

T.C

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

RADYASYON ONKOLOJİSİ ANABİLİM DALI

118 169

**RATLARDA VİTAMİN E VE AMİFOSTİNİN
TÜM VÜCUT IŞINLAMASI SONRASI
KARACİĞERDE RADYOPROTEKTİF ETKİLERİNİN
LİPİD PEROKSİDASYONU YÖNÜNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Eray KARAHACIOĞLU

118 169

Dr. Okan ORHAN

Uzmanlık Tezi

**T.C. YÜSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

Kayseri-2002

KISALTMALAR

| | |
|---------------------|-----------------------------------|
| RT | : Radyoterapi |
| KT | : Kemoterapi |
| MA | : Malondialdehid |
| Gy | : Gray |
| cGy | : Santigray |
| Co60 | : Cobalt 60 |
| i.p | : İnteraperitoneal |
| s.c | : Subkutan |
| LP | : Lipid peroksidasyonu |
| KCM | : Kaynak cilt mesafesi |
| TBA | : Tiyobarbitirik asit |
| K | : Kontrol |
| A | : Amifostin |
| eV | : Elektron volt |
| TGF- β | : Transforming growth faktör-beta |
| Mg | : miligram |
| SH | : Sülfidril grupları |
| RP | : Radyoprotektör |
| KC | : Karaciğer |
| KC-MDA | : Karaciğer Malondialdehid |
| VOH | : Veno-okluzif hastalık |
| TVI | : Tüm vücut ışınlanması |
| DRF | : Doz redüksiyon faktörü |
| BT | : Bilgisayarlı tomografi |
| SD | : Standart sapma |
| GSH | : Glutatyon |
| TBA | : Tiyo barbitürük asit |
| MEA | : Merkaptotilamin |
| MEA-PO ₃ | : Merkaptotilamin fosfat |

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa no:

| | | |
|-------------------|--|----|
| Tablo I. | Canlıda radyasyon ile oluşan bozukluklar..... | 8 |
| Tablo II. | Memeli hayvanlarda radyasyonun neden olduğu bazı biyolojik bozukluklar..... | 9 |
| Tablo III. | B-merkaptoetilaminin sülfidril grubunun fosfat ile kaplanmasıyla elde edilen Sonuçlar..... | 16 |
| Tablo IV. | Radyasyon nedeni ile oluşan karaciğer hastalığı ile radyokemoterapi sebepli karaciğer hastalığının karşılaştırılması..... | 20 |
| Tablo V. | Deney hayvanlarının gruplara göre dağılımı..... | 30 |
| Tablo VI. | Çalışma gruplarının KC dokusu MDA, plazma MDA ve plazma tiyol değerleri..... | 36 |
| Şekil I. | Radyasyonun canlıdaki etki kademeleri..... | 6 |
| Şekil II. | Suyun radyolizisi..... | 10 |
| Şekil III. | Doz toleransı ile hacim arasındaki ilişkiyi gösteren karaciğer doz-hacim histogramı..... | 21 |
| Şekil IV. | α -tokoferol yapısı..... | 22 |
| Şekil V. | Amifostinin yapısı ve metabolitleri..... | 25 |

RESİM LİSTESİ

Sayfa No

- Resim 1.** Cobalt-60 teleterapi cihazında, ışılama yapılırken
ratların pozisyonu..... 32
- Resim 2.** Amifostinin intraperitoneal yolla uygulanması.....32



İÇİNDEKİLER

| | |
|--|----|
| 1.GİRİŞ VE AMAÇ..... | 1 |
| 2.GENEL BİLGİLER..... | 5 |
| 2.1.RADYASYONUN CANLIDAKİ ETKİ KADEMELERİ..... | 5 |
| 2.1.1.Radyasyonun Kimyası:İyonizasyon ve Radikal Formasyonu..... | 10 |
| 2.1.2. Serbest Radikaller ve Oksijenin etkisi..... | 12 |
| 2.2.RADYOPROTEKTÖRLER..... | 14 |
| 2.2.1.Sülfidril Yapılarının Radyoproteksiyon Mekanizması..... | 16 |
| 2.3.RADYASYONUN HEPATOTOKSİK ETKİSİ..... | 17 |
| 2.4. VİTAMİN E..... | 21 |
| 2.5.AMİFOSTİN..... | 24 |
| 2.5.1.Etki Mekanizması..... | 24 |
| 2.5.2.Farmakokinetiği ve Farmakokinetik Etkileşimleri..... | 26 |
| 2.5.3.Toksik Etkileri..... | 27 |
| 2.6.SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ VE MEBRAN LİPİD PEROKSİDASYONU..... | 27 |
| 3.MATERYAL METOD..... | 30 |
| 3.1.RADYASYON UYGULAMASI..... | 31 |
| 3.2.İLAÇ UYGULAMASI VE ÖRNEKLERİN ALINIŞ ŞEKLİ..... | 31 |
| 3.3.PLAZMA TİYOL TAYİNİ..... | 33 |
| 3.4.PLAZMA MDA TAYİNİ..... | 33 |
| 3.5.KARACİĞER MDA TAYİNİ..... | 33 |
| 3.6.İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME..... | 34 |
| 4.BULGULAR..... | 35 |
| 5.TARTIŞMA VE SONUÇ..... | 37 |
| 6. ÖZET..... | 45 |
| 7. SUMMARY..... | 47 |
| 8. KAYNAKLAR..... | 49 |

1.GİRİŞ VE AMAÇ

İyonlaştırıcı radyasyon, 1896'dan beri kanser tedavisinde kullanılmakta olup, son zamanlarda, yeni radyoterapi yöntemlerinin kullanıma girmesi ile önemi giderek artmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde tüm kanser hastalarının yaklaşık %60'ı, hastalık süreçlerinin herhangi bir döneminde radyoterapi almaktadır (%50 küratif, %50 palyatif amaçlı) (1,2).

Radyoterapide kullanılan elektromanyetik radyasyon dalgaları (gama ve x ışınları) biyolojik sistemlerde, içinden geçtiği ortamdaki hücre yapılarına kendi enerjilerini aktararak, iyonlaşma ve uyarılma olaylarına neden olurlar. Radyasyonun serbest radikaller aracılığı ile hedef moleküllerde radyobiyolojik hasar oluşturmaya radyasyonun indirekt etkisi, doğrudan hedef molekülü etkileyerek hasar oluşturmaya ise radyasyonun direkt etkisi denir.

Radyasyon tarafından oluşturulan radyobiyolojik hasarın büyük oranda indirekt yoldan olduğu kabul edilmektedir (3,4,5).

Radyoterapide amaç, hedeflenen tümörü tamamen yok ederken; tümör etrafındaki normal yapıların korunmasını da sağlamaktır (2). Ancak tedavi alanında tümörle birlikte sağlıklı dokular da bulunduğundan, radyoterapinin çeşitli yan etkileri ortaya çıkmakta ve bu

durum kanser hastasının yaşam kalitesinde bozulmaya sebep olmaktadır (6).

Radyoterapinin sağlıklı dokulardaki hasar verici etkisini azaltmak için, radyoprotektör (RP) denilen ajanlar deneysel ve klinik çalışmalarda kullanılmaktadır. RP'lerin ortak özelliği, iyonlaştırıcı radyasyon nedeniyle oluşan serbest radikallerin sağlıklı hücrelere olan toksik etkilerini azaltmalarıdır. Bunun yanında, radyasyonun tümör hücreleri üzerindeki tahrip edici etkisinin azalmaması istenir (7).

Karaciğer (KC) ışınlanması, semptomatik karaciğer metastazlı hastalar için uygulanan değerli bir palyatif tedavi şeklidir. Normal karaciğer dokusunun toleransı, karaciğerin solit tümörlerinin kontrolü için gereken radyasyon dozuna çıkılmasına izin vermemektedir. Konvansiyonel fraksiyonlarda uygulanan radyoterapi ile 30-35 Gy'i aşan dozlarda radyasyon hepatiti gelişme riski vardır (8). Bu dozların üzerinde gerçekleşen karaciğer ışınlanması iki klinik sendromla sonuçlanabilir (9):

- 1- Radyoterapi sonrası 2 hafta ile 4 ay arasında oluşan subakut bir veno-okluzif hastalık (VOH),
- 2- Radyoterapi sonrası 6 aydan daha uzun dönemde görülen kronik radyasyon hepatiti.

Lenfomalarda kemoterapiyle birlikte tüm batın veya üst abdominal ışınlama yapılması, karaciğer komplikasyonlarını artırmaktadır (10). VOH, yaygın olmamasına rağmen, kemik iliği transplantasyonuna hazırlamak için uygulanan tüm vücut ışınlamasının (TVI) ciddi bir komplikasyondur ve 7.5 Gy kadar düşük tek doz uygulamadan sonra gelişebilir (1). Kombine şekilde tedavi (kemoterapi+radyoterapi) nedeniyle oluşan hepatopati, TVI ve agresif kemoterapi rejimleri içeren allojenik kemik iliği transplantasyon sonrası oluşur (1).

Son yıllarda, deneysel ve klinik çalışmalarda etkili bir RP ajan olduğu gösterilen amifostin (WR-2721), radyasyonun malign tümör üzerindeki etkisini azaltmaksızın sağlam dokuları korumaktadır (7). Amifostin (s-2-(3-aminopropyl-amino) ethylphosphorothioic asit),

hücre koruyucu olarak, radyoterapinin etkinliğini artırmakta ve hasta yaşam kalitesini yükseltmektedir (6). Buna rağmen çeşitli dokulardaki koruyuculuk etkisinin kanıtlanması için daha fazla deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Ratlarda letal TVI öncesi vitamin E (α tocopherol) ile bir amifostin derivesi olan WR-3689 (s-2([3-methylaminopropyl]amino) ethylphosphorothioic asit), kombine uygulanmış ve bu ajanların tek tek kullanımlarına göre anlamlı sağ kalım artışı gözlenmiştir (7). Shaen ve ark. ratlarda 750 cGy dozda total vücut ışınlanması ile beraber vitamin E ve sistein kullanarak, vitamin E'nin hematolojik parametreler üzerindeki toksik etkisinden koruyucu özellikte olduğunu göstermişlerdir (11). Mutlu Türkoğlu U. ve ark. yaptıkları bir çalışmada, ratlarda batın ışınlanması ile beraber vitamin E ve selenyum kombine vermişler ve radyasyonla oluşan intestinal hasara karşı koruyucu etki bulmuşlardır (12).

Amifostinin karaciğer hücrelerindeki tutulumunun iyi olduğunun bilinmesine rağmen (10), bu organdaki radyasyonun toksik etkilerine karşı koruyucu olup olmadığını gösteren çalışmalar yetersizdir.

Normal karaciğer dokusunun radyasyona karşı toleransını artırıcı ajanların kullanılması, bu organın primer ve metastatik kanserlerinin kontrol altına alınması için daha yüksek dozlarda radyasyon uygulanabilmesine fırsat verecek, ayrıca kemik iliği transplantasyonuna hazırlık için uygulanan TVI sonrası gelişen radyasyon nedenli karaciğer hastalığı sıklığını azaltabilecektir.

Çalışmamızda, radyoterapide doz kısıtlayıcı organlardan biri olan karaciğerdeki radyasyon hasarına karşı vitamin E ve amifostinin hücre koruyucu etkileri olup olmadığını araştırmayı planladık. KC'deki akut radyasyon hasarını, lipid peroksidasyonu (LP) ürünlerinden malondialdehydin (MDA) KC dokusunda ve plazmada ölçümü ile belirleyip, amifostin ve vitamin E'nin oluşabilecek bu hasara karşı koruyucu olup olmadıklarını araştırmayı planladık.

Karaciğerde radyoprotektif etkilerini lipid peroksidasyonu yöntemi ile araştıracağımız vitamin E ve amifostinin birlikte kullınmlarınm sinerjik yada aditif etkilerini de incelemek istedik.

Tiyoller (sülfidril içeren gruplar) dokuların radyasyona karşı direnç ve duyarlılığında önemli rol oynayan yapılar olup (1), serbest radikalleri inaktif hale getiren yakalayıcı reaksiyonları gerçekleştirir. Çalışmamızda radyasyonla birlikte vitamin E ve amifostinin kullanımının plazma tiyol seviyelerine olan etkilerini de araştırdık.

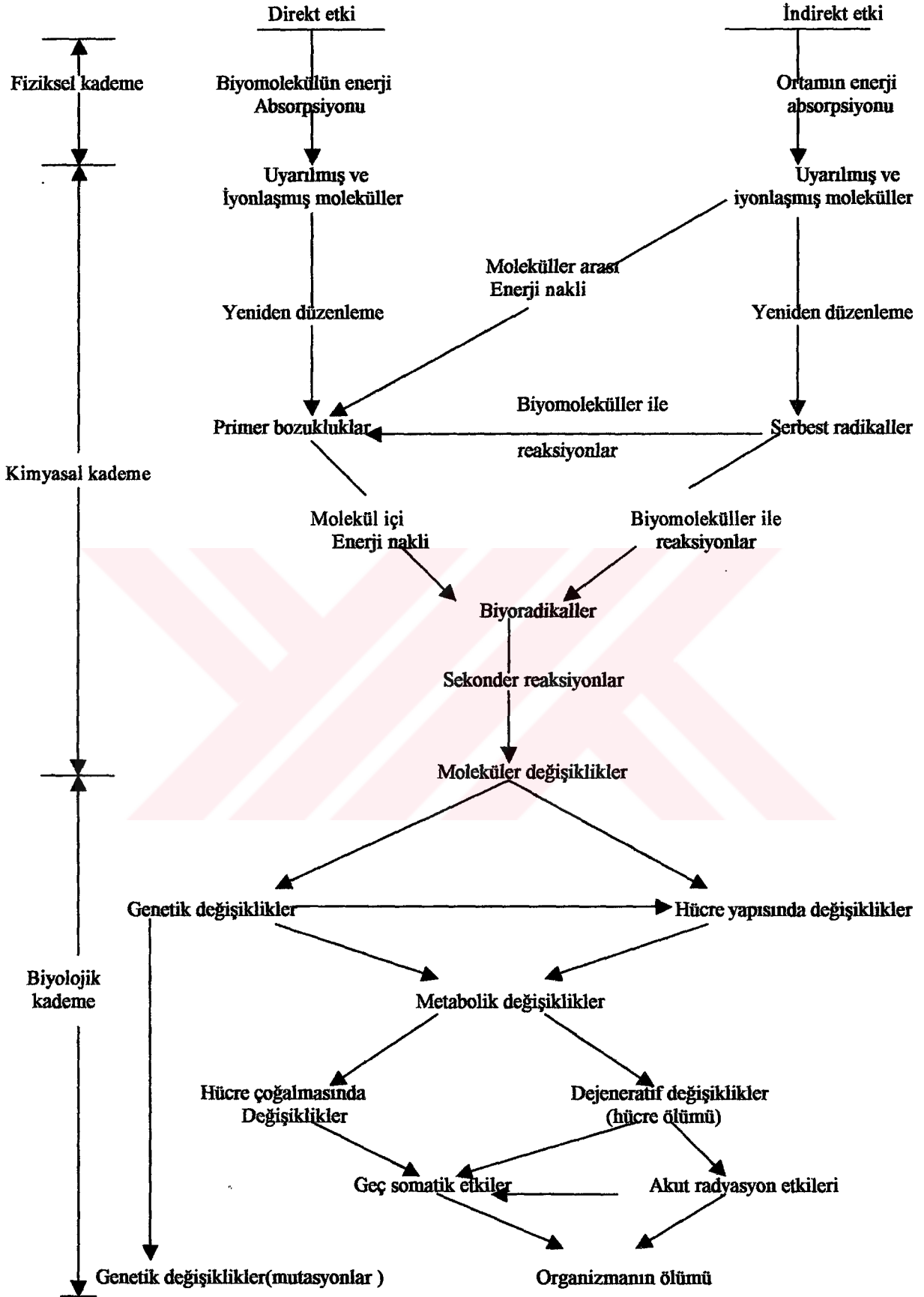


2.GENEL BİLGİLER

2.1. RADYASYONUN CANLIDAKİ ETKİ KADEMELERİ

Radyasyonun canlıda oluşturduğu etkilerin ayrıntılı bir şekilde incelenmesinde, radyasyon enerjisinin absorbe edilmesi ile biyolojik etkilerin ortaya çıkması arasındaki sürede birbirini izleyen olaylar zincirini üç etki kademesinde sıralamak mümkündür (Şekil.1) (13).

