



T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA DOKSORUBİSİNİN TETİKLEDİĞİ
KARDİYOTOKSİSİTENİN ÖNLENMESİNDE NEBİVOLOL VE
ATORVASTATİNİN KARDİYOPROTEKTİF ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Turgay BURUCU

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Ataç ÇELİK

TOKAT
2013

TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince bilimsel gelişmemde beni destekleyen değerli hocalarıma ve tez danışmanım Doç. Dr. Ataç Çelik'e teşekkürlerimi sunarım. Patoloji AD. öğretim üyesi Yard. Doç. Dr. Fatma Markoç, Biyokimya AD. öğretim üyesi Yard. Doç. Dr. Erkan Söğüt ve Fizyoloji AD. öğretim üyesi Doç. Dr. Fatih Ekici'den çalışmamla ilgili destekleri için teşekkür ederim. Deney hayvanı temininde yardımlarından dolayı veteriner hekim Tamer Yener'e teşekkür ederim. Yoğun klinik faaliyetler nedeniyle yeterince zaman ayıramadığımı düşündüğüm canımdan çok sevdiğim değerli eşim Kübra Emiroğlu Burucu'dan özür dileyerek, bana vermiş olduğu destekten dolayı sevgiyle kucaklıyorum. Ayrıca üzerime emeği geçmiş olan tüm hocalarım, dostalarım ve arkadaşlarıma da teşekkürü bir borç bilirim

ÖZET

Amaç: Sıçanlarda doksorubisinin yol açtığı kardiyotoksisitenin önlenmesinde nebivolol ile atorvastatinin etkisini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntemler: Toplam 35 adet Wistar Albino rat türü kullanılarak 5 grup oluşturuldu ve ratlar kontrol grubu (grup 1), doksorubisin grubu (grup 2), doksorubisin + atorvastatin grubu (grup 3), doksorubisin + nebivolol grubu (grup 4) ve doksorubisin + atorvastatin + nebivolol grubu (grup 5) ayrıldı. Doksorubisin (18 mg/kg) dozunda kullanılarak ratlarda kardiyotoksisite geliştirildi. Ratlara kardiyotoksisite indüksiyonundan 5 gün öncesinden başlanarak 5 gün sonrasına kadar günlük oral gavaj yöntemi ile atorvastatin (100 mg/kg) ve nebivolol (6 mg/kg) uygulandı. Çalışma sonunda serumda malondialdehit, superoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve troponin I düzeylerine bakılarak kalbin patolojik incelemesi yapıldı. Çalışma öncesi ve çalışma sonu ratların EKG' leri çekildi. Gruplar arası karşılaştırmada Mann-Whitney U" ve "Kruskal-Wallis" tek yönlü varyans analiz testi ve Fisher'in kesin kıkare testi kullanıldı.

Bulgular: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, gruplarda 5. gün troponin değerleri anlamlı olarak yüksekti (0 ile 342.1±32.2, 440.2±25.9, 423.9±99.8, 291.7±68.7, $P<0.05$). Atorvastatin ve nebivolol, MDA düzeyini doksorubisine kıyasla düşürdü. (0.71±0.09, 0.80±0.13 ile 1.06±0.21, $P <0.05$). Doksorubisin alan gruplarda dejenerasyon arttı. Atorvastatin grubuna göre nebivolol alan grupta daha düşük dejenerasyon skoru saptandı ($P<0.05$). Doksorubisin alan grupta EKG'de QRS süresi arttı (-0.57±0.53 ile 2.57±0.78, $P<0.05$). Nebivolol grubunda, doksorubisin grubuna göre QRS süresi daha az uzadı. (0.14±1.34 ile 2.57±0.78, $P<0.05$). Atorvastatin grubundaki QTc uzaması diğer gruplara göre anlamlı olarak daha fazlaydı. (42.22±18.85 ile sırasıyla 1.97±3.92, 6.23±28.09, 10.47 ±11.69, 4.17±5.42, $P<0.05$).

Sonuç: Doksorubisinin indüklediği kardiyotoksisitenin önlenmesinde nebivolol, atorvastatine göre daha etkili olabilir.

