $P<0,001$ ).

Kontrol grupları ve sadece 2 mg/kg Ver verilen deney grubundaki hayvanlar hariç diğer gruplardaki hayvanlarda CY dozunun artışına paralel olarak ilk ağırlıklarına oranla son ağırlıklarında 4-30 gr. arasında değişen ağırlık azalmaları kaydedildi. En fazla ağırlık kaybı 50, 100 ve 150 mg/kg CY verilen gruplarda en az ağırlık kaybı ise 50+2, 100+2 ve 150+2 mg/kg CY + Ver verilen gruplarda görüldü. 50+1, 100+1 ve 150+1 mg/kg CY + Ver verilen gruplarda ağırlık azalmaları tek doz olarak verilen 50, 100 ve 150 mg/kg CY verilen gruplara göre daha az olmakla birlikte 50+2, 100+2 ve 150+2 mg/kg CY + Ver verilen gruplardan daha fazla bulundu.

Kontrol grupları ve sadece 2 mg/kg Ver verilen deney grubundaki hayvanlar hariç diğer grupların hepsinde CY enjeksiyonundan birgün sonra kanlı idrar görüldü.



### 3.2. Histopatolojik Bulgular

Bütün hayvan gruplarında mesaneler histolojik olarak incelenmiş olup kontrol grupları (Şekil: 3.2.1, 3.2.2.) ve sadece 2 mg/kg Ver verilen grupta (Şekil: 3.1.3.) herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamıştır.

50 mg/kg CY verilen grupta mesanede epitelial ve mukozal dejenerasyonlar (Şekil 3.2.4, 3.2.5., 3.2.6.) başlamıştır. Bunlar arasında ödemli ve hiperemik mukoza ile yer yer hemoroji görüldü. Ayrıca epitel tabakasında hücre katları kısmen bozulmuş, ancak yoğun deskuamasyon henüz başlamamıştır. Buna rağmen yer yer infiltrasyon görülmektedir. İnfiltrasyon görülen bu bölgelerde epitel doku çok bozulmuştur.

50+1 mg/kg CY + Ver verilen gruptaki hayvanların mesanesinde 50 mg/kg CY verilen gruba göre ödem azalmakla birlikte devam etmektedir. Yer yer hemorajik alanlar görülmektedir. Epitel katları ve müsküler tabaka 50 mg/kg CY verilen gruba göre biraz daha iyi korunmuştur. (Şekil: 3.2.7).

50+2 mg/kg CY + Ver verilen grupta mesanenin 50 mg/kg CY ve 50+1 mg/kg CY + Ver verilen gruplara göre çok daha iyi korunduğu gözlenmiştir. Mesanede belirgin bir düzelme görüldü. Özellikle ödem çok belirgin bir biçimde azalmıştır. Mukozadaki kollegen demetler ve diğer hücresel yapılar normal görünümündedir. Hiperemi oldukça azalmış, hemoraji ise görülmemiştir (Şekil: 3.2.8).

100 mg/kg CY verilen grupta mesane duvarındaki bozulmalar 50 mg/kg CY verilen gruba göre daha fazla olduğu görüldü. Beklenen histopatolojik değişimler; özellikle ödem, nekrotik epitel ve infiltrasyon bu grupta da görüldü. Müsküler tabakada ödeme bağlı ayrılmalar gözlemlendi (Şekil: 3.2.9, 3.2.10).

100+1 mg/kg CY + Ver verilen grupta mesanenin 100 mg/kg CY verilen gruba oranla biraz daha iyi korunduğu görüldü. Hemorajik bölgeler görülmesine karşın ödem azalmış ve müsküler tabaka biraz daha iyi korunmuştur. Hücre sınırları çok belirgin olmamakla birlikte epitel tabakanında kısmen korunduğu görüldü (Şekil: 3.2.11).

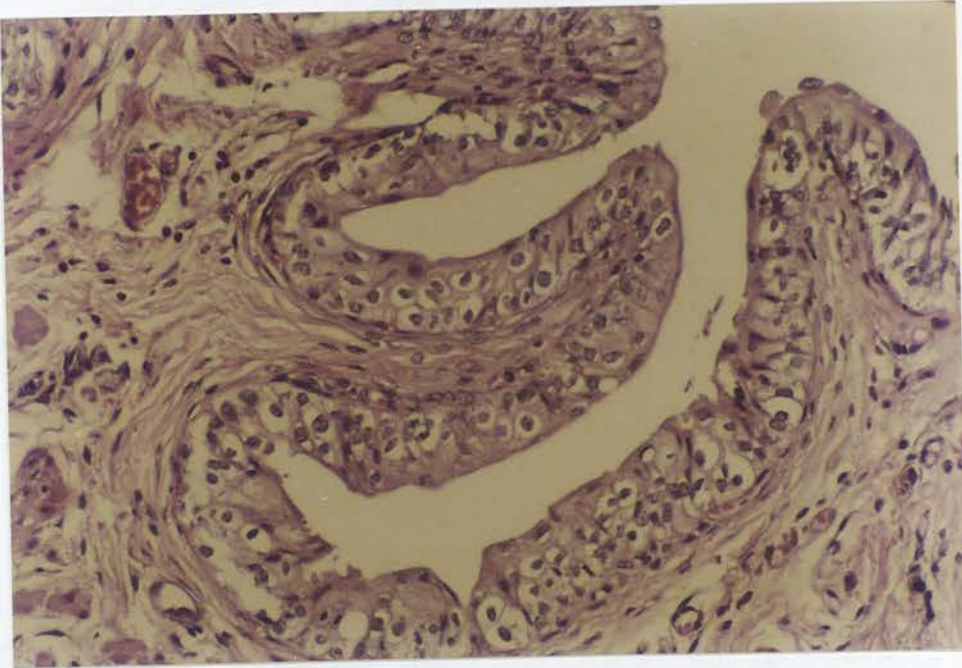
100+2 mg/kg CY + Ver verilen grupta mesanede mukozal ödemin azaldığı ancak hiperemik kapillerin yoğun olduğu görüldü. Ayrıca epitel

içinde ve lümeneye dökülmüş vaziyette proliferatif lezyonlar görüldü. Epitelde iyi korunmuş alanların yanında bozulmuş alanlarda görüldü (Şekil: 3.2.12).