Bir biyolojik sistemde radyasyon etkisi ile oluşan bütün bu olaylar zinciri, eğer radyasyon enerjisinin DNA ya da bir enzim molekülü gibi özel bir biyolojik yapı tarafından absorbe edilmesi ile başlamışsa, böyle bir etkiye radyasyonun direkt etkisi adı verilir. Bunun yanında , radyasyon enerjisi bu biyolojik moleküllerin içinde bulunduğu ortamın molekülleri tarafından da absorbe edilebilir ve aktarılan radyasyon enerjisinin etkisi ile serbest radikaller ortaya çıkar. Serbest radikaller üzerinden olan etkiye radyasyonun indirekt etkisi adı verilir (4,5).



Şekil 1. Radyasyonun canlıdaki etki kademeleri. Moleküler değişikliklerden sonraki reaksiyon kademeleri, metabolik olaylardan etkilenen reaksiyonları göstermektedir.

Radyasyon etkisinin ilk kademesi olan fiziksel kademe, iyonlaştırıcı radyasyonlar ile canlı dokuları oluşturan atom ve moleküller arasındaki ilk etkileşimleri kapsar. Bu kademe, radyasyon enerjisi maddeye transfer edilir ve bu olay radyasyonu absorplayan maddenin moleküllerinde iyonlaşma ya da uyarılmaya yol açar. Çok hızlı bir elektron, 10^{-18} saniyede DNA moleküllerinden, 10^{-14} saniyede de bir hücreden geçebilir. Bu esnada DNA molekülü ya da hücredeki diğer moleküllerde iyonlaşma ve uyarılma olayları meydana gelir. Bu iyonlaşmalar sonucunda oluşan serbest elektronlar, diğer komşu atomlarda da iyonlaşmalara yol açar ve böylece zincirleme bir iyonlaşma olayı meydana gelir. 1Gy radyasyon absorplayan 10μ çapındaki bir hücrede, bu yolla 10^5 iyonlaşma olayı meydana gelmektedir (4).

İkinci kademe olan kimyasal kademe, radyasyon tarafından hasara uğramış atom ve moleküller, diğer hücre yapısıyla hızlı kimyasal reaksiyonlara girerler. İyonizasyon ve uyarılma, kimyasal bağlarda kırılmaya yol açar ve serbest radikallerin oluşmasına neden olur. Serbest radikal reaksiyonları, radyasyon absorpsiyonundan sonraki 1 mili saniye içinde tamamlanırlar. Önemli kimyasal olaylardan biri de, serbest radikalleri inaktif hale getiren sülfidril yapıların yakalayıcı reaksiyonlar ile önemli biyolojik moleküllerdeki kimyasal değişiklikleri kalıcı hale getiren fiksasyon reaksiyonları arasında bir yarış olmasıdır (4).

Bir organizmada radyasyon etkisi ile oluşan moleküler değişiklikler, olayın biyolojik kademe adı verilen üçüncü kademesinin başlamasına yol açarlar. Bu kademe boyunca canlıda meydana gelen olaylar, radyasyonun biyolojik etkisinin ortaya çıkmasına sebep olurlar. Biyolojik kademe, çeşitli hasarlara yol açan enzim reaksiyonları ile başlar. Bu arada DNA moleküllerinde hasarlar oluşur. Ancak, bunların bir kısmı onarılabilir. Onarılamayan hasarlar hücre ölümüne yol açar. Eğer ölüm kök hücrelerinde meydana gelmişse ışınlamadan birkaç hafta ya da birkaç ay sonra ortaya çıkan erken doku ölümleri ile sonuçlanır. İnce bağırsak ve kemik iliğinde oluşan hasarlar bu tür olaylara örnektir. Bunun yanında, radyasyon genetik bozukluklar ve kanser oluşumu gibi biyolojik etkileri de vardır (5).

İyonlaştırıcı radyasyonun canlıda oluşturduğu etki kademeleri ile bu kademelerde

oluşan bozuklukların ana hatları ve bütün bu olayların süreleri Tablo.I'de gösterilmiştir. Bu tablonun incelenmesi ile başlatıcı reaksiyonların tamamen fiziksel nitelikli oldukları görülmektedir. Bu sistem bir canlı olabileceği gibi, bir cansız sistem de olabilir. Her iki durumda da olayların seyri aynı olmasına rağmen, biyomoleküller ve biyolojik bozukluklar sadece canlı sistemde oluşurlar. Tablo.II'de memeli hayvanlarda bu kademelerde hangi önemli radyasyon etkisinin hangi biyolojik organizasyon düzeyinde meydana geldiği gösterilmiştir (5).

Tablo I. Canlıda radyasyon bozukluklarına yol açan olaylar

| Başlatıcı reaksiyonlar (fiziksel kademe) | Biyomoleküller bozukluklar (kimyasal kademe) | Biyolojik bozukluklar (biyolojik kademe) |
|--|---|---|
| İyonlaşmalar, uyarılmalar (10^{-18} - 10^{-12} sn) | Serbest radikaller,nükleik asitlerde ve proteinlerde hasarlar (10^{-12} sn-birkaç saat) | Hücre ölümü,organizma ölümü,mutasyonlar ve kanser oluşumu (saatler,yıllar) |

Tablo II. Memeli hayvanlarda görülen bazı biyolojik bozukluklar

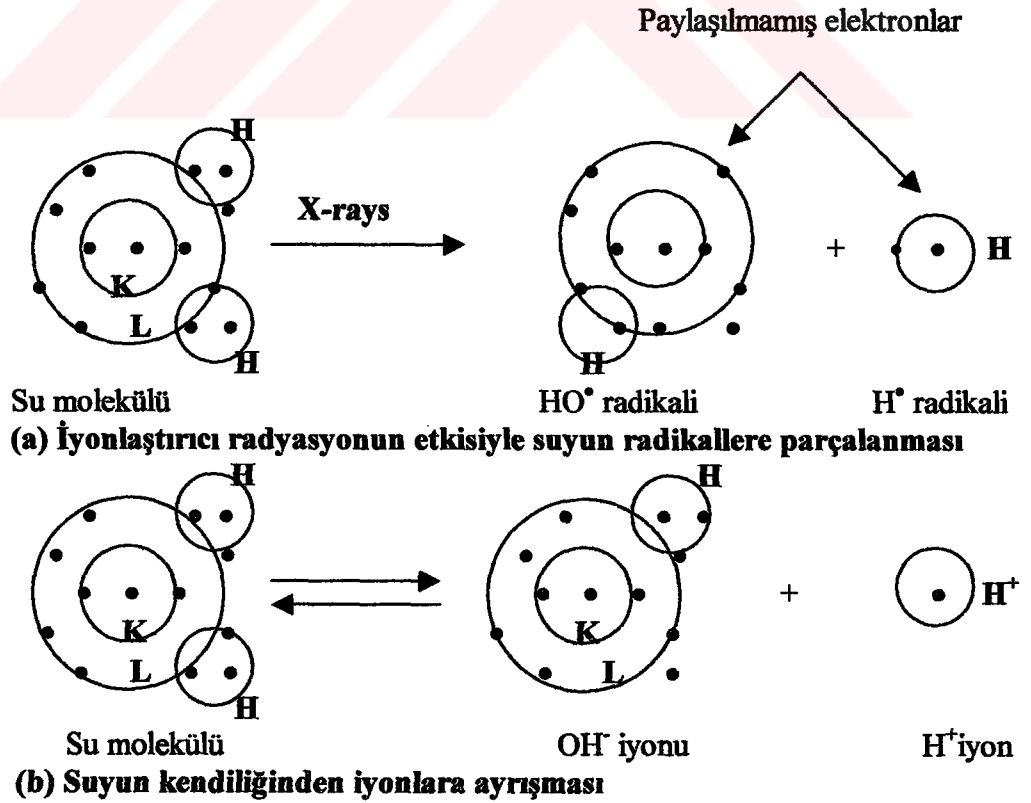
| Biyolojik organizasyon düzeyi | Önemli radyasyon etkileri |
|-------------------------------|---|
| Molekül | Enzim, RNA ve DNA gibi bazı makromoleküllerde hasarlar ve metabolik reaksiyon kademelerinde karışıklıklar. |
| Hücre organelleri | Hücre zarı, nukleus, kromozomlar, mitokondri ve lizozomlar gibi hücre organellerinde bozukluklar. |
| Hücre | Hücre bölünmesinin inhibisyonu, hücre ölümü, hücrenin anormal karakterler kazanacak şekilde transformasyonu. |
| Doku,organ | Merkezi sinir sistemi, kemik iliği ve gastrointestinal sistemde ortaya çıkan bozukluklar, kanser oluşumu. |
| Organizma | Ölüm, ömür kısalması. |
| Populasyon | Populasyonda ortaya çıkan gen ve kromozom mutasyonlarına bağlı olarak, topluluğun genetik özelliklerinde meydana gelen değişiklikler. |

2.1.1.RADYASYON KİMYASI: İYONİZASYON VE RADİKAL FORMASYONU

Radyasyonun biyolojik etkisinin büyük bir kısmı, canlı organizmaların ağırlıklarının yaklaşık %60'ını oluşturan su üzerinden olur (13). Canlılar yüksek oranda su içerdiği için, ışınladıklarında radyasyon enerjisinin büyük oranda su molekülleri tarafından absorbe edilme olasılığı çok yüksektir. Bu sebeple radyasyonun su molekülünü ne şekilde etkileyeceğinin anlaşılması radyobiyojoloji açısından büyük önem taşımaktadır (5).

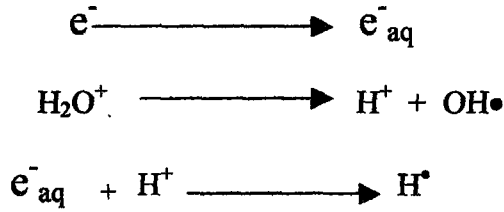
Radyasyon etkisiyle su molekülleri ya iyonlaşır ya da uyarılır. İyonlaşma ile, pozitif yüklü bir iyon ve hızlı bir serbest elektron oluşur (5). Bu olay, en az 13 eV'luk bir enerji ile gerçekleşir (Şekil 2.) (13).

Şekil 2. Suyun radyolizisi. Radyasyon nedeniyle su molekülünün şematik olarak OH• ve H[•] Radikallerine ayrılması





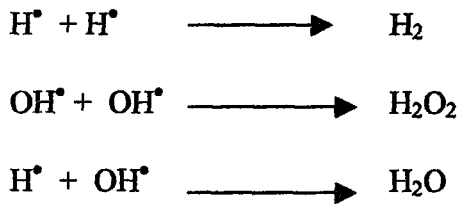
Bu olayı izleyen çeşitli sekonder reaksiyonlar ile değişik tipte serbest radikaller meydana gelir. Yaklaşık 10^{-12} sn sonunda serbest elektron bir çok sekonder iyonlaşma olayına yol açarak, enerjisini kaybeder ve ortamdaki su molekülleri ile etkileşerek hidrat elektron (e^-_{aq}) haline geçer. Pozitif yüklü iyon ise bir hidrojen iyonu ile bir hidroksil radikali (OH^{\cdot}) oluşturacak şekilde ayrılır. Bu olayda bir hidrojen radikali (H^{\cdot}) de meydana gelebilir.



Hidroksil radikali (OH^{\cdot}), büyük kimyasal reaktivitesi olan güçlü bir okside edici ajandır. OH^{\cdot} ve H^{\cdot} radikalleri, teorik olarak suyun uyarılması ile de oluşabilir. Bu oluşumda 5 eV enerji yeterlidir (13).



Yukarıdaki reaksiyonlarda oluşan OH^{\cdot} ve H^{\cdot} radikalleri çok reaktiftirler. Buna bağlı olarak aralarında çeşitli radikal-radikal reaksiyonları gerçekleşebilir; bunun sonucunda hidrojen peroksit gibi çok toksik ve oldukça stabil moleküller de oluşabilir. Aşağıda bu reaksiyonlardan üç tanesi gösterilmiştir (5).

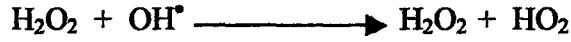


H^{\cdot} radikali bu reaksiyonların dışında diğer su molekülleri ile de reaksiyona girebilir.



Kendi aralarındaki reaksiyonlar sonunda ortaya çıkan ürünlerle de tekrar reaksiyona girebilirler. Örneğin bir OH^{\cdot} radikalının hidrojen peroksit (H_2O_2) ile reaksiyon sonucunda bir

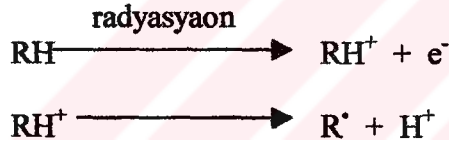
hidroperoksit radikali oluşur (5).