Anahtar Kelimeler: Doksorubisin, kardiyotoksisite, nebivolol, atorvastatin

Destekleyen kurumlar: GOÜ-BAP 2011/96

ABSTRACT

Purpose: This study focused on the possible protective effect of nebivolol and atorvastatin in doxorubicin induced cardiotoxicity in rats

Materials and methods: Cardiotoxicity was induced with doxorubicin (18 mg/kg) on 35 Wistar Albino rats and these were divided into 5 groups; control group (group 1), doxorubicin group (group 2), doxorubicin + atorvastatin (group 3), doxorubicin + nebivolol (group 4) and doxorubicin + atorvastatin + nebivolol (group 5). Rats were given doxorubicin (18 mg/kg administered intraperitoneally) and treated 5 days before to 5 days after cardiotoxicity induction with atorvastatin (100 mg/kg administered oral) and nebivolol (6mg/kg, administered oral). Serum malondialdehyde, serum superoxide dismutase, serum glutathione peroxidase and serum troponin I levels were examined and pathologic examinations were done. ECG was performed before and after medication. Comparison between the groups, the Mann-Whitney U and Kruskal-Wallis one-way analysis of variance test and Fisher's exact chi-square test was used for cases.

Results: Troponin value collected on the 5th day from the control group was significantly different from the other groups (0 vs. $342,1 \pm 32$, $440,2 \pm 25,9$, $423,9 \pm 99,8$, $291,7 \pm 68,7$, $P < 0,05$). Atorvastatin and nebivolol compared with doxorubicin reduced the level of MDA ($0,71 \pm 0,09$, $0,80 \pm 0,13$ and $1,06 \pm 0,21$, $P < 0,05$). Doxorubicin increased degeneration of the groups. Nebivolol degeneration score was lower than the group receiving atorvastatin. ($P < 0,05$) QRS duration increased the group receiving only doxorubicin ($-0,57 \pm 0,53$ vs. $2,57 \pm 0,78$, $P < 0,05$). QRS duration prolongation was less than nebivolol group compared with doxorubicin. ($0,14 \pm 1,34$ vs. $2,57 \pm 0,78$, $P < 0,05$). QTc prolongation was significantly higher than the other groups ($42,22 \pm 18,85$ vs. $1,97 \pm 3,92$, $6,23 \pm 28,09$, $10,47 \pm 11,69$, $4,17 \pm 5,42$, $P < 0,05$).

Conclusion: Nebivolol, may be more effective than atorvastatin on the prevention of doxorubicin-induced cardiotoxicity.

Keywords: Doxorubicin, Cardiotoxicity, Nebivolol, Atorvastatin

Supported by GOÜ-BAP 2011/96

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET.....	iv
İNGİLİZCE ÖZET	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xi
RESİMLER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Doksorubisin.....	3
2.1.1. Doksorubisinin Genel Özellikleri	3
2.1.2. Doksorubisinin Kimyasal Yapısı	3
2.1.3. Doksorubisinin Yan Etkileri	4
2.1.4. Doksorubisinin Toksisitesi.....	5
2.1.5. Doksorubisin ve Serbest Radikal Mekanizması.....	5
2.1.6. Doksorubisin ve Kardiyotoksitesi	5
2.1.7. Doksorubisin Kardiyotoksitenin Engellenmesi.....	8
2.1.8. Kalp Koruyucu Ajanlar	9
2.2.Nebivolol	9
2.2.1. Nebivololün Kimyasal Özellikleri	10
2.2.2. Nebivololun Farmakodinamiği	11
2.2.4. Nebivololun Farmakokinetiği	11
2.2.5. Nebivololün Yan Etkileri	11

2.3. Atorvastatin	12
2.3.1. Atorvastatinin Kimyasal Özellikleri	12
2.3.2. Atorvastatinin Farmakodinamiği	12
2.3.3. Atorvastatinin Farmakokinetiği	13
2.3.4. Atorvastatinin Yan Etkileri	13
2.3.4. Statinlerin Pleiotropik Etkileri	13
2.4. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller	15
2.4.1. Serbest Radikallerin Etkileri	16
2.4.2. Membran Lipitlerine Etkileri (Lipit Peroksidasyonu)	16
2.5. Antioksidan Maddeler	17
2.5.1. Glutasyon Peroksidaz	17
2.5.2. Süperoksit Dismutaz	18
2.6. Miyokard Hasarının Belirlenmesinde Biyokimyasal Göstergeler	18
2.6.1. Miyogloblin.....	18
2.6.2. Kreatin kinaz ve kreatin kinaz-MB	18
2.6.3. Laktat dehidrogenaz	19
2.6.4. Kalp yağ asidi bağlayıcı protein.....	19
2.6.5. Kardiyak troponinler.	19
2.7. Elektrokardiyografi	20
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	22
3.1. Gereç	
3.1.1. Çalışmanın etik kurul onayı ve proje desteği.....	22
3.1.2. Deneklerin özellikleri.....	22
3.1.3. Çalışmada kullanılan İlaçlar.....	22
3.2. Yöntem	23
3.2.1. Grupların oluşturulması	23
3.2.2. EKG çekimi.....	23
3.2.3. Biyokimyasal ve patolojik analiz için örnek alma	24
3.2.4. Biyokimyasal Analizler.....	24
3.2.5. Patolojik analiz.....	25