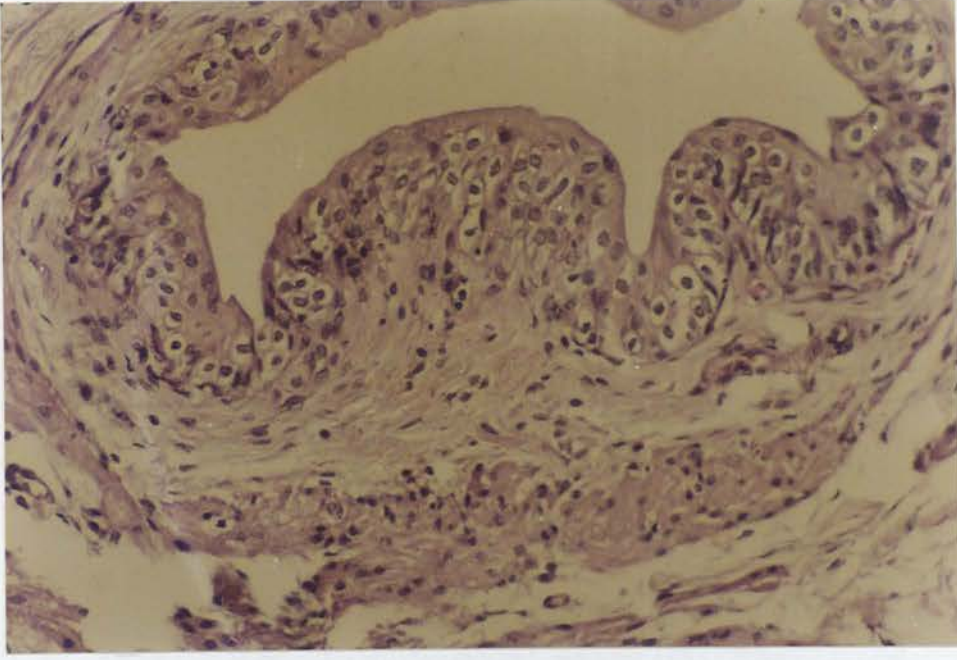
150 mg/kg CY verilen grupta, mesanede diğer gruplara göre ileri derecede dejenerasyonlar gözlemlendi. Mukozada ileri derecede ödem ve hemoraji görüldü. Bazı bölgelerde yoğun hücre infiltrasyonu vardı ve bu bölgelerde epitelin tamamen dökülmüş olduğu görüldü (Şekil: 3.2.13, 3.2.14, 3.2.15).

150+1 mg/kg CY + Ver verilen grupta mesanenin 150 mg/kg CY verilen gruba göre biraz daha iyi korunduğu görüldü. Mukozada hemorajinin azalarak devam ettiği gözlemlendi. Epitelin yer yer bozuk olduğu ancak düzgün yapıdaki epitelede rastlandı. 150 mg/kg CY verilen gruba göre ödem ve hücre infiltrasyonu daha azdı. Müsküler tabakada hafif ödem görüldü (Şekil: 3.2.16).

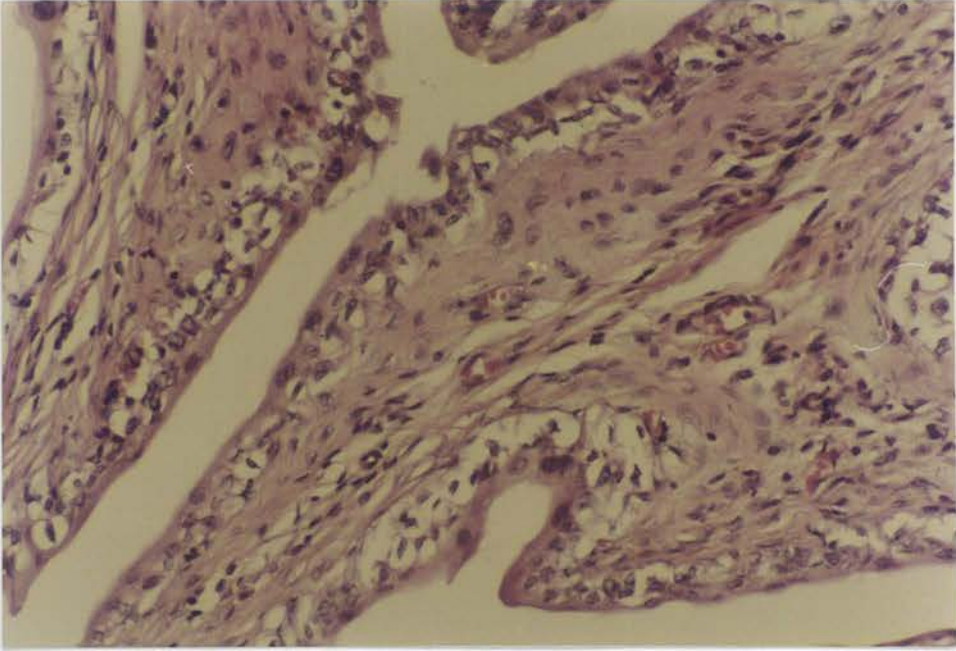
150+2 mg/kg CY + Ver verilen grupta yer yer az ödemli ve hemorajik alanlar görüldü. Bazı bölgelerde proliferatif lezyonlar da gözlemlendi. Epitel tabakası 150 mg/kg CY ve 150+1 mg/kg CY + Ver verilen gruplara göre biraz daha iyi olmakla birlikte yer yer deskuame olmuş bölgelerde vardı (Şekil: 3.2.17, 3.2.18).



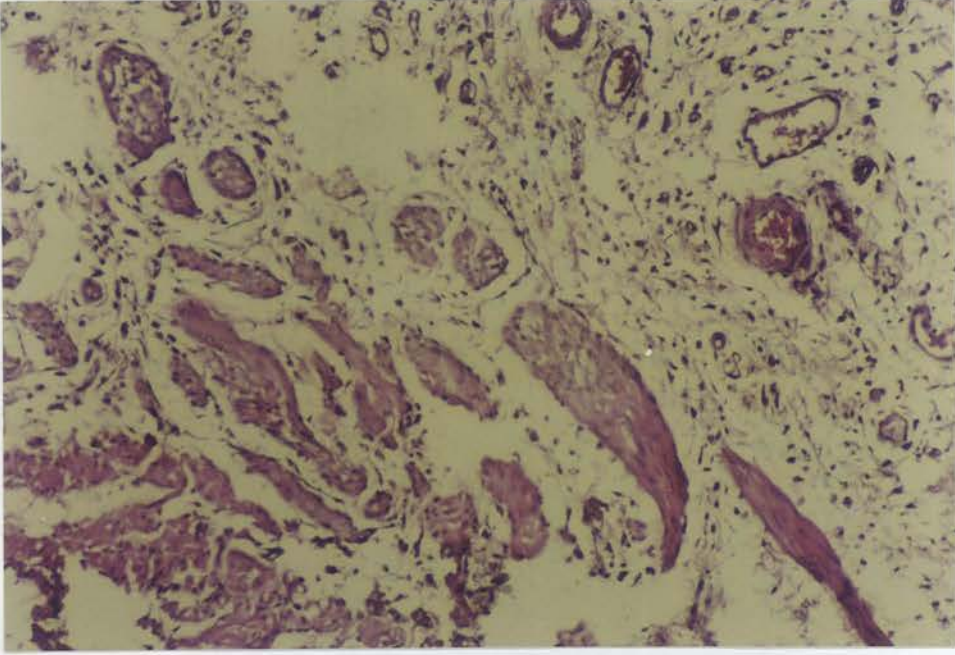
Şekil: 3.2.1. Kontrol Grub: Mesanede epitel ve mukozanın her bölümü açık bir şekilde görülüyor (H.E. X 64).