Oluşan bu serbest radikaller, çok reaktif durumdadırlar. Hem serbest radikal iyonlar, hem de sonuçta oluşan serbest radikaller, normal moleküler yapıları bozarlar ve biyolojik hedeflerde hasara neden olurlar. Serbest radikal oluşumu yoluyla elde edilen etki, radyasyonun biyolojik etkisinin yaklaşık %70 'i oluşturmaktadır (14).

Yolları boyunca seyrek iyonlaşma olaylarına yol açan X ve γ radyasyonlarının etkisi daha çok indirekt yolla, α partikülleri gibi sık iyonlaşmalara sebep olan radyasyonların etkisi ise daha çok direkt yolla meydana gelir. Biyolojik hasar açısından, biyolojik hedef moleküllerin direkt yada indirekt yoldan etkilenerek hasar görmesi büyük önem taşımaz. Ancak radyasyon hasarının büyük ölçüde indirekt yolla olduğu kabul edilmektedir (5).

RH sembolünü insan dokusundaki bir organik madde yerine kullanırsak, radyasyonun direkt bu molekülü etkilemesiyle hedef molekülün reaktif ürünü oluşur (14).



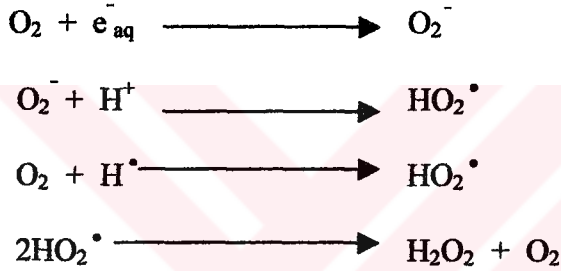
Direkt etkileşim ile molekül iyonize hale gelir ve organik serbest radikal (R^\bullet) oluşur. İndirekt etki ile de bu etki gözlenecektir. Ancak, suyun radyolizisi sonucu oluşan OH^\bullet ve H^\bullet serbest radikalleri aracılığı ile, organik maddenin serbest radikaline dönüşümü indirekt olarak gerçekleşmektedir (14).



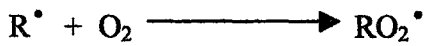
2.1.2. Serbest Radikaller ve Oksijenin Etkisi

Radyasyonun canlıdaki etkinlik derecesi, ısımlama sırasında oksijenin varlığı ile artış

gösterir. Oksijen varlığında, radyobiyojik etkinlik aynı radyasyon dozunda 2.5-3 kat artmaktadır. Bunun sebebi, serbest radikallerin oksijen ile reaksiyona girmeleridir. Bu reaksiyonlar sonucunda, gerek hidrojen ve gerekse bazı organik moleküllerin peroksit radikalleri oluşur. Bu ürünler, çok hasar verici radikallerdir. Oksijenin e^-_{aq} ve H^\bullet gibi bir serbest radikalle reaksiyona girmesi sonucunda çok toksik ve oldukça stabil HO_2^\bullet ile hidrojen peroksit meydana gelir. Yaşayan ortamlarda oksijenin önemli bir etkisi, membran yapılarındaki doymamış yağ asitlerini perokside ederek, fonksiyonel ve yapısal hasara yol açmasıdır (4,5,13,14).



Bunun yanında biyoradikaller de oksijen ile reaksiyona girerek, organik peroksit radikallerini (RO_2^\bullet) meydana getirirler.



Bundan sonra, RO_2^\bullet radikallerinin diğer organik biyolojik moleküllerle birçok zincirleme reaksiyona girmeleri de mümkündür (5,13).



Bütün bu reaksiyonlar sonunda, biyolojik hasarın oluşumu giderek ilerler; hızlanır ve onarımı mümkün olmayan kalıcı bir nitelik kazanır. Yukarıdaki reaksiyon, R^\bullet yapısını tekrar RH şekline geri dönüşünü sağlayacak olan, R^\bullet +sistein yada diğer hidrojen vericileri gibi herhangi bir yarışmacı reaksiyondan 30 kez daha hızlı oluşur. Bu olaya, biyolojik hasarın fiksasyonu adı verilir ve ışınlama sırasında oksijenin varlığı, bu sürecin oluşmasına yol açar (5,14).

Radyasyon hasarındaki başlıca hedef DNA olduğundan, oksijenin DNA serbest radikallerine olan etkisi çok önemlidir. Bu etki glutatyon gibi bir sülfidril yapısından bir hidrojen verilmesini içeren redüksiyonla onarılabilir. Alternatif olarak, moleküler oksijen ya da diğer elektron affinitik yapılarla okside olarak bu hasar sabitlenebilir. Bu durum fosfodiester bağlarında kopma gibi DNA yapısında değişikliklere yol açar. İyonizasyon yoğunluğunun arttığı ışınlamalarda (nötron ışınlaması gibi) oksijenin radyo duyarlaştırıcı etkisinde azalma olur (14).

2.2. RADYOPROTEKTÖRLER

Etkili radyoterapi uygulamasındaki amaç, maksimum tümör hücrelerini yok ederken, minimum normal doku hasarı sağlamaktır. Bunun yanında tümör komşuluğundaki normal dokularda ciddi hasar oluşturmaksızın uygulanan radyasyon dozları, tümör eradikasyonunda çoğu kez yetersiz olmaktadır. Radyasyon dozunda, tolere edilebilir artışı sağlama, tedavi etkinliğini artıracaktır. Antitümör tedavilerinin zararlı etkilerine karşı, normal dokuları koruyan bazı ajanlar (Amifostin, Mesna, Zineart) geliştirilmiştir (6). Radyoprotektörler, canlıyı radyasyona karşı olduğundan daha dirençli hale getiren ve onu koruyan maddelerdir (5). İdeal radyoprotektör stabil olmalı; kalıcı toksisiteye neden olmamalı ve kolay uygulanabilmelidir (1).

Bir radyoprotektörün etkinliği, doz redüksiyon faktörü (DRF) terimi ile tanımlanır. Bu değer aynı biyolojik etkiyi elde etmek için protektörlü ve protektörsüz koşullarda, uygulanması gereken radyasyon dozlarının birbirine oranı şeklinde ifade edilir.

Protektör varlığındaki doz

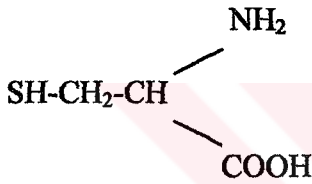
DRF: $\frac{\text{Protektör varlığındaki doz}}{\text{Protektör yokluğundaki doz}}$ formülü ile gösterilir.

Protektör yokluğundaki doz

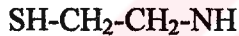
Bugüne kadar saptanan çeşitli protektörlerin DRF değerleri, 1.5-2.5 arasında değişmektedir (5).

Vitamin E, vitamin C ve β - karoten, hücre membran lipidlerini radyasyon sonucu oluşan peroksit radikallerinin etkilerine karşı, bu radikalleri yakalayarak korumaktadır. N- butinol ve etanol gibi alkoller, dithiokarbamat, thioüre ve klinik kullanım için en çok ümit veren aminotiyolün ortak özelliği, serbest hidroksil radikallerini (OH^\bullet) yakalamalarıdır (1).

İyonlaştırıcı radyasyona karşı antioksidanlarla proteksiyon sağlanması üzerine ilk invivo çalışmalar yarım yüzyıl önce gerçekleştirilmiştir. 1949 da Patt , 8 Gy tüm vücut ışınlanmasından hemen önce, sistein verilen ratların radyasyonun etkilerine karşı belirgin şekilde dirençli olduğunu gözlemledi (1,10). Sistein alan farelerdeki letal doz, almayanlara göre neredeyse iki katı bulundu. Bu bileşiğin formülü şöyledir:



Aynı yıllarda Avrupa'da, Bacq ve ark.'ı sisteaminin de bir protektör olduğunu buldular. Bu bileşiğin yapısı ise şu şekildedir:



Takip eden yıllarda, benzer yapıda protektörler bulundu. Bunların ortak özelliği, iki ya da üç karbonlu bir düz zincir ile bu zincirin bir ucunda serbest bir SH grubu; diğer ucunda da amin ya da guanidin gibi kuvvetli bazik bir grubun bulunmasıdır. Sülfidril gruplarının X ve γ ışınlarına karşı etkin bir koruyucu olduğu bilinmektedir. Bu basit ürünler radyoproteksiyon sağlarken, diğer taraftan da toksik etkilerinin fazla olması problem oluşturmaktaydı. İlk atom bombasının kullanıldığı II. Dünya Savaşı'nın hemen sonrasında TVI'na karşı koruyucu olabilecek bileşiklerin geliştirilmesine askeri kuvvetler büyük ilgi duymaktaydı. O yıllarda, Washington'daki Walter Reed Army Hospital'de sistein ve sisteamin yapılarına benzer; fakat daha az toksik olabilecek bileşikler sentezlediler ve eğer, sülfidril grubu bir fosfat ile kaplanırsa, yaklaşık iki kat dozun daha az toksik etki ile kullanılabilceğini keşfettiler (10,5).

Bu durum tablo III.te gösterilmiştir .

Tablo. III: β - merkaptoetilamin'in sülfidril grubunun fosfat ile kaplanmasıyla elde edilen sonuçlar

| Madde | Formül | Farelerde LD ₅₀ değeri | DRF |
|---------------------|--|-----------------------------------|------------------|
| MEA | NH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -SH | 343(323-364) | 200 mg/kg da 1.6 |
| MEA-PO ₃ | NH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -SH ₂ PO ₃ | 777(700-864) | 500 mg/kg da 2.1 |

2.2.1. Sülfidril Yapılarının Radyoproteksiyon Mekanizması

Hücre içi suya iyonize radyasyonun direkt etkisiyle bir seri yüksek reaktif ürünler oluşur. Radyasyonun indirekt etkisiyle bu ürünler ile kritik moleküllerin etkileşimi, hücresel inaktivasyon ile sonuçlanır. Chapman ve Reavers iyonize radyasyonun etkisinin %60 'ının serbest hidroksil radikalının (OH^{*}) hedef moleküller (R) üzerindeki etkisiyle olduğuna işaret ettiler. Oksidasyon sonrasında, kritik moleküllerin serbest radikalleri kimyasal olarak değişikliğe uğramaktadır (1).

Sülfidril grupları taşıyan bileşiklerin serbest radikallere karşı özel bir ilgileri vardır. Bunların hücre içerisinde bulunmasıyla radikallerin bir kısmını temizleyebileceklerinden, radyasyon etkisinde azalmaya sebep olacaklardır. Memeli hücrelerindeki başlıca protein dışı tiyoller şunlardır:

- Sistein — doğal bir amino asit
- Sisteamin — dekarboksile olmuş sistein
- Glutatyon — en yaygın protein dışı tiyol

Hayvanlarla yapılan çalışmalarda ve doku kültürü hücrelerinde, bu yapıların radyasyon uygulamasından hemen önce verilmesiyle, hasar miktarında azalma olmaktadır. Bu maddelerin kullanılmasıyla aynı seviyede radyasyon hasarı oluşturmak yaklaşık iki kat doz gerektirmektedir (4).

Sülfidril bileşikleri ışınlanmış sudaki ürünleri yakalayarak (denklem [1] ve [2]) ve serbest radikallere hidrojen atomu vererek, kritik molekülleri aktif formuna dönüştürüp (denklem 2), hücreleri radyasyon hasarından korurlar. Hücre içi glutatyon doğal olarak bulunan bir radyoprotektördür.



(RH eski haline döndürülen kritik molekülü temsil etmektedir.)

Oluşan GS^\bullet geri dönüşümlü bir reaksiyonla redükte nikotinamid adenin dinükleotidten (NADH) hidrojen alarak glutatyon redükte olur:



Kritik moleküllerin serbest radikalleri ile reaksiyona girmesi için oksijen ve glutatyon arasında, oksijen lehine bir yarış vardır. Bundan dolayı, sülfidril vericileri proteksiyonu tamamlamak için, oldukça yüksek konsantrasyonda bulunan hücre içi oksijen için hazır bulunmalıdır (1).

2.3.RADYASYONUN HEPATOTOKSİK ETKİSİ

Karaciğer ışınlanması, semptomatik karaciğer metastazlı hastalar için uygulanabilecek palyatif bir tedavi şeklidir. Normal karaciğer dokusunun toleransı, solit tümörlerinin kontrolü için gereken radyasyon dozuna çıkılmasına izin vermemektedir. Konvansiyonel fraksiyonlarda uygulanan radyoterapi ile 30-35 Gy'i aşan dozlarda radyasyon hepatiti gelişme riski yüksektir (8).

Radyoterapi opere edilemeyecek durumdaki primer ve sekonder hepatobiliyer malignensilerin tedavisinde toksisite nedeniyle kullanılmaz. Normal karaciğer dokusundaki ciddi toksisite, güvenle uygulanabilecek radyasyon dozunu sınırlamaktadır. Tahmin edilen tüm karaciğer tolerans dozu fraksiyon başına 1.5-2 Gy' den yaklaşık 30-33 Gy'dir. Bu nedenle karaciğer radyosensitif bir organdır (9). Bu dozların üzerindeki dozlarda karaciğer ışınlanması iki klinik sendromla sonuçlanabilir:

- 1- Radyoterapi sonrası 2 hafta ile 4 ay arasında oluşan subakut bir VOH,
- 2- Radyoterapi sonrası 6 aydan daha uzun sürede görülen kronik radyasyon hepatiti.

Son yıllarda üç boyutlu tedavi planlamasının dikkatli kullanımı ile normal karaciğer dokusunu, ışınlanan tümörlü alandan güvenilir bir şekilde ayırarak etkili radyasyon dozları uygulanabilir gibi görünmektedir (15). Bu strateji, yaygın karaciğer tutulumu olmaksızın dörtten daha az lezyonu olan hastalar için başarılı olmuştur. İyonize radyasyona karşı normal KC dokusunu korumak için radyoprotektif ajanlar, kısıtlı da olsa çalışılmıştır (9).

Syman Z. ve ark. ratlarda karaciğer modeli üzerinde yaptıkları çalışmada, portal ven ve sistemik venden amifostin vererek, karaciğer ve tümör dokusundaki WR-1065'in (amifostinin aktif metaboliti) absorpsiyon miktarlarını karşılaştırdılar. Her iki yol ile de hepatositlerdeki WR-1065 konsantrasyonunu tümör hücre konsantrasyonuna göre oldukça yüksek buldular ve doz modifikasyon faktörünün 2.4-3.3 olduğunu belirttiler (9).