3.3. İstatistiksel Analiz	26
4. BULGULAR	27
4.1. Genel klinik değerlendirme.....	27
4.2. Biyokimyasal parametrelerdeki bulgular	27
4.3. Elektrokardiyografik bulgular.....	29
4.4. Histopatolojik bulgular.....	32
5. TARTIŞMA	37
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	42
7. KAYNAKLAR	44

SİMGELER VE KISALTMALAR

DNA	:Deoksiribonükleik asit
RNA	:Ribonükleik asit
MDA	:Malondialdehid
GPX	:Glutasyon peroksidaz
SOD	:Süperoksid dismutaz
NO	:Nitrik oksit
NOS	:Nitrik oksit sentaz
LDL-K	:Düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol
HDL-K	:Yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol
H ₂ O ₂	:Hidrojen peroksit
CK	:Kreatin kinaz
EKG	:Elektrokardiyografi
TNNI	:Troponin I
QTc	:Düzeltilmiş QT
İP	: İntraperitoneal

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Doksorubisinin kimyasal yapısı.....	4
Şekil 2. Nebivololün üç boyutlu yapısı.....	10
Şekil 3. Atorvastatinin kimyasal yapısı	12
Şekil 4. Statinlerin etkileri	14
Şekil 5. Deneklerin EKG örnekleri.....	29

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Histopatolojik dejenerasyon skorlaması	25
Tablo 2. Histopatolojik fibrozis skorlaması	26
Tablo 3. Deneklerin bazal kiloları ve kilo değişimleri	27
Tablo 4. Deneklerin biyokimyasal analiz sonuçları	28
Tablo 5. Deneklerin bazal elektrokardiografik analiz sonuçları	30
Tablo 6. Deneklerin alışma sonu elektrokardiografik analiz sonuçları	30
Tablo 7. Deneklerin elektrokardiografik bulgularında değişim	32
Tablo 8. Histopatolojik analiz sonuçları.....	32
Tablo 9. Histopatolojik dejenarasyon analizi	33
Tablo 10. Histopatolojik fibrozis analizi	34

RESİMLER DİZİNİ

- Resim 1.** Rat miyokardındaki saptanan histopatolojik değişikliklerin görüntüsü 35
- Resim 2.** Rat miyokardındaki saptanan histopatolojik değişikliklerin görüntüsü 36

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Antineoplastik ilaçlardan olan antrasiklinler, akciğer, tiroid, meme, over, osteosarkom ve yumuşak doku sarkomu gibi solid tümörlerde ve akut lösemi ve lenfoma gibi hematolojik malignitelerin tedavisinde kullanılır (1,2). Antrasiklin grubundan kemoteröpetik bir ilaç olan doksorubisinin etkisi, deoksiribonükleikasit (DNA) çifte heliks yapısının merkezindeki çiftin arasına bağlanarak DNA replikasyonunu engellemesidir (3). Antrasiklinlerin kullanımı sırasında karın ağrısı, bulantı, kusma, stomatit, mukozit, konstipasyon, diyare gibi gastrointestinal yan etkiler gözlenebilir. Karaciğer ve böbrek işlevlerinde bozulma, hiperpigmentasyon, selülit, kas güçsüzlüğü, ülserasyon, ilaç ekstrevasyonu sonucu endurasyon, pulmoner toksisite, konjunktivit, pruritus, alopesi, flebit, letarji, baş ağrısı ve konvülsiyon gibi nörolojik bulgular ortaya çıkabilir (4). Antrasiklinlerin en önemli yan etkileri ise miyelosupresyon ve kardiyotoksisitedir (5). Yapılan hayvan çalışmalarında ratlarda antrasiklinlerin yol açtığı akut kardiyotoksisitenin genellikle ilk haftada ortaya çıktığı görülmüştür (6,7). Deneysel çalışmalarda antrasiklinler enzimatik reaksiyon sonucu demir-antrasiklin kompleksi redoks siklusuna girerek süperoksit anyonu, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit oluşumuna neden olur. Bu radikaller lipid, protein ve nükleik asitlerle tepkimeye girerek lipid peroksidasyonuna, sülfidril içeren peptidlerde azalmaya ve DNA hasarına yol açmaktadırlar. Sonuç olarak kalp dokusunda etan, disülfid ve malondialdehid (MDA) oluşumuna neden olmaktadır (8,9). Miyositlerde serbest oksijen radikallerinden koruyucu olarak glutatyon, glutatyon transferaz, glutatyon peroksidaz (GPX), katalaz, süperoksid dismutaz (SOD) gibi antioksidan enzimler mevcuttur. Serbest oksijen radikallerinin bu koruyucu enzimler üzerinde direkt olarak zedeleyici etkileri bulunmaktadır (8-11). Antrasiklinlerin terapötik indekslerini arttırmaya yönelik girişimler son yıllarda artmaktadır. Temel olarak antineoplastik aktivitenin korunması ve kardiyotoksisitenin engellenmesi hedeflenmektedir. Bu amaçla birçok strateji öne sürülmüş ve bir kısmı halen klinik uygulamada kullanılmaktadır. Bunların arasında hastanın bazaldeki kardiyak fonksiyon ve yapıları değerlendirilerek hastaya özel doz belirlemek, daha düşük yan etki profiline sahip