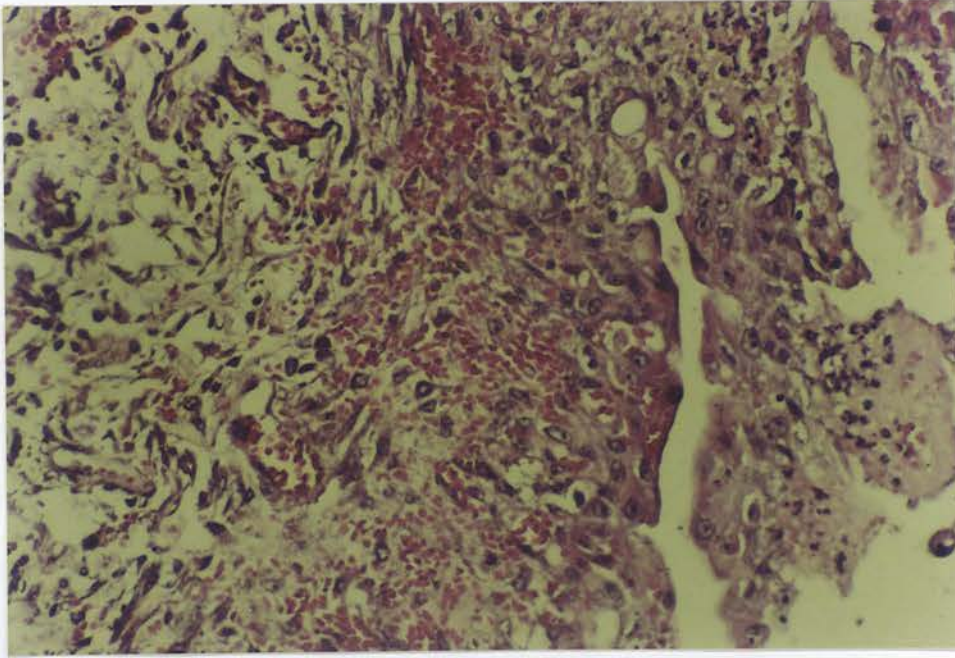
Şekil: 3.2.2. Kontrol Grubu: Mesanede epitel ve mukoza tabakaları değişik bir açıdan görülüyor (H.E. X 64).



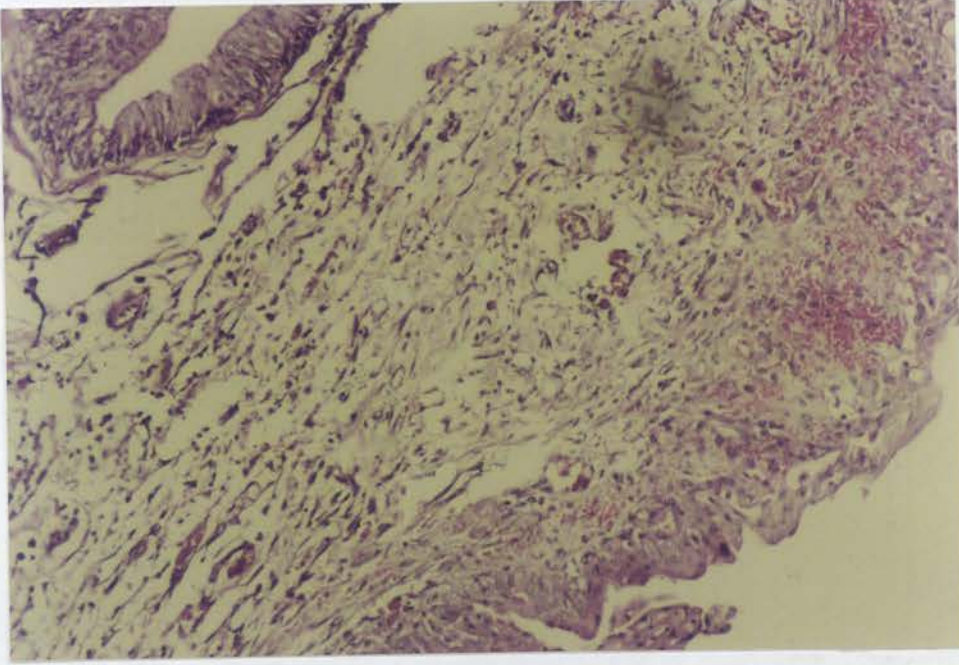
Şekil: 3.2.3. 2 mg/kg Ver verilen grupta mesanede epitelial ve mukozal tabakalar (H.E. X 64).



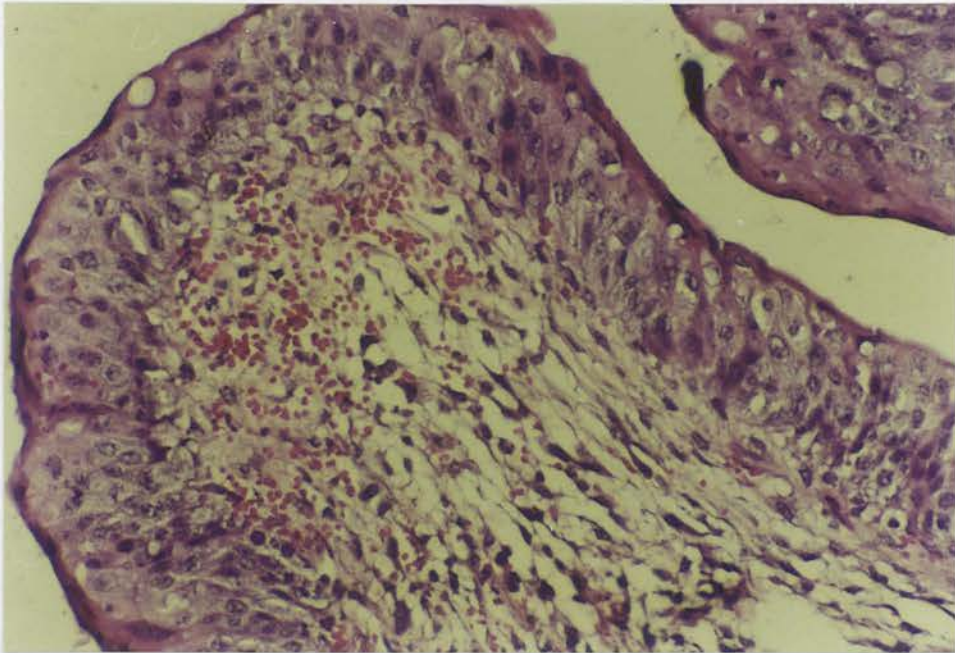
Şekil: 3.2.4. 50 mg/kg CY verilen grupta mesanede ödem, hemorajik sistit başlamış mukoza (H.E. X 32).



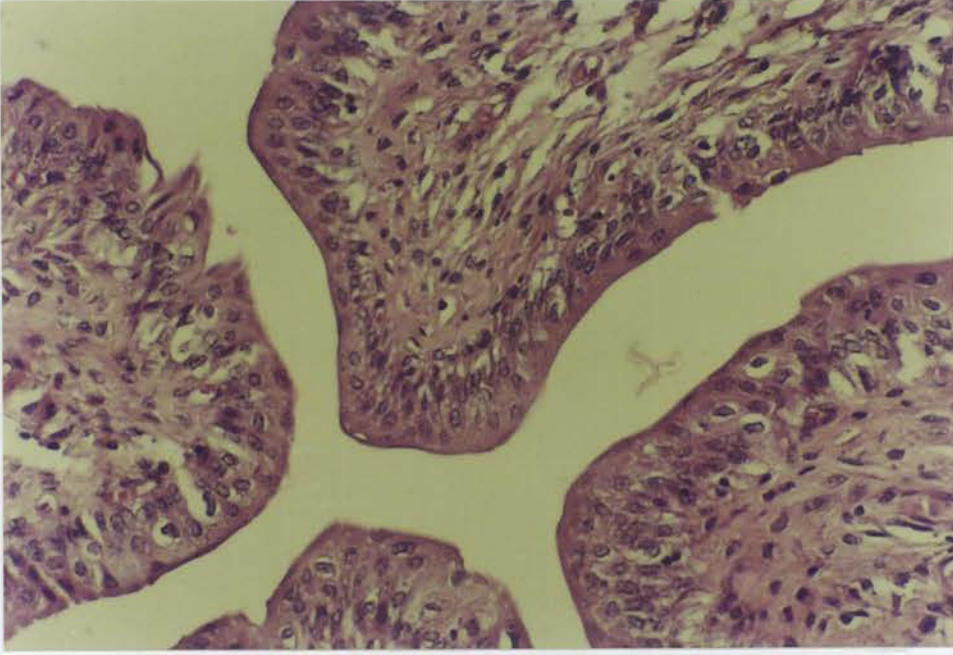
Şekil: 3.2.5. 50 mg/kg CY verilmiş grupta mesanede hemorajik sistit, ödemli mukoza ve yer yer epitel dökülmesi (H.E. X 64).