Radyasyonla indüklenmiş karaciğer hasarı, VOH'ı andırmaktadır. Ancak hepatositlerin tek hedef olup olmadığı kesin değildir. Endotelyal hücreleri, Kupffer hücreleri gibi diğer hücre tipleride ortaya çıkan karaciğer hasarında rol oynayabilir. Bu hücre tiplerinin bazıları, amifostin tarafından korunmaktadır.

Radyasyonun karaciğere olan geç etkisinin değerlendirilmesi şu şekilde açıklanmıştır (16):

• Klinik inceleme : Semptomlar; hepatomegali ve aside bağlı abdominal şişliği takiben, hafiften şiddetliye kadar değişen sağ üst kadranda ağrısı ve kilo artışı içerir.

• Gelişen olayların zamanları: Radyasyon sebebiyle karaciğer hastalığı ışınlanmadan 2-3 ay sonra sarılık olmayan asit gelişimi ile karakterize iken, radyo-kemoterapi nedeniyle karaciğer hastalığı daha hızlı bir şekilde, kemik iliği transplantasyonundan 1-4 hafta sonra oluşur.

• Doz/zaman/hacim: Son verilerde, doz kadar hacmin de önemli olduğu vurgulanmaktadır. Tüm karaciğer, üst eşik değeri 30-35 Gy olmak üzere 20-30 Gy alabilir ve radyasyon hepatopatisi 35 Gy üzerinde oluşabilir. Oysa üçte birden yarısına kadar olan karaciğer hacmi, 40 Gy'den fazlasını komplikasyon olmadan alabilmektedir.

• Kimyasal/biyolojik değiştiriciler: Nitrosürelere gibi birçok değişik ajanın, karaciğer enzimlerini artırdığı rapor edilmiştir. KİT'de uygulan hazırlayıcı rejimler toksik olabilmektedir.

• Radyolojik görüntü: Büyümüş karaciğer genelde metastazlar ile karışabilir.

• Laboratuvar testleri: Artmış alkalen fosfataz (ALP) ve aspartat transaminaz (AST) veya serum alanin transaminaz (ALT), düşük bilirubin seviyesi radyasyon hepatopatisini düşündürür. Oysa, kombine tedavi-nedenli hepatitte enzimlerde daha az artış varken bilirubin seviyesinde yüksek miktarda artış vardır.

• Ayırıcı tanı: Metastatik karaciğer hastalığı, laboratuvar değerleri geç değişmesine rağmen BT ile tanınabilir. Budd-Chiari Sendromu hepatik ven oklüzyonuna neden olabilir. Graft-versus-host hastalığı karaciğer yetmezliğine sebep olabilir; fakat birlikte anemi, lökopeni, deri kızarıklığı ve adenopati oluşuyla tanınabilir.

• Patolojik tanı: Santral venin tıkalı hastalığı, hepatositlerin ikincil nekrozu ve geriye dönük konjesyonu, hepatik lobüllerdeki santral venlerde daralma ve tıkanıklıkla karakterize, kendine has lezyonlara sahiptir. Karaciğer biyopsisi, bazı karakteristik görüntülerle tanı koydurabilir.

• Tedavi: Bu süreci geri çevirebilen etkili bir tedavi yoktur; bundan dolayı profilaksi ve koruma en iyisidir. Antikoagulanlar, parasentez ve diüretikler kullanılabilir.

Şüpheli götürmeyen radyasyon hepatopatisi için karaciğer transplantasyonu gerekmektedir.

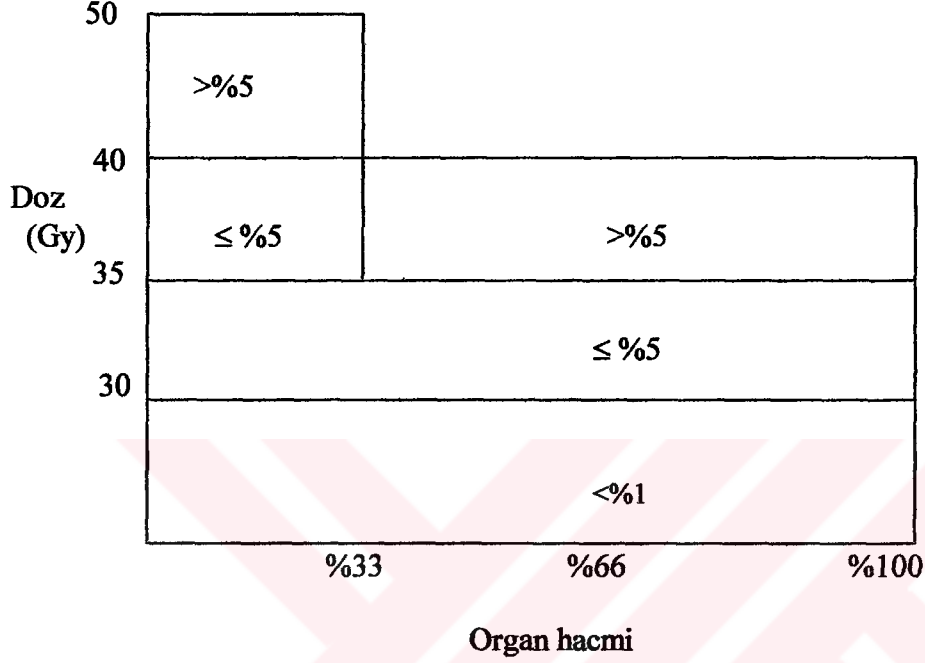
• Takip: Özellikle karaciğerin bir kısmı korunmuşsa iyileştirmek için yoğun tıbbi tedavi ve hemşire bakımı gerekmektedir (16).

Radyasyon sebepli karaciğer hastalığı ile kombine tedavi sebepli karaciğer hastalığının karşılaştırılması Tablo IV'te özetlenmiştir. Karaciğerin doz toleransı ile ışınlanan hacmi arasındaki ilişki şekil III'te görülmektedir.

Tablo IV. Radyasyon sebepli karaciğer hastalığı ile kombine tedavi sebepli karaciğer hastalığının karşılaştırılması

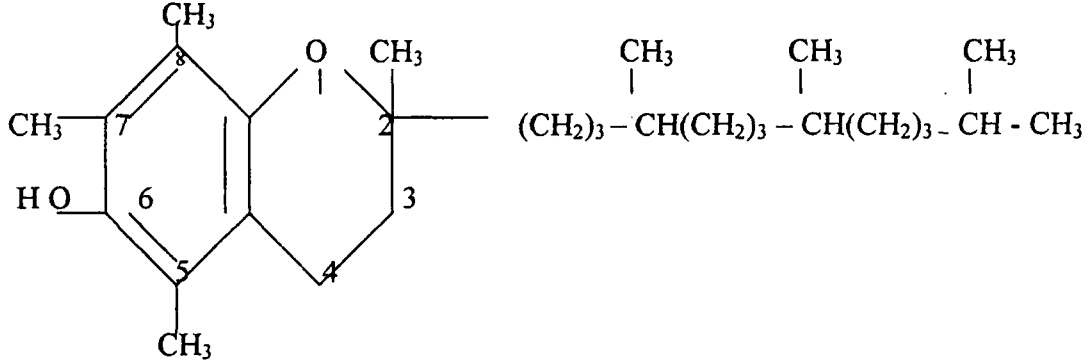
| Klinik özellik | Radyasyon nedenli karaciğer hastalığı | Kombine tedavi nedenli karaciğer hastalığı |
|---|---------------------------------------|--|
| Tedavi sonrası ortaya Çıkış zamanı | 2-16 hf (tipik olarak 4-8 hf) | 1-4 hf (tipik olarak 1-2 hf) |
| Bulgu/semptomlar | | |
| Sarılık | + | ++++ |
| Kilo almı | +++ | ++++ |
| Sağ üst kadran ağrısı | + | +++ |
| Hepatomegali | ++ | +++ |
| Asit | ++++ | ++ |
| Ensefalopati | + / - | ++ |
| Laboratuvar bulguları | | |
| Artmış bilirubin | + | ++++ |
| Artmış aspartat transaminaz | ++ | ++++ |
| Artmış alkalen fosfataz | ++++ | +++ |
| Sonuç | %10-20 ölüm | %30-50 ölüm |

Şekil III:Doz toleransı ile hacim arasındaki ilişkiyi gösteren karaciğer doz-hacim histogramı.



2.4. VİTAMİN E

E vitamini tokoferol yapısında olup, ilk olarak Evans ve Sure tarafından tanımlanmış ve 1938 yılında izole edilmiştir. Doğal olarak alfa, beta, gama, delta ve zeta gibi çeşitli tokoferoller bulunmaktadır. D- α -tokoferol, en geniş doğal dağılımı ve en büyük biyolojik aktiviteyi gösterir. Antioksidan aktivesi en yüksek olan tokoferol de α -tokoferoldür (şekil IV) (17).



Şekil IV. : α -Tokoferol

Yapısında bulunan fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halka, vitaminin kimyasal olarak aktif kısmını oluşturur ve antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır (17).

Fiziksel özellikleri bakımından bir sıvı yağdır. Kural olarak besinler içindeki E vitamini etkinliğinin yaklaşık %80'ninin α -tokoferole bağlı olduğu, geri kalan %20'sinin diğer tokoferol türevlerinden kaynaklandığı kabul edilmektedir (18).

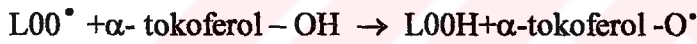
E vitamini, özellikle yeşil bitki kısımları ile bitkisel tohum yağlarında (buğday yağı, pamuk yağı, soya yağı...vb.) çok bulunur. Zeytin yağında eser miktardadır. Et, karaciğer, balık ve yumurta da E vitamini için iyi kaynaklardır. Günlük gereksinim çocuk için 4-5 İÜ, yetişkin için 12 İÜ ve gebe için 15 İÜ'dür. Fakat, günlük gereksinimin her şeyden önce besinle alınan doymamış yağ asidi miktarı ile ilgili olduğu unutulmamalıdır (19).

Çok güçlü bir antioksidan olan E vitamini, hücre membranı fosfolipidlerinde bulunan poliansature yağ asitlerini (PUFA), serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. Bir molekül α -tokoferol 100 molekül PUFA'nın peroksidasyonunu engelleyebilir. E vitamini süperoksit, hidroksil radikallerini ve diğer radikal örneklerini indirger (17).

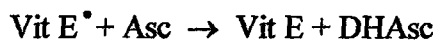
E vitamini membran fosfolipidlerinin peroksidasyonunu engelleyen birinci sırada savunma hattını oluştururken, gerideki savunma sistemlerinden glutatyon peroksidaz

molekülünde fonksiyonel olarak görev yapan bir öge olan selenyum iyonu, vitamin E'yi destekleyici görev yapar. Selenyum vücutta E vitaminini tasarruf ettirir ve E vitamini gereksinimini düşürür. Bunun başlıca nedenleri şunlardır: i) Selenyum glutatyon peroksidazın fonksiyonel bir ögesi olarak enzimi aktif halde tutar ve peroksidasyona karşı savaşta E vitaminin yükünü azaltır. ii) Pankreasın ekzokrin fonksiyonunu destekleyerek yağların ve onlarla birlikte E vitaminin sindirimi ve absorpsiyonunu ayarlar. iii) Selenyum bilinmeyen bir mekanizma ile E vitamininin plazma lipoproteinleri içinde tutulmasını destekler. Benzer şekilde, sülfürlü amino asitlerde antioksidan etki gösterir ve E vitamini gereksinimini azaltırlar (18).

Biyolojik membranlarda serbest radikal toplayıcısı olarak görev yapan Vitamin E, kendi hidrojen atomunu peroksi radikallerine vererek, hidroperoksitlerin oluşumuna yol açar. Bu hidroperoksitler, daha sonra glutatyon praksiyaz ile kendilerine karşılık gelen, toksik olmayan hidroksi birleşiklerine ayrılmaktadır (3).



Sonuçta oluşan tokoferoksil radikali nispeten stabildir ve lipid peroksidasyonunu kendi kendine başlatmak için yeterince reaktif değildir. Bu oksidasyon ürünü glukoronik asit ile konjugasyona uğrayarak safra yolu ile atılır. Tokoferolün antioksidan etkisi yüksek oksijen konsantrasyonlarında etkilidir. Bu etki en yüksek oksijen kısmi basıncına maruz kalan lipid yapılarında, örneğin eritrosit membranları ve solunum sistemi mukozalarında yoğunlaşma eğilimindedir. E vitamini, okside olduktan sonra ve parçalanmadan önce, askorbik asit ve glutatyon tarafından yeniden indirgenebilmektedir. Bu reaksiyon, bu maddelerin konsantrasyonlarına ve/veya indirgenmiş formlarını devam ettiren enzimlere bağlıdır. Bu yolla, tokoferol radikali, bir vitamin E radikal redüktaz aktivitesiyle E vitaminin doğal şekline dönüştürülebilir (18).



E vitaminin absorpsiyonu ve şilokmikronlar içinde karaciğere taşınması, yağda çözünen diğer vitaminlerinkine benzer. Vücutta karaciğerden ziyade yağ dokusunda toplanır; depolanan miktarı fazla değildir; plesentayı zor geçer. Normal durumda plazmadaki konsantrasyonu bireyler arasında değişkenlik gösterir ve ortalama 0,4-0,5 mg/dl kadardır. Plazmadaki total lipid düzeyinde meydana gelen değişmeler E vitamini düzeyine de yansır. Bu nedenle plazma E vitamini düzeyine bakarak yeterliliğin değerlendirilmesinde, mutlak E vitamini konsantrasyonundan ziyade, plazma E vitamini / total lipid oranına bakılır. Bu oranın 0.8 mg/g'm altına düşmesi eksiklik belirtisidir. Malabsorpsiyon sendromlarında, vitamin E absorpsiyonu yağ absorpsiyonundaki bozulmaya paralel olarak azalır (18).