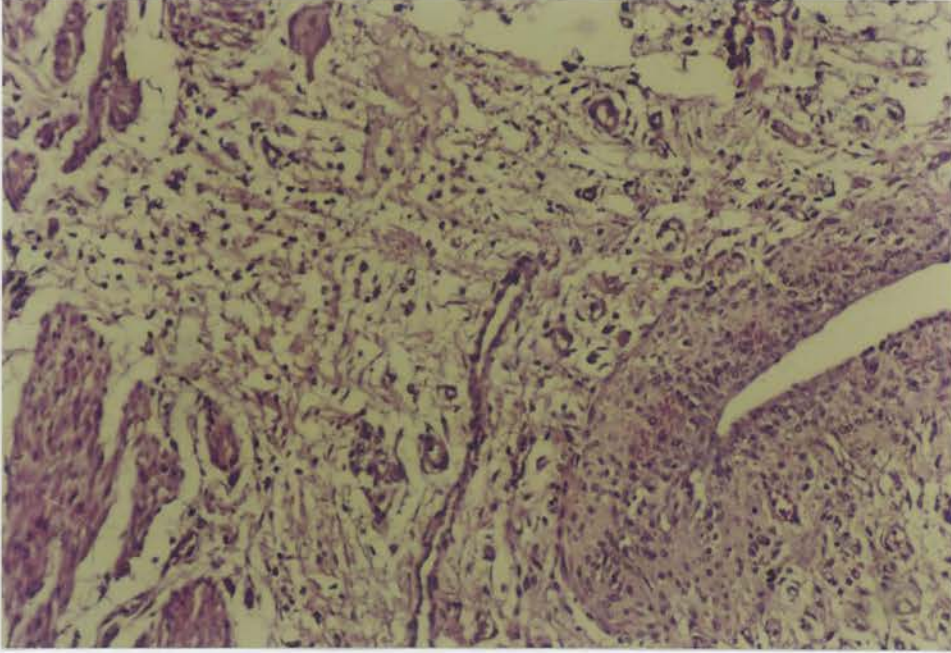
Şekil: 3.2.6. 50 mg/kg CY verilmiş grupta mesanede hemorajik sistit, ödemli mukoza ve epitel dökülmesi (H.E. X 32).



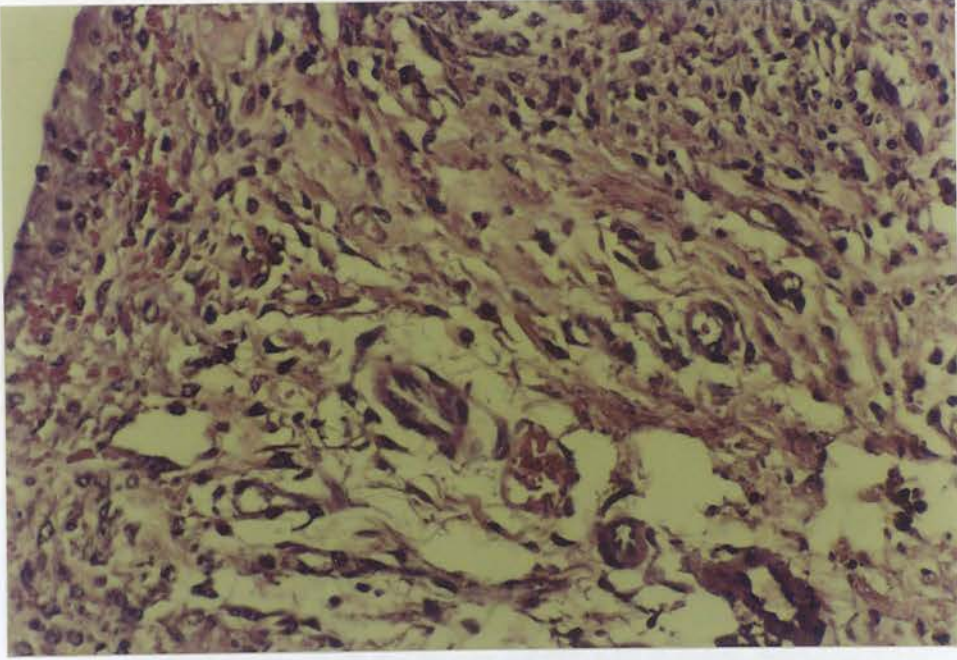
Şekil: 3.2.7. 50+1 mg/kg CY + Ver verilen grupta mesanede hemorajinin devam ettiği ancak epitelin daha iyi konumda olduğu görülüyor (H.E. X 64).



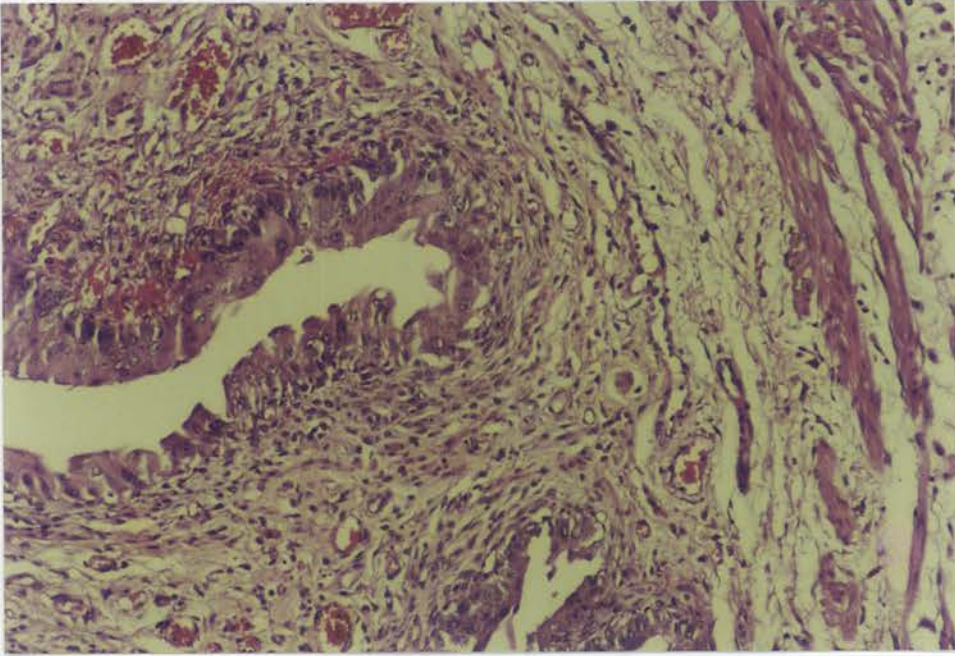
Şekil: 3.2.8. 50+2 mg/kg CY + Ver verilen grupta mesanede epitel ve mukozal tabakaların daha iyi korunduğu görülmekte (H.E. X 64).