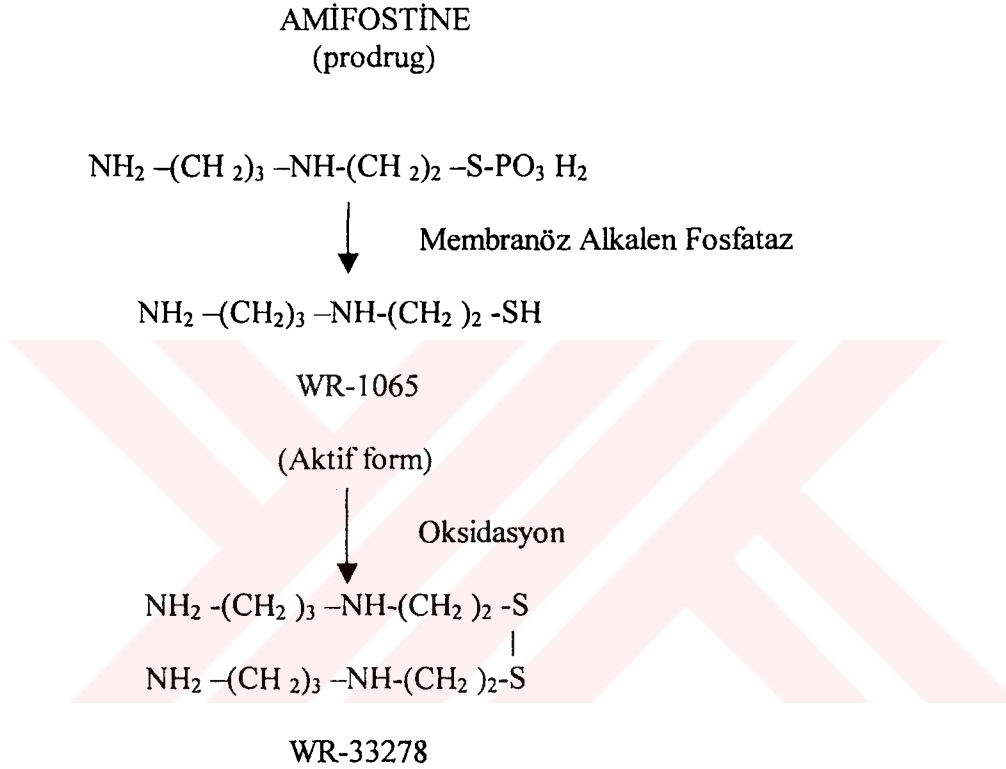
2.5. AMİFOSTİN

Amifostin (WR – 2721) invivo ve invitro en yaygın çalışılan, sitotoksik ilaca bağlı toksik etkilere ve radyasyonun sağlıklı dokulardaki yan etkilerine karşı koruyucu olduğu gösterilen bir multiorgan sitoprotektörüdür (1,6). Canlı ve cansız ortamlarda böbrek, hematolojik kök hücreleri, myokard hücreleri, sinir hücreleri,tükürük bezi ve mukazayı içeren bir çok organda hücre koruyucu etki gözlenirken, malign hücrelerde belirgin bir koruma özelliği yoktur. Faz I çalışmalar; bulantı, kusma ve hipotansiyonun doz kısıtlayıcı yan etkiler olduğunu göstermiştir. Faz II ve randomize çalışmalarda, amifostinin radyoterapiye bağlı mukozit, sisplatine bağlı nefrotoksisite, siklofosfamide bağlı nötropeni ve karboplatinle ilişkili trombositopeniye karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. Amifostin alan hastaların cevap oranlarında, progresyon ve sağ kalım sürelerinde herhangi bir olumsuz etkiye neden olmadan, amifostinin sağlıklı dokuları koruduğu belirtilmektedir (1,10).

2.5.1.Etki mekanizması

Fosforlanmış bir aminotiyol olan amifostin, inaktif öncü ilaç olup, membrana bağlı bir alkalin fosfataz tarafından defosforilize edilerek esas aktif ürün olan WR-1065'e dönüştürülür

(Şekil V). WR-1065'in hücreyi radyasyondan serbest radikalleri yakalayarak, serbest radikallere hidrojen vererek ve oksijenin etkisini azaltarak; zararlı kimyasal ajanlardan ise sitotoksik ilaçların aktif ürünlerine bağlanarak ya da DNA hasarının onarımına izin vererek koruduğuna inanılır (1,20,21).



Şekil V. Amifostinin yapısı (prodrug) ve metabolitleri, WR-1065 ve WR-33278

Preklinik çalışmalar sağlıklı dokulardaki amifostin tutulumunun tümörlerden daha fazla olduğunu göstermiştir (4,21). WR-1065'in normal dokulardaki tutulumunun kanser dokularından çok daha fazla oluşunun en az iki sebebi vardır: Birincisi, normal dokulardaki kapiller damarlardaki ve hücre membranlarındaki alkalin fosfataz konsantrasyonları, neoplastik hücreler ile karşılaştırıldığında daha yüksektir. İkincisi, neoplastik dokulardaki daha düşük damarlanma ve daha düşük pH, alkalin fosfataz enziminin aktivitesini azaltır. Bu sebeplerden dolayı normal organlardaki serbest tiyol konsantrasyonu 100 katı kadar daha yüksektir (kemik iliği, böbrek ve kalp gibi) (20). Tümör hücrelerinde WR-2721

absorpsiyonunun normal dokulara göre düşük oluşunun bir diğer nedeni de, tümör hücrelerinin ilacı pasif olarak absorbe etmesi ve WR-2721'in tümör hücresi içinde hiçbir zaman plazma seviyesinden yüksek konsantrasyonda bulunmayışıdır (1).

2.5.2.Amifostinin farmakokinetiği ve farmakokinetik etkileşimleri

Show ve arkadaşları, WR-2721 ve onun sülfidril metaboliti olan WR-1065'in plazma seviyelerini bulmak için özel elektrokimyasal, yüksek basınçlı sıvı kromatografi yöntemini uygulamışlardır. WR-2721'in büyük miktarının 10 dk içerisinde plazmadan temizlendiğini bulmuşlardır. Hem WR-2721'in hem de WR-1065'in renal atılım miktarı %10' dan daha az bulunmuştur. Kısa α -yarı-ömrü (0.87 ± 0.17 dk), küçük dağılım hacmi (0.10 ± 0.05 L / kg) ve düşük idrar atılımı (4.42 ± 2.21 L/st/kg) Show ve ark. tarafından bulunmuştur. WR-2721, plazmadan hızlı bir şekilde temizlenmekte, hızlı bir şekilde hücreye girmekte ve hızlı bir şekilde metabolitlerine dönüşmektedir. β -yarı-ömrü 9.46 ± 2.04 dk gibi, yine kısa olarak bulunmuştur (1).

Amifostinin nispeten kısa yarı-ömrü, klinik kullanımda problem olmaktadır. Paranteral olarak verilen ilacın %90'ı 6 dk içerisinde plazmadan temizlenmektedir. Bunun yanında, farmakolojik olarak ilgili ürün olan serbest tiyol, infüzyon sonrası en az 90dk süreyle dokularda bulunur. Tipik bir şekilde amifostin infüzyonu, kemoterapi uygulamasından 30 dk önce başlar ve 15 dk içerisinde verilir. Uzun yarı ömürlü sitotoksik ajanlarla (karboplatin gibi) amifostin kullanımında optimal korumayı sağlamak için infüzyon bitiminde ilave amifostin verilmesi gerekli olabilir (20).

Amifostinin metabolitleri serbest tiyol WR-1065, sisteamin, karışık disülfid taşıyan L-sistein, L-glutasyon ve tiyol-içeren proteinlerden oluşur. Serbest tiyol WR-1065 hücreyi korumada esas sorumlu metabolit olmasına rağmen, simetrik disülfid olan WR-33278 ve sisteaminin de bu etkileri olmakla birlikte, etkinlikleri daha az olan metabolitlerdir (21).

2.5.3.Amifostinin toksik etkileri

Amifostin genellikle iyi tolere edilir, fakat kısa süreli belirgin yan etkileri vardır. İlacın uygulanması ile ortaya çıkan yan etkiler: bulantı, kusma, hipotansiyon, hapsirme, ateş basması, orta derecede uykuya meyil, infüzyon sırasında metalik tat hissi ve nadiren allerjik reaksiyonları içermektedir. Amifostine bağlı bulantı açık bir şekilde doza bağlıdır ve şiddetli olabilir. Bunun yanında profilaktik antiemetik (serotonin antagonisti + glukokortikoid + lorazepam) bu problemin çözümünde oldukça başarılıdır (20).

2.6.SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ VE MEMBRAN LİPİD

PEROKSİDASYONU

Serbest radikaller dış yörüngesinde eşleşmemiş elektron taşıyan, organik ve inorganik moleküllerle reaksiyona girebilme yeteneğine sahip, yüksek oranda reaktif, kısa ömürlü bileşiklerdir. Serbest radikaller, radikal olmayan bir atom veya molekülden bir elektron eksilmesi veya bunlara elektron ilavesiyle oluşurlar. Bir moleküldeki kovalent bağın ayrışmasıyla elektronlardan birisi bir atomda, diğeri de öbür atomda kalarak kolayca radikal oluşabilir ki bu olay, “hemolitik füzyon” olarak bilinir. Bu kovalent bağların ayrışmasında ısı ya da elektromanyetik radyasyon gibi kuvvetler önemli rol oynar (22). En güçlü okside edici serbest radikallerden olan hidroksil radikali, suyun radyolizisi yoluyla ortaya çıkar ve böylece, iyonize edici radyasyona bağlı hasarın çoğundan sorumludur (22).

Normal metabolizma sırasında ya da patolojik yolla ortaya çıkan serbest radikallerin etkileri, “oksidatif stres” olarak adlandırılır. Serbest radikaller, savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak oranlarda oluştuğu zaman organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler. Lipidler serbest radikallerden en çok etkilenen yapılardır. Membrandaki kolestreol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünlerini oluştururlar. Poliansatüre yağ asitleri (Poly unsaturated fatty acid-PUFA)’nin oksidatif

yıkımı, lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü, kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür (17).

İnsanlarda bir çok hastalığın etyopatogenezinde, lipid peroksidasyonunun uyarılmasıyla organ ve dokularda açığa çıkan hücre membran hasarı sorumlu tutulmaktadır (23,24).

Lipid peroksidasyonuna (LP) neden olan serbest oksijen radikalleri, dış veya iç kaynaklı olarak üretilebilirler. Radyasyon, antineoplastik ajanlar, antibiyotikler, anestezipler, aromatik hidrokarbonlar, sigara dumanı, iskemi, hiperoksi, inflamasyon, hava kirliliği gibi çevresel faktörler, serbest oksijen radikallerinin dış kaynaklı sebepleridir (3). Bu radikallerin endojen kaynakları ise mitokondrial elektron transport zinciri, peroksizomlar, mikrozomal sistem, çeşitli sitozolik enzimler, plazma membranları, fagositoz olayı ve bazı küçük moleküllerdir (3,24,25).

Lipid peroksidasyonunda en önemli rol oynayan serbest oksijen radikali, olağan üstü tahripkar bir radikal olan hidroksil radikalidir (OH^{\bullet}). OH^{\bullet} son derece reaktiftir ve canlı hücrelerde bulunan DNA, proteinler, karbonhidratlar dahil bütün biyomoleküllerle süratle reaksiyona girer. Bununla birlikte en tahripkar etkisini membran lipidleri üzerinde yapmaktadır (24,26). Membranlarda yapısal hasar meydana getirerek hücre dejenerasyonuna yol açan LP, OH^{\bullet} ile başlar ve bir kez başlayan LP reaksiyonları, OH^{\bullet} 'nin yokluğundan etkilenmeksizin zincir reaksiyonu şeklinde yayılarak devam eder (27,28).

Serbest radikallerle poliansature yağ asitlerinin etkileşmesi, karbon merkezli bir lipid radikalinin (L^{\bullet}) oluşumu ile sonuçlanır. Lipid radikali, serbest radikallerin poliansature yağ asitlerini metilenik yağ zincirinden bir H^+ atomunu çıkarmasıyla oluşmaktadır (37,39). Bu lipid radikali aerobik şartlarda, moleküler düzenlemeye uğrayarak konjuge dien şekline çevrildikten sonra, moleküler O_2 ile reaksiyona girerek lipid peroksit radikalini (LOO) oluşturur (3,26,29).

Bu başlama safhasından sonra gerçekleşen yayılma safhasında, lipid peroksit radikali hemen yakınındaki bir başka lipid molekülüne saldırarak yan zincirinden bir H^+ atomu çıkarır. Böylece bir lipid hiperoksid (L-OOH) ve yeni bir lipid radikali (L^*) oluşur. Bu şekilde otokatalitik zincir reaksiyonu şeklinde yayılan LP sonucunda, çok sayıda yağ asidi lipid hidroperoksitlerine çevrilir (3,28,29,30).

LP zinciri, Fe, Cu iyonları ya da bu iyonların şelatları, hem, hemoglobin ve miyoglobini de içeren bazı demir proteinlerinin lipid hidroperoksidlerini bozmasıyla sonlanmaktadır. Bu kompleks bozulma reaksiyonlarının ürünleri, etan, pentan gibi hidrokarbon gazları, ROOH, RCOOH, ROH, RCHO gruplarını içeren kısa zincirli yağ asitleridir (3,29).

Açığa çıkan ürünler, membran permeabilitesini, mikroviskositesini, hücre içi kalsiyum dengesini değiştirerek hücreye zararlı etkilerde bulunmakta ve sonuç olarak hücre ölümüne yol açmaktadır (29).

Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan lipid hidroperoksidlerinin yıkımı, geçiş metalleri iyon katalizini gerektirir. Lipid hidroperoksidleri yıkıldığında, çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehidler oluşurlar. Bu bileşikler, ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup, hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiobarbiturik asitle (TBA) ölçülebilen malondialdehid (MDA) meydana gelir. MDA mutajenik, genotoksik ve karsinojenik bir bileşiktir. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna sebep olur. Bu deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler MDA'nın niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir, fakat lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Laboratuarlarda; doku, kan komponentleri ve vücut sıvılarında ölçülerek LP'un bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (17,27,29).

3-MATERYAL METOD

Çalışmada, deney hayvanı olarak Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde yetiştirilen sağlıklı, 270-430 gram ağırlıklarında, erişkin erkek Wistar ratları kullandık. Ratlar deney boyunca normal şekilde laboratuvar yemi ve su ile beslendiler.

Ratlar, her grupta 10 rat olmak üzere; kontrol grubu, yalnız radyasyon grubu, radyasyon +amifostin grubu, radyasyon + vitamin E grubu ve radyasyon + amifostin + vitamin E grubu şeklinde beş gruba ayrıldı (Tablo 5).