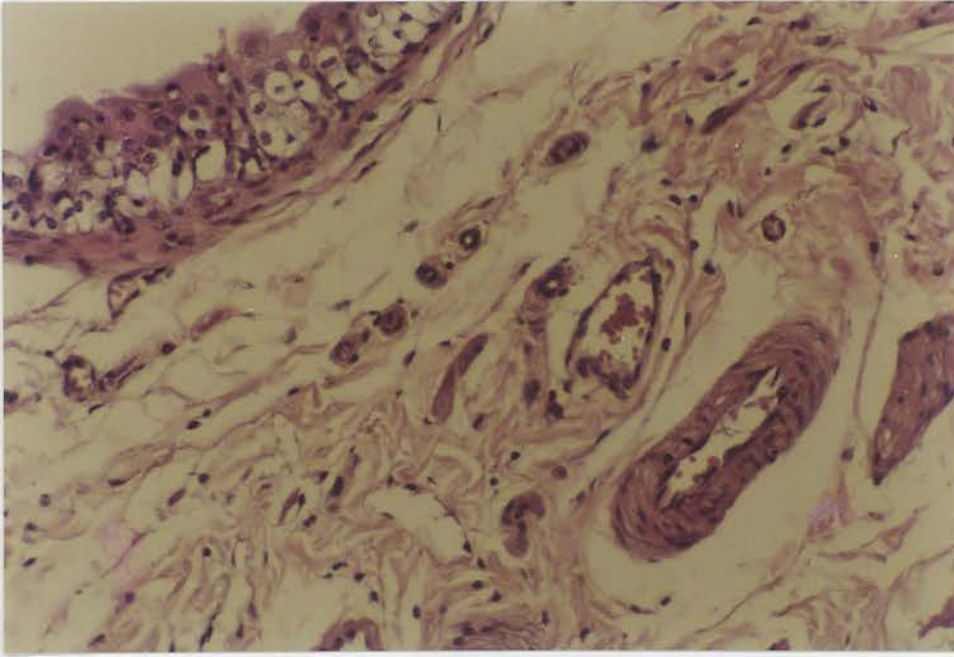
Şekil: 3.2.9. 100 mg/kg CY verilmiş grupta mesanede katları bozulmuş epitel doku ve ödemli mukoza görülmekte, ancak epitel henüz dökülmemiş (H.E. X 32).



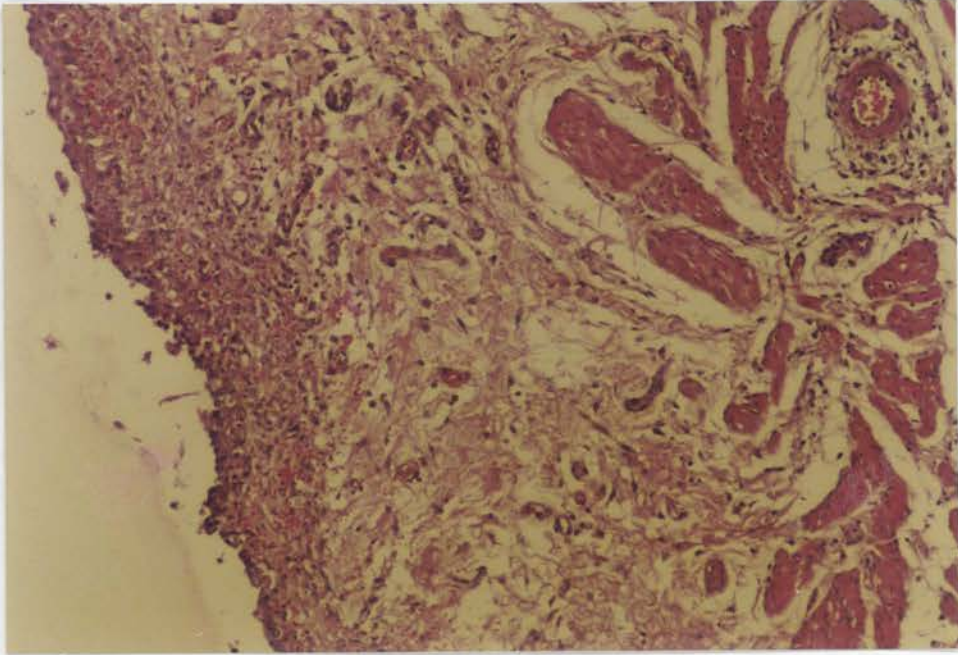
Şekil: 3.2.10. 100 mg/kg CY verilmiş grupta epitel katları iyice bozulmuş mesane (H.E. X 64).



Şekil: 3.2.11. 100+1 mg/kg CY + Ver verilmiş grupta mesanenin epitel katı tam olarak düzgün olmasa da hücreler seçilebilmekte. Mukozada hemoraji devam ediyor (H.E. X 32).

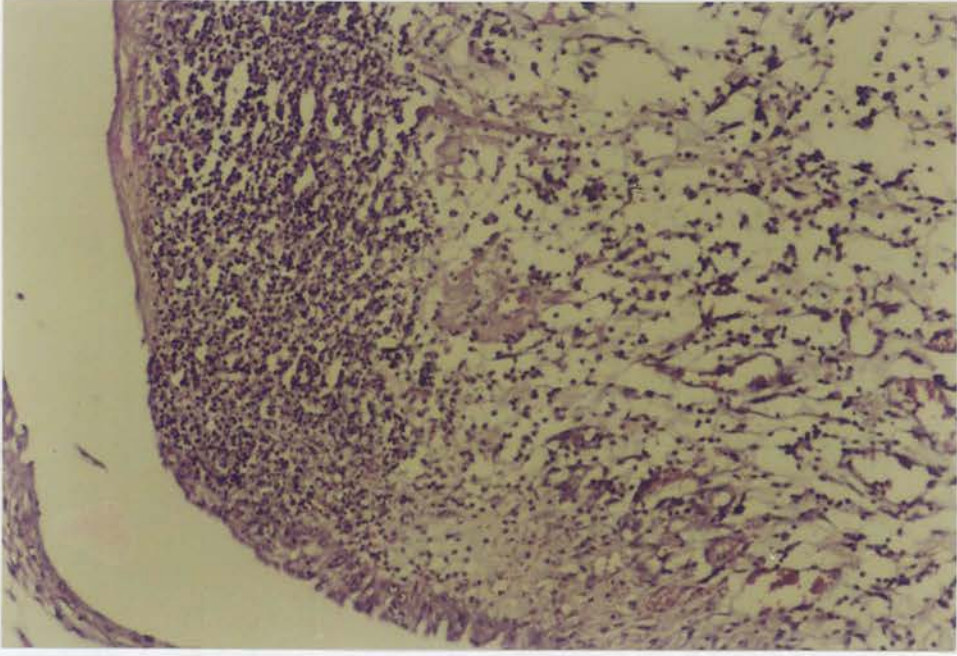


Şekil: 3.2.12. 100+2 CY + Ver verilmiş grupta mesane mukozasında ödem olmakla birlikte hemoraji görülüyor. Epitel bazı bölgelerde iyi korunmuş (H.E. X 64).