Tablo V. Deney Hayvanlarının Gruplara Göre Dağılımı

| Grup adı | n |
|---------------------------------------|----|
| Kontrol (K) | 10 |
| Radyasyon (R) | 10 |
| Radyasyon + Amifostin (R+A) | 10 |
| Radyasyon+Vitamin E (R+VE) | 10 |
| Radyasyon+Amifostin+VitaminE (R+A+VE) | 10 |

3.1.RADYASYON UYGULAMASI

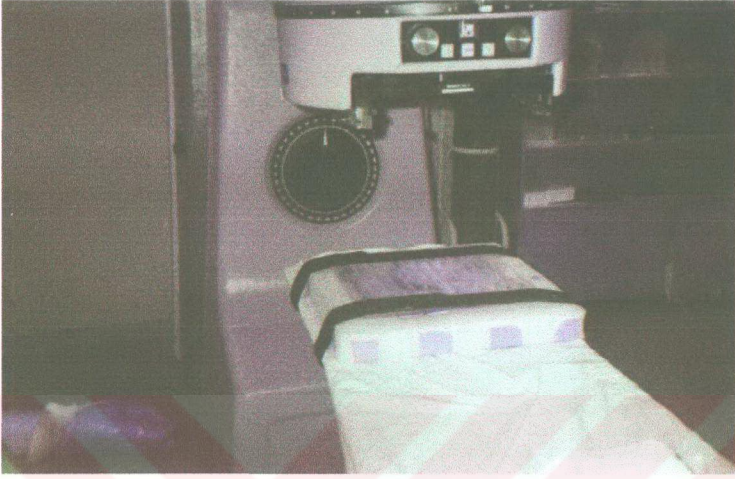
Ratları nefes almalarına izin verecek şekilde hazırladığımız özel kutu içerisinde, anestezi yapmadan, beşerli gruplar halinde, total vücut ışınlaması şeklinde ışınladık (Resim 1). Işınlama sırasında sabit KCM (kaynak-cilt mesafesi) sağlamak için hazırladığımız kutu üzerine, delikli tray yerleştirdik (Resim 1). Radyasyon dozunun fizik hesabı 29x30 cm'lik alanda, KCM 80 cm'de ve 2 cm derinlikte 800 cGy olacak şekilde hesaplandı. Işınlama süresi hesaplanırken, tray faktörü dikkate alındı. Işınlama işlemi gama ışın kaynağı olan Cobalt-60 teleterapi cihazı (Theratron 780C) ile 0.52 Gy/dk doz hızında, tek ön alandan ve tek doz uygulaması şeklinde yapıldı. Işınlama şekli ve dozu daha önceki çalışmalar esas alınarak yapıldı (7,31).

3.2. İLAÇ UYGULAMASI VE ÖRNEKLERİN ALINIŞ ŞEKLİ

Vitamin E (α - tokoferol asetat, Evigen®) 100 IU/kg dozda ışınlama işleminden bir saat önce, subkutan yolla verildi. Amifostin (WR-2721, Ethyol®) 200 mg/kg dozda ışınlamadan yarım saat önce, intraperitoneal olarak uygulandı. İlaçların dozu ve uygulama şekilleri daha önceki deneysel çalışmalar esas alınarak belirlendi (7,32).

Işınlamadan 36 saat sonra, ketamin (50-60 mg/kg intraperitoneal) ile genel anestezi altında ratların KC ve kan örnekleri alındı. Soğuk serum fizyolojik ile KC örnekleri birkaç kez yıkandı ve özel kaplar içine konularak kan örnekleri ile beraber -70°C'de çalışma gününe kadar bekletildi.

Resim 1. Kobalt-60 teleterapi cihazında, ratların ışınlama öncesi pozisyonu



Resim 2. Amifostinin intraperitoneal yolla uygulanması



3.3. PİLAZMA TİYOL TAYİNİ

Çalışma grubundaki ratlardan elde edilen plazma örneklerinde, Koster ve ark (33) tarafından geliştirilen metot ile tiyol tayini yapıldı. Ortama konulan DTNB, sülfidril grupları tarafından hızlı bir şekilde koyu sarı renkli TNB'ye redüklenir. Oluşan TNB'nin renk şiddeti sipektrofotometrede 412 nm'de ölçülerek, tiyol seviyeleri hesaplandı. Ölçüm 50 mL plazma, 750ml 0.1 M fosfat tamponu, 7.0 mM200 ml DTNB karışımının 37°C'de beş dakika inkübe edilmesi ile gerçekleştirildi. Sonuçlar, mmol /L olarak verildi.

3.4. PİLAZMA MDA TAYİNİ

Wong ve ark. (34) tarafından geliştirilen metoda göre; lipid peroksidasyonunun yıkım ürünlerinden olan MDA'nın tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girerek, 532 nm'de maksimum absorbands veren pembe renkli kompleks oluşturur. Pembe rengin şiddeti, ortamdaki MDA konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. 1,5 mL fosforik asit (0.44 M), 0.1 mL plazma, 0.5 mL tiyobarbitürik asit (42 mM) ve 1.0 mL distile su karışımı 100°C'lik su banyosunda 60 dakika inkübe edildi. Süre sonunda buz banyosunda soğutulan tüplere eşit hacimde n-butanol eklenerek, ekstraksiyon yapıldı. Daha sonra tüpler 4000 rpm-d 10 dakika santrifüjlenerek, organik fazın üstte toplanması sağlandı. Bu fazın renk şiddeti, 532 nm'de spektrofotometre kullanarak ölçüldü ve standart eğri yardımı ile tüplerdeki MDA konsantrasyonu bulundu. Sonuçlar nmol/mg protein olarak verildi.

3.5. KARACİĞER MDA TAYİNİ

Karaciğer dokusu MDA tayininde Ohkawa ve ark.'nın (35) geliştirdiği metot kullanıldı. Yaklaşık 1 g olarak tartılan KC dokuları, 0.015 M fosfat tamponlu salin çözeltisi (pH 7.4) içerisinde 1/10 (w/v) olacak şekilde, Teflon uçlu homojenizatör yardımı ile homojenize edildi. Tüm işlemler, 4C°de yürütüldü; homojenatların 3000 rpm'de 30 dk santrifüjlenmesi ile elde edilen süpernatantlardan 0.1 ml alınarak kapaklı cam tüplere konuldu. Üzerlerine sırasıyla 0.1 ml sodyum dodesil sulfat (% 8.1), 0.75 ml asitik asit (%20:pH 5),

tiyobarbitürik asit (%0.8) ve 0.3 ml distile su eklenerek tüplerin ağzı kapatıldı. Ağızları sıkıca kapatılan tüpler, kaynar su banyosunda 60 dk kaynatıldı. Musluk suyu ile soğutulan tüplere, 0.5 ml distile su ve 2.5 ml n-butonol/piridin (15:1) konularak ekstraksiyon yapıldı. Tüplerin 4°C'de 4000 rpm'de 15 dk santrifüjlenmesi ile elde edilen pembe organik fazın absorbansı, 532 nm ayraç ile ölçüldü. Değerlendirme standart eğriden bulunan doku MDA (nmol/ml), aynı süper natanlarda Lowry yöntemi ile ölçülen protein başına nmol/mg olarak verildi.

3.6. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Çalışma gruplarından elde edilen veriler SPSS For windowsun 10.0 paket bilgisayar programı (ANOVA ve post-ANOVA-Scheffe) kullanılarak istatistiki olarak karşılaştırıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

4.BULGULAR

Çalışma gruplarında tayin edilen plazma tiyol , plazma MDA ve KC MDA değerleri tablo 6'da gösterildi. Tabloda yer alan bulgular aritmetik ortalama \pm standart sapma (SD) şeklinde verildi.

Tabloda görüldüğü gibi plazma tiyol seviyeleri, en düşük R grubu değerleri olup, K grubu ile karşılaştırıldığında istatistiki anlamlı fark vardı ($p<0.01$). R+VE grubu plazma tiyol değerleri de K grubuna göre düşük olup , fark istatikselsel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). K grubuna göre, R+A ve R+A+VE gruplarındaki plazma tiyol seviyeleri arasındaki fark, istatistiki olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). Plazma tiyol seviyeleri açısından R grubu ile R+A ve R+A+VE grupları karşılaştırıldığında; R+A ve R+A+VE gruplarındaki değerler daha yüksek bulundu ($p<0.01$). R+VE grubunda plazma tiyol değerleri, R grubu değerlerine göre daha yüksek bulunurken, aradaki fark istatikselsel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). R+A grubuna göre, R+VE ve R+A+VE gruplarındaki plazma tiyol seviyeleri daha düşük bulundu ($p<0.05$).

Tüm çalışma gruplarında, plazma MDA değerleri açısından istatikselsel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$).

En yüksek KC MDA değerleri R grubunda olup, K grubu ile kıyaslandığında, aradaki fark anlamlı bulundu ($p<0.01$). K grubu KC MDA değerleri ile kıyaslandığında, R+A grubu ve R+A+VE grubu KC MDA değerleri ile K grubu değerleri arasında anlamlı fark yoktu

($p>0.05$). R+A ve R+A+VE grupları KC MDA değerleri, R grubu değerlerinden düşük olup, aradaki fark anlamlı bulundu ($p<0.05$). R+VE grubu KC MDA değerleri, R grubu KC MDA değerlerine göre düşük olmasına rağmen fark anlamlı değildi ($p>0.05$). R+VE+A grubu ile R+A ve R+VE grupları kıyaslandığında, KC MDA değerleri açısından istatistiki anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$).

Tablo VI. Çalışma gruplarının KC dokusu MDA , plazma MDA ve plazma tiyol değerlerinin istatistiksel karşılaştırması

| Gruplar | n | plazma tiyol | plazma MDA | Karaciğer MDA |
|--|----|---------------------------|------------|--------------------------|
| Kontrol (K) | 10 | 483.4±58.6 | 1.56±0.4 | 3642.7±590.2 |
| Radyasyon (R) | 10 | 268.0±46.7 ¹ | 2.22±0.3 | 5748±1087.5 ¹ |
| Radyasyon+Amifostin(R+A) | 10 | 561.7±111.6 ² | 1.8±0.4 | 4192±783.5 ² |
| Radyasyon+Vitamin E(R+VE) | 10 | 365.6±41.4 ^{1,3} | 1.8±0.8 | 4931.3±691 ¹ |
| Radyasyon+Amifostin+VitaminE (R+A+VE) | 10 | 439.9±81.5 ^{2,3} | 1.7±0.4 | 4307.6±457 ² |
| F (ANOVA) | | 32.53 | 0.24 | 336.58 |
| P değeri | | <0.05 | <0.05 | <0.05 |

İstatistiki karşılaştırma:

¹ : Kontrol grubu ile yapılan karşılaştırmalar

² : Radyasyon grubu ile yapılan karşılaştırmalar

³ : Radyasyon+Amifostin grubu ile yapılan karşılaştırmalar

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Radyoterapide , hedef hücreler ya da dokularda hasar oluşturmak için iyonlaştırıcı radyasyonlar kullanılır. Bununla birlikte hedef olmayan hücreler ya da dokularda da radyasyon hasarı oluşur. Radyasyona maruz kalındığında vücut, serbest radikallerin oluşumuna neden olan oksidatif strese girer ve oluşan bu hasar antioksidan ya da antioksidatif enzimler ile kontrol edilebilir (36). Radyoterapinin malign tümörler üzerindeki potansiyel etkinliği, normal dokularda geç hasarlara yol açması nedeniyle sınırlı kalmaktadır.

Günümüzde, serbest radikaller nedeniyle, biyolojik moleküller, membranlar ve dokularda meydana gelen oksidasyonun, bir çok patolojik olayda önemli bir faktör olduğu, kabul edilmektedir (37). Oksijen radikallerinin toksisitesi kanser, kalp hastalıkları ve yaşlanmanın başlıca nedeni olarak gösterilmektedir. Serbest radikallerin zararlı etkileri hücrenin moleküler yapılarında, organellerinde veya daha çok membran yapısında görülmektedir. Bu değişiklikler, enzim inaktivasyonu, membran harabiyeti veya diğer değişikliklerle hücresel fonksiyonları etkilemektedir. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan MDA'nın, karaciğerde fibrozis gelişiminde rolü olduğu söylenmektedir (38).

Oksijen radikallerinin neden olduğu biyolojik hasar ile ilgili çalışmaların büyük

çoğunluğu, lipid peroksidasyonu üzerine yoğunlaşmıştır. Lipid peroksidasyonu tayini ile ilgili yöntemlerde ise çeşitli ara bileşiklerin ve son ürünlerin düzeyleri ölçülür (17).

Elli yıl önce vitamin E eksikliğinin, insanda skar benzeri doku üretimiyle sonuçlanan anormal konnektif doku onarımı ile ilişkili olduğu bulundu. Bugün vitamin E'nin, biyolojik sistemlerdeki antioksidan özelliği iyi bilinmektedir. Vitamin E, antioksidan sistemin enzimatik olmayan savunmasının esas yapılarından biri olup, radyoprotektör olarak da kabul edilir (38).

Lefaix J.L ve ark. yüksek dozda gama ışını ile oluşturulmuş subkutanöz fibrozisi tedavi etmek için α -tokoferol ve pentoksifilin etkilerini araştırmışlar ve kombine kullanımında, fibrotik doku alan ve hacminde %70 gerileme sağlamışlardır (38). Gitanjali G. ve ark. (39) yaptıkları klinik çalışmada, serviks kanserli hastalara radikal radyoterapi sırasında verilen vitamin E desteğinin plazma MDA değerlerine olan etkisini araştırmışlar ve radyoterapi ile plazma MDA değerlerinin yükseldiğini, vitamin E verilen grupta ise MDA seviyesinin azaldığını bularak, vitamin E'nin lipid peroksidasyona karşı koruyucu olduğunu belirtmişlerdir.

Farelerde tüm vücut ışınlaması sonrasında vitamin E seviyesi, karaciğerde ışınlama öncesi değerlerinin % 80'ine, ince bağırsak mukozasında %66'sına kadar azaldığı bulunmuştur. Vitamin E ve selenyumdan fakir diyetle beslenen farelerde, jejunal kript hücrelerindeki radyasyon hasarı, normal diyetle beslenen farelere göre daha fazla gözlenmiştir (40).

Böbrek, karaciğer ve kalpte vitamin E'nin, iskemi-reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğu belirtilmektedir. Yoshikawa ve ark. ratlarda, gastrik mukozada iskemi-reperfüzyon hasarı oluşumu ile vitamin E seviyesinin ilişkisini araştırmışlardır. Reperfüzyon sonrasında serum ve gastrik mukozada, vitamin E seviyesinin hızla düştüğünü, gastrik mukoza TBA-reaktif ürünlerinin aynı süre içinde arttığını göstermişlerdir (41).