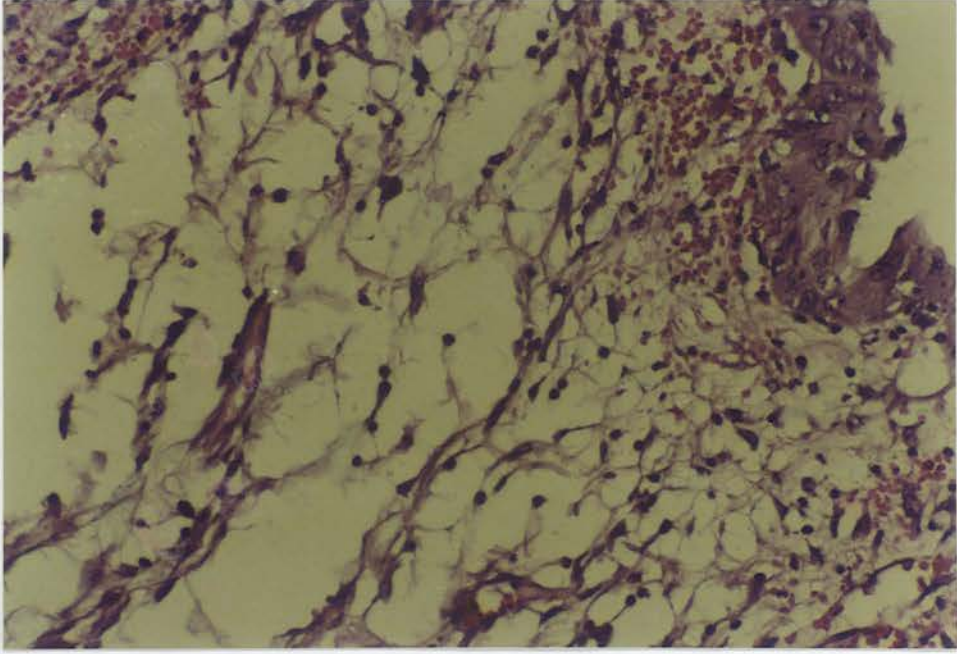


Şekil: 3.2.13. 150 mg/kg CY verilmiş grupta mesanede ödem infiltrasyon, hemoraji ve bir bölgede deskuamasyon görülmekte (H.E. X 32).

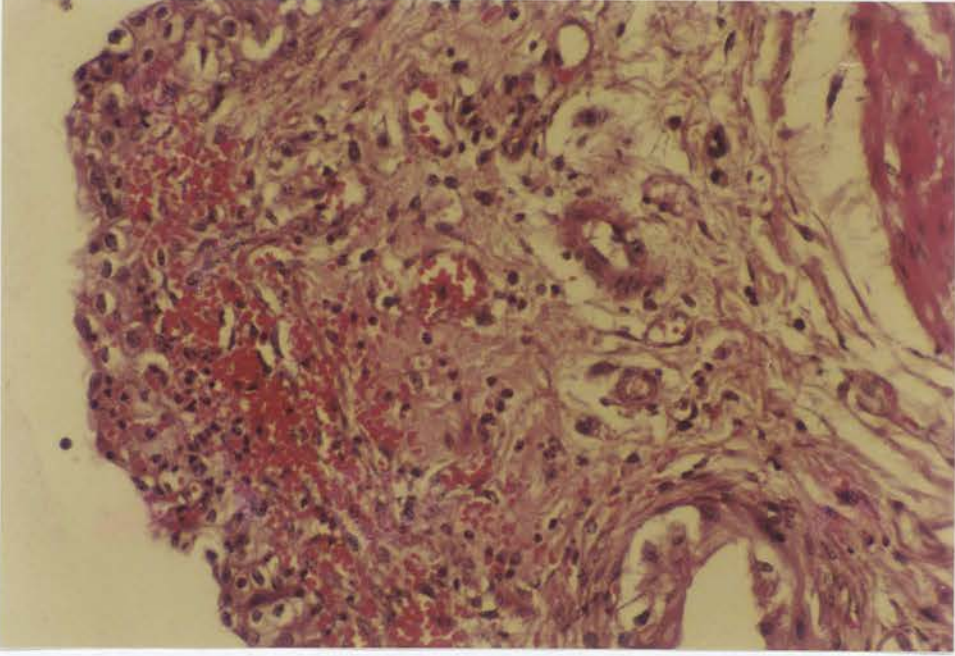




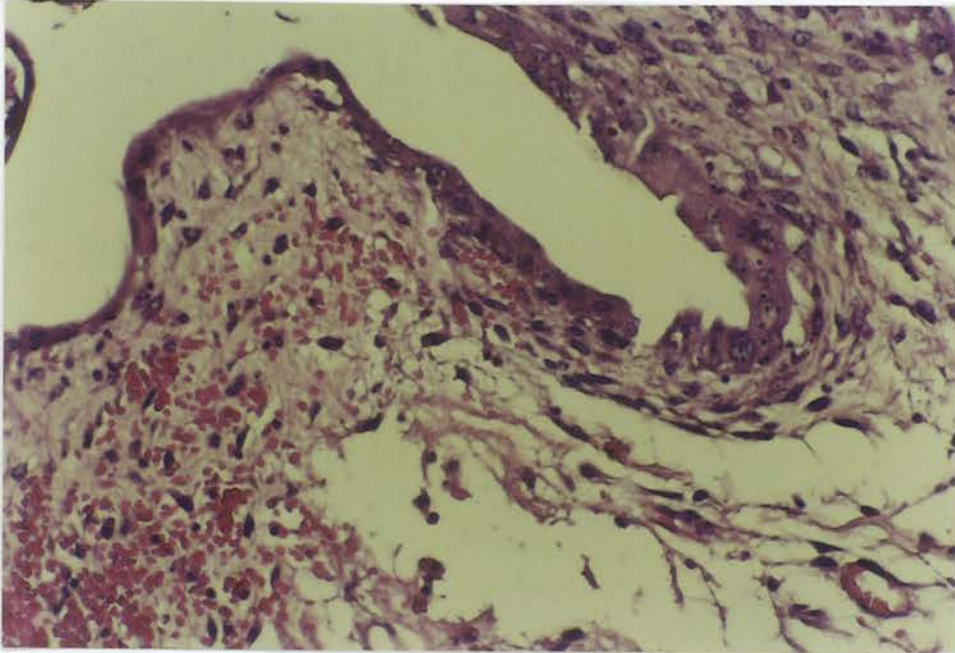
Şekil: 3.2.14. 150 mg/kg CY verilmiş grupta mesanede deskuamasyon, mukozal ödem ve infiltrasyon görülmektedir (H.E. X 32).