Ratlarda yapılan bir çalışmada, tüm vücut ışınlaması öncesinde Vitamimin E

kullanımının, DNA ve kromozomları radyasyonun etkilerine karşı koruduğu bulunmuştur. Vitamin E'nin H atomu verici özelliği ile DNA'yı radyasyona karşı koruduğu belirtilmiştir (42).

Srıvıasan ve ark. (7) vitamin E (α - tokoferol) ve bir amifostin (WR-2721) derivesi olan WR-1065 (S-2([3-methylaminopropyl] amino) ethylphosphorothioic acid)'in tek tek ve kombine kullanımı ile birlikte ratlarda, letal dozda tüm vücut ışınlaması yapılmasının, 30 günlük sağ kalım oranlarına olan etkilerini araştırmışlardır.

100 IU/kg (66mg/kg) vitamin E dozunun 9 Gy'lik total vücut ışınlaması ile birlikte kullandıklarında, ratlardaki 30 günlük sağ kalım oranını, kontrol grubuna göre yüksek bulmuşlardır. 10 Gy'lik dozda kontrol grubundaki ratların hiçbiri 30 günlük sağ kalım göstermezken, vitamin E grubundaki sağ kalım oranını ise % 47 bulmuşlardır (7).

Çalışmalarında 100 IU/kg doz üzerindeki vitamin E dozlarının sağ kalım oranları açısından katkı sağlamadığını gözlemişlerdir. Ayrıca, daha yüksek dozlardaki enjektabl vitamin E uygulamasında, preparat içerisindeki taşıyıcıların da koruyucu etkileri olabileceğinden, salt vitamin E etkisinin ayırt edilemeyeceğini belirtmişlerdir. 100 IU/kg dozdaki vitamin E uygulamasında, kontrol gruplarının birine de aynı miktarda enjektabl vitamin E taşıyıcılarından oluşan karışımı vermişler; ancak kontrol grubuna göre sağ kalım oranlarında fark bulamamışlardır (7).

Çalışmamızda, biz de 100 IU/kg dozda vitamin E kullandığımızdan, taşıyıcı maddelerin etkisi için ayrı bir kontrol grubu oluşturmadık.

Fosfotiyoller gibi en etkili radyoprotektörler ışınlama sonrası uygulamada etkili olamamaktadır. Vitamin E, ışınlama sonrası uygulamada da etkili olan hücre koruyucuların (serbest radikal yakalayıcıları ya da antioksidanlar), bir diğer sınıfına aittir. Bu yapılar muhtemelen daha geç reaksiyonlarda görev almaktadırlar (32).

X ve γ ışınları için doz hızı (birim zamanda doku tarafından absorbe edilen radyasyon miktarı), absorbe edilen dozun oluşturacağı biyolojik sonuçlar bakımından, önemli

faktörlerden biridir. Aynı dozdaki radyasyonun düşük doz hızında uygulanması ile ortaya çıkan biyolojik hasar derecesinin, daha yüksek doz hızında uygulanmasına oranla daha az olduğu saptanmıştır (5,43).

Srinivasan ve ark. (7) bütün ışınlamalarını 20 cGy/dk doz hızında gerçekleştirmişlerdir. Daha yüksek doz hızındaki radyasyonun indüklediği lipid peroksidasyonuna karşı vitamin E etkisinin daha az etkili olduğunu belirtmişlerdir. Ancak daha yüksek doz hızındaki iyonlaştırıcı radyasyon uygulamalarına karşı, vitamin E'nin etkisini inceleyerek, çalışmalar yapılmasını da tavsiye etmişlerdir.

Bizim çalışmamızdaki ratlara uygulanan radyasyonun doz hızı ise 52 cGy/dk olup, 20cGy/dk'lık doz hızına göre daha yüksektir. Çalışmamızda vitamin E, radyasyonun indüklediği lipid peroksidasyonu sonucu oluşan, KC MDA ve plazma tiyol değerlerinde R grubuna göre nispeten bir düzelme sağlarken, anlamlı bir sonuç elde edemedik. Çalışmamızda, vitamin E ile lipid peroksidasyonuna karşı etkili bir sonuç bulamamamızın muhtemel sebeplerinden birisinin de uyguladığımız ışınlamanın doz hızının (52cGy/dk), Srinivasan ve ark.'nın çalışmalarında kullandıkları ışınlamanın doz hızına (20cGy/dk) göre daha yüksek oluşu olabilir. Vitamin E'nin 20 cGy/dk' dan daha düşük doz hızına sahip ışınlamayla kullanıldığında, nispeten daha yüksek doz hızlarındaki ışınlamaya göre daha fazla radyoproteksiyon sağladığı belirtilmektedir (32).

Vitamin E ile yapılan çalışmalar daha çok, vitamin E'nin letal dozda ışınlama yapılmış ratlardaki, sağ kalım oranlarındaki etkilerini araştıran çalışmalardır. Ratlarda elde edilen sağ kalım oranlarındaki bu artışın vitamin E'nin immün modülatör etkisinden mi yoksa antioksidan özelliğinden mi kaynaklandığı açık değildir (7,32). Nitekim, bizim çalışmamızda da radyasyonla oluşturduğumuz lipid peroksidasyon hasarının ürünlerinden olan MDA değerlerinde etkili bir düzelme sağlayamamıştır. Bulduğumuz bu sonuç bizi, önceki çalışmalarda bulunan vitamin E'nin radyoprotektif etkisinin, immün modülatör özelliğinden kaynaklanabileceği düşüncesine sevk etmektedir.

Çalışmamızda, vitamin E ile etkili bir sonuç bulamayışımızın sebeplerinden birisinin de, ratlara tüm vücut ışınlamasıyla birlikte verilen vitamin E'nin 100 IU/kg'lık dozunun (7,32) radyasyonun indüklediği lipid peroksidasyonundan korumada yetersiz olabileceğidir. Bu nedenle daha yüksek dozlarda vitamin E kullanılarak yapılacak olan çalışmalara ihtiyaç vardır.

WR-2721'in metillenmiş bir derivesi olan WR-3689 ile vitamin E kombinasyonu sonucunda, WR-3689'un daha düşük dozlarının vitamin E ile birlikte kullanmakla yüksek dozlardaki WR-3689'un etkisine ulaşabileceği; böylece daha az toksik etki ile karşılaşılacağı belirtilmektedir. Ratlarda WR-3689'u, 13 Gy gibi oldukça yüksek dozdaki ışınlamada, 225 mg/kg dozda kullandıklarında % 53 gibi yüksek 30 günlük sağ kalım oranı elde etmişlerdir. Sağ kalım oranı, aynı radyasyon dozunda WR-3689'u vitamin E ile kombine ettiklerinde ise % 81'e yükselmiştir. WR-3689'u 150 mg/kg dozda uyguladıklarında ise 30 günlük sağ kalım % 0 iken, vitamin E (ışınlamadan bir saat önce) ile birlikte yine aynı dozda WR-3689 kullandıklarında yine % 81'lik sağ kalım oranına ulaşabilmişlerdir (7).

Organizmada serbest radikal olarak sadece oksijen metabolitleri değil, aynı zamanda oksijen türevi olmayan serbest radikaller de bulunur. Tiyol bileşikleri (sülfidril grupları), geçiş metalleri varlığında oksitlenerek kükürt merkezli tiyol radikallerini yaparlar (43). Sülfidril grupları reaktif oksijen türlerinin zararlı, hasar verici etkilerine karşı korumada esansiyeldir (44,37). Sülfidril grupları bir çok proteinin fonksiyonu için önemlidir. Sülfidril grupları, etkilerini vitamin E ile birlikte gösterir. Lipid peroksidasyonu sırasında sülfidril gruplarının kaybı tokoferol gibi antioksidanların kaybı ile paraleldir. (37).

Proteinlerin sülfidril gruplarının korunması için yüksek konsantrasyonda glutatyon (GSH) gereklidir. Proteinlerle yakın ilişkisi nedeniyle sülfidril gruplarının etkinliği belirlenirken plazmada total protein seviyeleri de göz önüne alınmaktadır (44).

Sülfidril grupları taşıyan bileşiklerin serbest radikallere karşı özel bir ilgileri vardır. Bunların hücre içerisinde bulunmasıyla radikallerin bir kısmını temizleyebileceklerinden,

radasyonun etkilerinde azalmaya sebep olacaklardır. Memeli hücrelerindeki başlıca protein-dışı tiyoller şunlardır:

- Sistein — doğal bir amino asit
- Sisteamin — dekarboksile olmuş sistein
- Glutasyon — en yaygın protein dışı tiyol

Hayvanlarla yapılan çalışmalarda ve doku kültürü hücrelerinde, bu yapıların radyasyon uygulamasından hemen önce verilmesiyle hasar miktarında azalma olmaktadır. Bu maddelerin verilmesiyle aynı seviyede radyasyon hasarı oluşturmak için uygulanacak radyasyon dozunu yaklaşık iki katına kadar artırmak gerekmektedir (4).

Glutasyon endojen bir radyoprotektif olup, radyasyonun indüklediği serbest radikalleri temizler ve oluşan hasarın tamirine izin verir (45). Amifostin fosforlanmış aminotiyol yapısında bir ön ilaç olup, sisteamin analogudur ve normal dokuları kemoterapi ve radyoterapinin toksik etkilerinden koruyan selektif hücre koruyucu etkisi vardır. Etki mekanizması hakkında fazla deneysel çalışma olmayıp, son zamanlarda yapılan invitro bir çalışmada, esas olarak OH^\bullet radikali yakalayıcı özelliği ile antioksidan etki gösterdiği belirtilmiştir (46).

Çalışmamızda, ratlara radyasyon uygulanmasıyla plazma tiyol seviyelerinde azalma olmuştur. Ancak, radyasyon uygulaması öncesinde amifostin verilmesi, plazma tiyol bileşiklerindeki azalmayı engellemiştir. Radyasyonun sebep olduğu oksidatif strese karşı ilk olarak amifostin müdahale ederek, plazma tiyollerini koruduğunu söyleyebiliriz. Bilindiği gibi plazma tiyollerinin en önemlilerinden biri glutasyon olup, bununda en önemli kaynağı KC'dir (4). Amifostinin, plazma tiyol seviyelerinde olan azalmayı önleyici etki ederek, KC'i radyasyonun oksidatif hasarına karşı koruduğunu söyleyebiliriz.

Amifostinin karaciğer üzerine lipid peroksidasyonunu azaltarak radyoproteksiyon sağladığını gösteren daha önce yapılmış bir çalışma bulamadığımızdan, sonuçlarımızı diğer

organlarla yapılan benzer çalışmalarla karşılaştırmayı uygun bulduk.

Mertsch K. ve ark. (47), aort endotel hücrelerinde, hipoksi/reoksijenasyon sonrasında oluşan MDA değerlerinin, amifostin ile %50 oranında azaldığını bulmuşlardır.

Bizim çalışmamızda ise, radyasyonun indüklediği lipid peroksidasyonu sonucunda karaciğerde oluşan MDA değerleri, amifostin verilen grupta %30 daha düşük bulundu. Amifostine vitamin E ilavesinin, MDA değerleri üzerinde aditif yada sinerjik etki gibi herhangi bir etkisi olmadı. Çalışmamızda 800 cGy gibi yüksek dozda ışınlama yapmamıza rağmen, amifostin, karaciğeri radyasyona bağlı lipid peroksidasyonuna karşı çok etkili bir şekilde korumuştur. Özellikle, tüm vücut ışınlamasının kullanıldığı kemik iliği transplantasyonu sonrasında gelişen ve tedavilere cevap vermeyen karaciğer hepatopatisi ve veno-okluzif karaciğer hastalığına karşı amifostinin etkili bir şekilde kullanılabilmesi için, çalışmamıza benzer deneysel ve klinik araştırmaların yapılmasının uygun olacağı düşüncesindeyiz.

Son yıllarda üç boyutlu tedavi planlamasının dikkatli kullanımı ile normal karaciğer dokusunu, ışınlanan tümörlü alandan güvenilir bir şekilde ayırarak, etkili radyasyon dozları uygulanabilir görünmektedir (15). Bu strateji, yaygın karaciğer tutulumu olmaksızın dörtten daha az lezyonu olan hastalar için başarılı olmuştur. Buna rağmen daha yaygın karaciğer hastalığını kontrol etmek için uygulanacak olan radyoterapi, radyasyonla indüklenmiş karaciğer hastalığında büyük artışa sebep olacaktır. İyonize radyasyona karşı normal KC dokusunu korumak için radyoprotektif ajanlar, kısıtlı olsa çalışılmıştır (9). Normal KC dokusunun radyasyonun toksik etkilerinden koruyan maddelerin bulunması KC in radyoterapi alanına girdiği ışınlamalarda (tüm batın ışınlaması, tüm vücut ışınlaması ve KC in primer ve metastatik tutulumları gibi), önemli komplikasyon oluşturmadan etkili radyasyon dozlarına çıkılması mümkün olacaktır.

G. Giğanjaki ve ark. 50 serviks kanserli hastanın 25'ine radyoterapi öncesi oral vitamin E preparatı vermişler ve radyoterapi sonrası E vitamini alan grupta MDA seviyelerinin daha

düşük olduğunu bulmuşlardır. Vitamin E desteğinin lipid peroksidasyonunu azaltarak radyoprotektif etki gösterdiğini belirtmişlerdir (39).

Bizim çalışmamızda, plazma MDA değerlerinde kontrol grubuna göre hiçbir grupta anlamlı artış olmadı. Ancak KC MDA değerleri arasında radyasyon uygulamasıyla belirgin artış olduğunu gözledik. Işınlamadan sonra örneklerin alınışına kadar geçen 36 saatlik sürenin KC MDA seviyelerindeki artışı bulmamızda yeterli iken, bu değişikliğin plazma MDA seviyelerine yansması için yetersiz kalmıştır. Plazma MDA seviyesi için sürenin daha uzun tutulmasının uygun olacağı kanaatindeyiz.

Daha önceki yapılan çalışmalarda ışınlama sonrası MDA seviyesindeki artış radyasyon dozuna ve örneklerin alınışına kadar geçen süreye bağlı olduğu belirtilmekte, ancak hangi doz için ne kadar bekleneceği belirtilmemektedir. Daha önce yaptığımız bir çalışmada, radyasyon uygulaması sonrasında kalp MDA seviyelerinde ilk 24. saatte anlamlı artış olurken, 72. saatteki seviyeler kontrol grubu kalp MDA seviyelerine yakın bulunmuştu (48). Sekizyüz cGy dozda tüm vücut ışınlaması ile, melatoninin rat KC'indeki radyoprotektif etkisini araştıran Korbownic M. ve ark. 800 cGy dozda tüm vücut ışınlaması sonrası 12. saatte KC örneklerini almışlar, fakat MDA seviyelerinde bir artış bulamamışlardır (31).