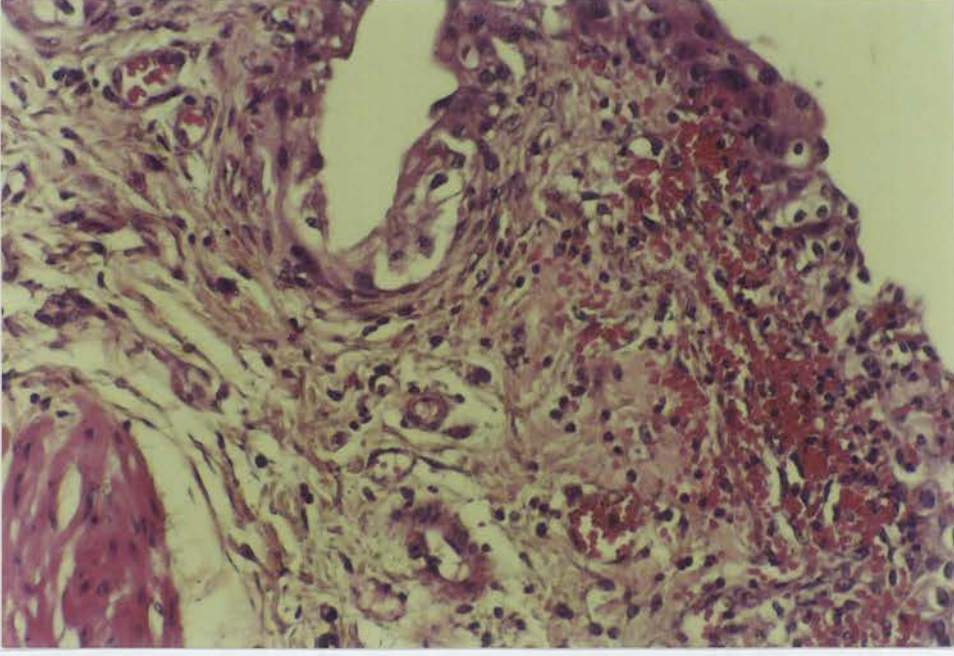
Şekil: 3.2.15. 150 mg/kg CY verilmiş grupta mesanede ödemli mukoza ve hücre infiltrasyonu net bir biçimde görülmekte (H.E. X 64).



Şekil: 3.2.16. 150+1 mg/kg CY + Ver verilmiş grupta mesanede hemorajik alanlar görülüyor. Epitel biraz daha iyi korunmuş (H.E. X 64).



Şekil: 3.2.17. 150+2 mg/kg CY + Ver verilmiş grupta mesanede hemorajinin devam ettiği, epitelin yer yer çok inceldiği ancak korunmuş bölgelerin de olduğu görülmekte (H.E. X 64).



Şekil: 3.2.18. 150+2 mg/kg CY + Ver verilmiş grupta mesanede epitelial ve mukozal ödem net bir şekilde görülmekte, ayrıca hemoraji ve epitel tabakada bozulmalar görülüyor (H.E. X 64).

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

CY, çeşitli insan tümörlerinin tedavisinde kullanılan önemli bir antikanser ilaçtır (Bernacki, et al.,1987). Ancak hemotoksisite, urotoksisite ve kanserojenlik gibi yan etkileri de vardır (Pool, et al.,1988). Deneysel bulgularımızdan çıkan sonuçlar bu varsayımı destekler niteliktedir. Bu çalışmada CY'in toksik aktivitesini ve dolayısıyla koruyucu ajan (Ver)'a bağlı gelişen modifikasyonları denemek için periferal kan hücreleri (eritrositler hariç), kemik iliği çekirdekli hücreleri ve mesanedeki varyasyonları test ettik.

Bir çok deneysel çalışmada CY'in hemapoiyetik sistemde toksik olduğu belirtilmiştir (Al-Safi and Maddocks, 1986; Bernacki, et al.,1987; Osborne, et al.,1987). Gerek periferik kan gerekse kemik iliğinde yaptığımız mikroskopik incelemelerde elde ettiğimiz bulgular, araştırmacılar tarafından ileri sürülen bulgulara benzemektedir. Nitekim, sadece 50, 100 ve 150 mg/kg CY uyguladığımız hayvanların lökosit, trombosit ve kemik iliğindeki çekirdekli hücrelerin sayılarında kontrole kıyasla çok belirgin azalmalar kaydedilmiştir. Histolojik gözlemler sonunda yine bu üç grubun mesanesinde araştırmacılar (Pohl, et al.,1989; Pool, et al.,1988; Luce and Simons, 1988; Cavalletti, et al.,1986; Bernacki, et al.,1987) tarafından ileri sürülen bulgular gözlenmiştir. Ayrıca, sadece CY verilen bu üç grupta % 3-11 arasında değişen kilo kaybı gözlenmiştir. Deneysel bir çalışmada sadece CY verilen lösemili farelerde (DBA/ZN) de kilo kaybı olduğu bildirilmiştir (Bernacki, et al.,1987).

CY'in antitümöral etkinliğinin arttırılabilmesi, yüksek dozda kullanılabilmesine bağlıdır (Osborne, et al.,1987). Ancak kemik iliği depresyonu ve hemorajik sistit oluşturması CY'in yüksek dozlarda kullanılmasını önlemektedir (Osborne, et al.,1987; Al-Safi and Maddocks, 1986). CY terapisinin insanlarda ve sıçanlarda hematopoiyetik sistemde kanserojen olduğu öne sürülmüştür. Lahdetie (1990) ve ark. sıçanlara 30 mg/kg CY verdiklerinde bu sıçanlardan alınan idrar örneklerinin Ames testinde mutajenite gösterdiğini bildirmişlerdir. Diğer taraftan 200 mg/kg CY'in erkek Swiss farelerde hemorajik sistit oluşturduğu öne sürülmüştür (Cavalletti, et al.,1986). Bizim çalışmamızda 50, 100 ve 150 mg/kg CY'in hemorajik sistit oluşturduğu belirlendi. Ancak 150 mg/kg CY verilen deney

grubunda hiperemi, infiltrasyon, desquamasyon ve ileri derecede ödem olmasına karşın 50 ve 100 mg/kg CY verilen deney gruplarındaki toksisite biraz daha azdı. Yine tek başına CY uygulanan gruplarda CY dozunun artışına paralel olarak gittikçe şiddetlenen lökopeni ve kemik iliği baskılanması görüldü. Trombosit sayıları bu üç grupta varyasyon gösterdiği için güvenilir bulunmamıştır.

Cyclophosphamide'in normal hücrelere olan toksisitesini önlemek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Birçok deneysel ve klinik çalışmada CY nedenli urotoksisite ve hematoksisitenin Mesna (2-merkaptotetan sulfonat) tedavisi ile önlenebileceği ileri sürülmüştür. Lerza ve ark. (1987) 70, 120 ve 200 mg/kg CY ile birlikte 100 mg/kg Mesna'yı farelerde kullandıklarında sonuç negatif bulunmuştur. Cavalletti (1986) ve arkadaşlarının yaptıkları bir diğer deneysel çalışmada da Mesna'nın 200 mg/kg CY nedenli mesane hasarında koruyucu olmadığını ancak redukte Glutathion'un bu dozlardaki CY toksisitesini önlemede mesnadan daha koruyucu olduğunu belirtmişlerdir. Diğer bir deneysel çalışmada Mesna-CY kombinasyonunun hepatik karma fonksiyon oksidaz sistemi depresyonu ve ürotoksisite gibi istenmeyen CY toksitelerini engellendiği ileri sürülmüştür. ( Bernacki, et al., 1987 ). Buna karşın normal hücrelerde CY toksisitesini Verapamil ile önlemeyi amaçlayan direkt çalışmalar hemen hiç yoktur. In vivo çalışmalar çok sınırlı olmasına rağmen in vitro çalışmalar Vinkristin ve Adriamycin gibi ilaçların sitotoksitelerinin Verapamil kullanılarak bir dereceye kadar önlenebileceğini göstermektedir (Rogan, et al., 1984). Çalışmamızda 2 mg/kg Verapamil 50, 100 ve 150 mg/kg CY'nin özellikle lökosit ve kemik iliği hücrelerinin sayısını sadece CY alan gruplara göre önemli ölçüde arttırması, Verapamil'in CY toksisitesini azalttığı anlamına gelebilir. Yine bu gruplardan elde edilen histolojik bulgular mesanenin 2 mg/kg Verapamil verilen gruplarda azda olsa korunduğu gözlenmiştir. En fazla korunma 50 + 2 mg/kg CY+Ver verilen gruplarda gözlenmiştir. Ancak, 1 mg/kg Ver 50, 100 ve 150 mg/kg CY ile uygulandığında fizyolojik ve histolojik bulgularımızda 2 mg/kg Verapamil verilen gruplara göre çok az koruyucu olmuştur.

2 mg/kg verapamil'in 5 ve 10 mg/kg metotreksat toksisitesini kan, kemik iliği ve lenfoid dokuda azaltmasında bulgularımızı

## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Alpan, S. R., (1989), Kalsiyum Kanal Blokerleri, Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi; Farmakoloji Ana Bilim Dalı Seminer Notları, 1-4
- Al-Safi, S. A. and Maddocks, J. L.,(1986), Does 2-Mercaptoethane Sulphonate (mesna) Prevent Cyclophosphamide and Azathioprine Induced İmmünoşuppression? In vitro Studies, Br. J. Clin. Pharmac., 21,267-270
- Baeyens, J. M. (1988), İnteraction Between Calcium Channel Bloklers and Noncardiovascular Drugs. Pharmacol. Toxicol.,63:1-7
- Banham, S. ,et al.,(1985), The Role of VP-16 in the Treatment of Small-Cell Lung Cancer: Studies of The West of Scotland Lung Cancer Group, Seminars in Oncology Vol XII, No 1, Suppl 2 (March), pp 2-6
- Başaran, A. ,vd.,(1991), Verapamilin Karaciğer Rejenerasyonu ve Bazı Enzim Düzeylerine Etkisi, Doğa. Tr. J. of Medical Sciences, P. 308. TÜBİTAK
- Bayçu, C.,vd.,(1990),Metotreksat'ın Karaciğerde Yaptığı Toksik Etkinin Verapamil İle Önlenmesi, Anadolu Tıp Dergisi, (ESKİSEHİR),C:12, S:2, 63-72
- Bernacki,R.J., et al., (1987), Combinations of Mesna With Cyclophosphamide Adriamycine in Treatment of Mice With Tumours, Cancer Research 47, 799-802
- Budavari, S., et al.,(1989), An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals, The Merck İndex.Eleventh Edition Centennial Edition,U.S.A., p:429-430, 1563
- Cavaletti, E., (1986), Comparison of Reduced Glutathione With 2-Mercaptoethane Sulphonate to Prevent Cyclophosphamide-Induced Urotoxicity, Cancer Letters, 32, 1-6
- Deray, G., et al.,(1988), Effect Nipedin on Cisplatinum-İnduced Nephrotoxicity In Rats. Clin. Nephro., 30 (3): 146-150
- Erol, K.,vd.,(1988), Verapamilin Gentamisin Nefrotoxicitesi Üzerine Etkisi.,23, Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Özet Kitabı, S:43-44,
- Gilman, A.G., et al., (1990),The Pharmacological Basis of Therapeutics, p:1217

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kawabata J. T., et al.,(1990), Mechanisms of In Vitro Immunosuppression By Hepatocyte Generated Cyclophosphamide Metabolites And 4-Hydroperoxycyclophosphamide, Biochemical Pharmacology ,Vol.40, NO:5, pp:927-935
- Kayaalp, S. O., (1989), Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Feryal Matbaacılık-Ankara, Cilt:I, S:973-993, Cilt:II, S:1100-1107
- Kerr, D. J., et al., (1986), The Effect of Verapamil On The Pharmacokinetics Adriamycine., Cancer Chemother. Pharmacol.,18: 239-242
- Lahdetie, J., et al.,(1990), Interaction of Mesna With The Mutagenicity of Cyclophosphamide In Vitro and In Vivo Mutation Research, 245, 27-32
- Lerza, R., et al.,(1988), Studies On Hemotoxicity of Cyclophosphamide, Doxorubicin and Cis-Diamminodichloroplatinum Combined With Sodium -2-Mercaptoethane Sulfonate, Tumori, 74: 333-337
- Luce, J. K., et al., (1988), Efficacy of Mesna In Preventing Further Cyclophosphamides-Induced Hemorrhagic Cystitis, Medical and Pediatric Oncology 16: 732-374
- Morrow, M.,et al., (1987), Verapamil Enhances Antitumor Activity Without Increasing Myeloid Toxicity. Surgery, 101 (1): 63-68
- Mouridsen, H. T., et al., (1987), Cyclophosphamide Versus Ifosfamide: Final Report of a Randomized Phase II Trial in Adult Soft Tissue Sarcomas, EurJ Cancer Clin. Oncol. Vol. 23 No:3 , pp:311-321
- Obsorne, R., et al ., (1987), High-dose Cyclophosphamide Followed by Cisplatinum In The Treatment of Ovarian Cancer, Cancer Chemother pharmacol, 20:48-52
- Pohl, J., et al., (1989), Chloroacetaldehyde and its Contribution to Urotoxicity During Treatment With Cyclophosphamide Or Ifosfamide., Arzneim Forsch. Drugs. Res 39(1) No:6
- Pool, B. L., et al., (1988), In Vitro /InVivo Effects of Mesna On The Genotoxicity of Cyclophosphamide a Study Aimed at Clarifying The Mechanism of Mesna's Anticarcinogenic Activity, Toxicology Letters, 41, p:49-56

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam )**

- Rogan, A. M., et al.,(1981), Promotion by Verapamil of Vinkristine Responsiveness İn Tumor Cell Pines İnherently Resistans to The Drug Cancer, Res. 43:808-811
- Sherman, C. A., et al., (1990), Klinik Onkoloji Uluslararası Kanserle Savaş Kurumu Ortak Yayını, S:76-79
- Siegal, A.,et al., (1990), Combined Effect İn Vitro of Chemoterapy With Agent Acting on the Cell Membran of Levis Lung Carsinoma, Chemother.36: 230-239
- Simpson, W. G.,et al., (1984), Verapamil Enhancement of Chemotherapeutic Efficacy in Human Bladder Cancer Cells. J. Urol. 132: 574-576
- Thatcher, N., et al., (1988), Double Alkylating Agent Therapy With Ifosfamide and Cyclophosphamide for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer, From The Manchester Lung Tumour Group, 61: 14-18
- Uyar, R.,vd., (1990), Metotreksat'ın Kemik İliğindeki Toksisitesinin Verapamil İle Önlenmesi, Anadolu Tıp Dergisi Cilt: 12 S:2, 27-39
- Yıldızoğlu-Arı, N., vd.,(1986), Kalsiyum Kanalları ve Kalsiyum Antagonistleri,Doğa Tubitak Sağlık Bilimleri, S:274-275