Bizim çalışmamızda aynı radyasyon dozunda ışınlama sonrası 36. saatte KC MDA seviyelerinde belirgin yükselme olmuştur. Amifostin alan grupta ise MDA değerleri kontrol grubuna yakın bulundu. Radyasyonun KC'e toksik etkisi ile oluşan MDA seviyeleri amifostin tarafından azaltılarak, KC'in radyasyonun toksik etkisine karşı korunduğunu söyleyebiliriz.

Sonuç olarak, karaciğerde radyasyonun sebep olduğu oksidatif hasarın, amifostin varlığında önlenemediği gözlemlendiğinden; amifostinin bir radyoprotektif ajan olarak, karaciğerin radyoterapi alanına girdiği ışınlamalarda kullanılması önerilebilir, ancak daha fazla deneysel ve klinik çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

6.ÖZET

Çalışmamızda, radyoterapide doz kısıtlayıcı organlardan biri olan karaciğerdeki radyasyon hasarına karşı vitamin E ve amifostinin hücre koruyucu etkileri olup olmadığını araştırmayı planladık. KC'deki akut radyasyon hasarını, lipid peroksidasyonu ürünlerinden malondialdehidin (MDA), KC dokusunda ve plazmada ölçümü ile belirleyip, amifostin ve vitamin E'nin oluşabilecek bu hasara karşı koruyucu olup olmadıklarını araştırmayı planladık.

Tiyoller (sülfidril içeren gruplar) dokuların radyasyona karşı direnç ve duyarlılığında önemli rol oynayan yapılar olup , çalışmamızda radyasyonla birlikte vitamin E ve amifostin kullanımının plazma tiyol seviyelerine olan etkilerini de araştırdık.

Çalışmamızda kullandığımız ratları, her grupta 10 rat olmak üzere; kontrol (K) grubu, yalnız radyasyon grubu (R), radyasyon +amifostin (R+A) grubu, radyasyon + vitamin E (R+VE) grubu ve radyasyon + amifostin + vitamin E (R+A+VE) grubu olmak üzere beş

gruba ayırdık. K grubu hariç, bütün gruplardaki ratlara, 800 cGy dozda tüm vücut ışınlanması şeklinde radyasyon verdik. Vitamin E'yi radyasyon uygulamasından bir saat önce, 100 IU (66 mg) dozda, subkutan olarak ; amifostini ışınlamadan yarım saat önce 200 mg/kg dozda intraperitoneal olarak verdik. Radyasyon uygulamasından 36 saat sonra, genel anestezi sağlanarak alınan KC ve kan örneklerinde , KC-MDA, plazma-MDA ve plazma-tiyol ölçümleri yapıldı. Ggruplar arasında istatistiksel anlamlı fark olup olmadığı, Anova ve post-Anova-Scheffe prosedürleri uygulanarak saptandı. İstatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

R grubu KC-MDA ve plazma tiyol değerleri K grubu değerleri ile kıyaslandığında; R grubu KC-MDA değerleri anlamlı derecede yüksek, plazma tiyol değerleri ise anlamlı derecede düşük bulundu. R grubu plazma MDA değerleri ile K grubu plazma MDA değerleri arasında fark bulunamadı. R+A ve R+A+VE gruplarının KC-MDA ve plazma-tiyol değerleri R grubu değerleri ile kıyaslandığında; her iki grubun KC-MDA değerleri anlamlı ölçüde düşük, plazma-tiyol değerleri ise anlamlı ölçüde yüksek bulundu. R+VE grubu ile R grubu KC-MDA ve plazma tiyol değerleri arasında fark bulunmadı.

Sonuç olarak, karaciğerde radyasyonun sebep olduğu oksidatif hasarın, amifostin varlığında önlenemediği gözlemlendiğinden; amifostinin bir radyoprotektif ajan olarak, karaciğerin radyoterapi alanına girdiği ışınlamalarda kullanılması önerilebilir, ancak bunu destekleyen yeni deneysel ve klinik çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

7.SUMMARY

In this study, we planned to research whether amifostine and vitamin E are cell protector against to liver damage that caused by radiation. We tried to detect liver damage by measuring melondialdehyd (MDA) which one of lipid peroxidation products, at liver tissue and plasma, therefore we able to learn the cell protector effect of amifostine and vitamin E.

Thiols, which included sulfidriils, are very important structures that have an crucial role of the tissue sensation and damage against to radiation. We researched in this study the effect of amifostine and vitamin E on the level of plasma thiols.

We used five rat groups that each of them included ten rats. The first group was the control group (C) in which we never used amifostine and/or vitamin E nor radiation. Second group was the radiation alone group (R). Third group was the radiation and amifostine group (R+A). Fourth group was the radiation and vitamin E group (R+Vit E). The fifth group was the radiation + amifostine +vitamin E group (R+A+Vit E). Radiation aproved as 800 cGy whole body irradiation. Vitamin E was administered 100 IU (66 mg) one hour before radiation subcutaneously. Amifostin was used intraperitoneally as 200 mg/kg dose half an hour before radiation. Liver tissue and plasma samples was taken under general anesthesia 36

hour after irradiation. We measured liver and plasma MDA and plasma thiol levels. We used Anova and post-Anova-Scheffe statistical method to show difference between all groups. $P < 0.05$ was accepted as a statistical significance value.

RESULTS: When we compared the level of MDA and thiol at liver and plasma between C and R group, we found liver MDA level significantly higher in R group than C group, and plasma thiol level significantly lower in R group than C group. We couldn't find any difference between R and C group plasma MDA levels. When we compared liver MDA and plasma thiol levels between R+A, R+A+Vit E and R groups, we found significantly lower liver MDA level and significantly higher plasma thiol level in R+A and R+A+Vit E groups. We couldn't find a significant difference at liver MDA and plasma thiol level between R+Vit E and R alone groups.

CONCLUSIONS: We may suggest to use amifostine on irradiation of liver since we saw protection to some extent against radiation oxidative damage of liver, but it needs more experimental and clinical studies.

8.KAYNAKLAR

1. Perez CA, Brady LW. Principle and practice of radiation oncology. Third ed.S.B.Lippincott Company ,Philadelphia, 1998.
2. Lavey RS, Poen JC. Principles of radiation oncology. Cameron RB. Practical oncology. Appleton and Lange, 1994.
3. Kse K, Dođan P. lipid peroksidasyonu. Erciyes Tıp Dergisi, Prof.Dr. Ahmet Bilge zel Sayısı. 340-350, 1992.
4. Steel GG. Basic clinical radibiology.Edward Arnold, 1997.
5. zalpan A.Temel radyobioloji. Hali Üniversitesi Yayınları, 2001.
6. Wasserman T. Radioprotective effects of amifostine. Türk Oncol. D. 13(3):74-78, 1998.
7. Srinivasan V, Weis JF. Radioprotection by vitamin E: injectable vitamin E administered alone or with WR-3689 enhances survival of irradiated mice. İnt.J.Radiat.Oncol.Biol.Phys. 23(4):841-845, 1992.
8. Liebel S A. Accelerated fractionation radiation therapy for liver metastases: selection of an optimal patient population for the evaluation of late hepatic injury in RTOG studies.İnt.J.Radiat.Oncol.Biol.Phis.18(3):523-528, 1990.
9. Symon Z, Levi M, Ensminger WD, Smith DE, Lawrence TS. Selective radioprotection of hepatocytes by systemic and portal vein infusions of amifostine in rat liver tumor model. İnt.J.Radiat.Oncol.Biol.Phys.50(2):473-478, 2001.

10. Cox JD. Moss' radiation oncology rationale, technique, results .Seven ed.Mosby,United States of America. 1994.
11. Shaheen AA, Hassan SM. Radioprotection of whole-body gamma-irradiation-induced alteration in some haematological parameters cysteine, vitamin E and their combination in rats.Strahlanther Oncol.167(8):498-501, 1991 (abs.).
12. Türkoğlu MU, Erbil Y, Öztezcan S. The effect of selenium and/or vitamin E treatments on radiation induced intestinal injury in rats. Life sci .66(20):1905-1913,2000 (abs.).
13. Tubiana M, Dutreix J, Wambersie A. İntrroduction to radiobiology.(trans. by) Bewley DR. London,New york,Philadelphia:Taylor and Francis:1990.
14. Nias ahw.An introduction to radiobiology.second ed.Wiley,1998.
15. Lawrence TS.et al. The use of 3-D dose volume analysis to predict radiation hepatitis.İnt.J.Radiat.Oncol.Biol.Phys.23(4):781-88, 1992.
16. Lawrence TS. et al.Hepatic toxicity resulting from cancer treatment.İnt.J.Radiat.Oncol.Biol.Phys.31:1237-1248, 1995.
17. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri.Mimoza,Konya,1995.
18. Kayaalp SO. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. Dokuzuncu bsk. Ankara:Hacettepe-Taş,2000:2.cilt.s.1559-1563.
19. Yenson M. İnsan biyokimyası.Genişletilmiş yadinci bsk.Ankara: Güneş Kitapevi ltd.şti,1995:pp 665-668
20. Cooper MR. Systemik therapy. Lenhard ER, OsteenRT, Gansler T(eds), American Cancer Society Textbook of Clinical Oncology.Atlanta:American Cancer Society,3:204-205,2001.
21. Capizzi RL. The prencipal basis for broad-spectrum selectif cytoprotection ot normal tissues from cytotoxic therapies by amifostin.Sem in Oncol.26(2),suppl 7:3-21,1999.
22. Baykal Y,Gök F,Erikçi S.Demir,serbest radikaller ve oksidatif hasar.Sendrom.14(1):94-100,2002.

23. Geist BJ, Lauk S. Physiological consequences of local heart irradiation in rats. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 18:1107-1113, 1990.
24. Koster JF, Biemond P. Lipid peroxidation and myocardial ischemic damage: cause or consequence. *Am. J. Cardiol.* 68(4):392-395, 1995.
25. Cadanes E. Biochemistry of oxygen toxicity. *Ann. Rev. Biochem.* 58:79-110, 1989.
26. Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen radicals and the nervous system. *TINS* 8:22-29, 1985.
27. Adams JD, Odunze IN. Oxygen free radicals and Parkinson's disease. *Free radical biology medicine* 10:161-169, 1991.
28. Clemens MR, Waller HD. Lipid peroxidation in erythrocytes. *Chemistry and Physics of Lipids.* 45:251-268, 1987.
29. Gutteridge JMC, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends. Biochem. Sci.* 15:129-135, 1990.
30. Yoshikawa T. Free radicals their scavengers in Parkinson's disease. *Eur. Neurol.* 33(suppl1):60-68, 1993.
31. Karbownik M, et al. Protective effect of melatonin against oxidation of guanine bases DNA and decreased microsomal membrane fluidity in rat liver induced by whole body ionizing radiation. *Molecular and Cellular Biochemistry* 211:137-144, 2000.
32. Weiss JF, Landauer MR. Radioprotection by antioxidants. *Ann NY Acad sci* 299:44-60, 2000
33. Koster JF, Biemond B, Swaak AJG. Intracellular and extracellular sulphhydryl levels in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 45:44-46, 1986.
34. Wong HY, Knight JA, Hopher SM, Zaharia O, Leach CN. Lipoperoxides in plasma as measured by liquid-chromatographic separation of malodialdehyde-thiobarbituric acid adduct. *Clin Chem* 33:214-220, 1987.

35. Ohkawa W, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95:351-358,1979.
36. Umegaki K.et al.Increased in 4-hydroxynonenal and hexanal in bone marrow of rats subjected to total body X-ray irradiation: association with antioxidant vitamins.*Bone Marrow Transplantation*.23:173-178,1999.
37. Sies H.Oxidative stress:from basic research to clinical application.*Am J Med (suppl 3C)*:31S-37S,1991.
38. Lefax JL Delanian S,Vozenin MR.Striking regression of subcutaneous fibrosis induced by high doses of gama rays using a combination of pentoxifylline and α -tocoferol:an experimental study. *Int.J.Radiat.Oncol.Biol.Phys*.43(4):839-847,1999.
39. Gitanjali G, Ghalaut V, Rakshak M.Correlation of lipid peroxidation and alpha-tocopherol supplementantation in patients with cervikal carcinoma, receiving radical radiotherapy.*Gynecol Obstet Invest*.48:197-199,1999.
40. Batist G, Reynaud A, Katki AG. Enzymatic defense aginst radiation damage in mice: effect of selenium and vitamin E depletion.*Biochem Pharmacol*.35(4):601-606,1986.
41. Yoshikawa T,Yasuda M,Ueda S. Vitamin E in gastric mucosal injury induced by ischemia-reperfusion.*Am J Clin Nutr* 53:210-214,1991.
42. Sarma L, Kesevan PC. Protactif effects of vitamins C and E against γ -ray- induced chorosomal damage in mouse.*Int J Radiat biol* 63(6):759-764,1993.
43. Hall E J. *Radiobiology for the radiologist*. Third ed. Lippincott. Philadelphia,1988,pp:116-117
44. Bost A,Haenen GR, Doelman CJA. Oxydant and antioxydants:State of the Art.*Am J Med (suppl 3C)*: 2S-13S,1991.
45. Revesz L,Edgren MR, Wainson AA. Selectif tokxicity of buthionne sufoximn (BSO) to melanoma cells in vitro and in vivo.*Int J Radiat. Oncol Biol.Phys*. 29(2):403-406,1994.

46. Marzatico F, Porta C, Moroni M. In vitro antioxidant properties of amifostine (W2721, Ethiol) .Cance Chemother Pharmacol 45:172-176,2000.
47. Mertsch K, Grune T, Kunstman S. Protective effects of the thiophosphate amifostine (WR-2721) and lazaroïd (U8383E) on lipid peroxidation in endothelial cells during hypoxia/reoxygenation. Biochem Pharmacol 55:945-954,1998.
48. Karahacıoğlu E, Yıdız OG, Saraymen R. Ratlarda torakal radyoterapi ile simultane paklitaksel (taxol) uygulamasının kardiyak doku üzerine etkilerinin lipid peroksidasyonu ve histopatoloji yönünden değerlendirilmesi. Türk onkoloji Dergisi. 14(3):128-133,1999.



**T.C. TÜRK KÖKETİM KURULU
BİRÜMÜNE BAĞLI
BİRÜMÜNE BAĞLI**