antrasiklin analogları kullanmak, ilaçların verilme yöntemlerini değiştirmek ve farmakolojik kalp koruması gösterilebilir. Antrasiklinlerin neden olduğu kardiyotoksisiteyi önlemek için bugüne kadar değişik ajanlar kullanılmıştır. Antrasiklin kardiyotoksitesinin patogenezi ve serbest oksijen radikallerinin patogenezdaki önemi anlaşıldıktan sonra antioksidanlar üzerinde çalışmalar artmıştır. E vitamini, askorbik asit ve koenzim Q gibi antioksidanlar ile yapılan çalışmalarda istenilen korunmanın sağlanamadığı görülmüştür. Özellikle deksrazoksan ile ilgili yapılan randomize çalışmalarda doksorubisin alan hastalarda yarar saptanmış ancak günümüzde yaygın klinik kullanım bulmamıştır (2,12). Son yıllarda yapılan klinik çalışmalarda antrasiklinlere bağlı kardiyomiyopati sıklığında artış saptanmıştır (1,5). Bu artış kullanılan kardiyolojik tanı yöntemlerinin gelişmesine, antrasiklinlerin daha yüksek dozlarda kullanılmasına, sınırlı kalp koruması ve maligniteli hastaların yaşam süresindeki uzamayla ilişkili olabilir (1). Bu yan etkiler nedeniyle hem ilacın total dozu sınırlandırılmakta hem de terapötik potansiyeli azalmaktadır (2). İnsanlar üzerinde yapılan retrospektif bir analizde, doksorubisine bağlı konjestif kalp yetersizliği gelişme oranları, 400 mg/m² dozunda % 5, 550 mg/m² dozunda %26 ve 700 mg/m² dozunda ise %48 olarak bulunmuştur (13). Klinik olay gelişimine göre düzenlenmiş bir diğer çalışmada ise 550 mg/m²'ye kadar dozlarda kardiyotoksisite insidansı %7.5 olarak bulunmuştur (14).

Doksorubisin tetiklediği kardiyomiyopatinin önlenmesi için daha önce statinler ve beta blokerler ile çalışmalar yapılmıştır. Üçüncü kuşak beta bloker olan nebivolol, endotel vasküler tonusun düzenlenmesinde etkisini L-arginine-nitrik oksit yolağı üzerinden göstererek nitrik oksit (NO) seviyelerini arttırmakta ve potent kalp koruma etkisini sergilemektedir (15,16). Statinler kolesterol biyosentezinde önemli rolü olan 3-hidroksi-3-metil glutaril koenzim (HMG-CoA) redüktazı geri dönüşümlü inhibe ederek, plazma total kolesterol, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-K), apo-B ve trigilserid (TG)' leri düşürür, yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-K) düzeyini ise yükseltir (17). Statinlerin kolesterol düşüşünden bağımsız olan etkilerine pleiotropik etkiler denir. Çalışmamızda, antioksidan özelliği olan nebivolol ile pleotropik etkileri olan atorvastatinin sıçanlarda doksorubisinin yol açtığı kardiyotoksisitenin önlenmesinde etkisi çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

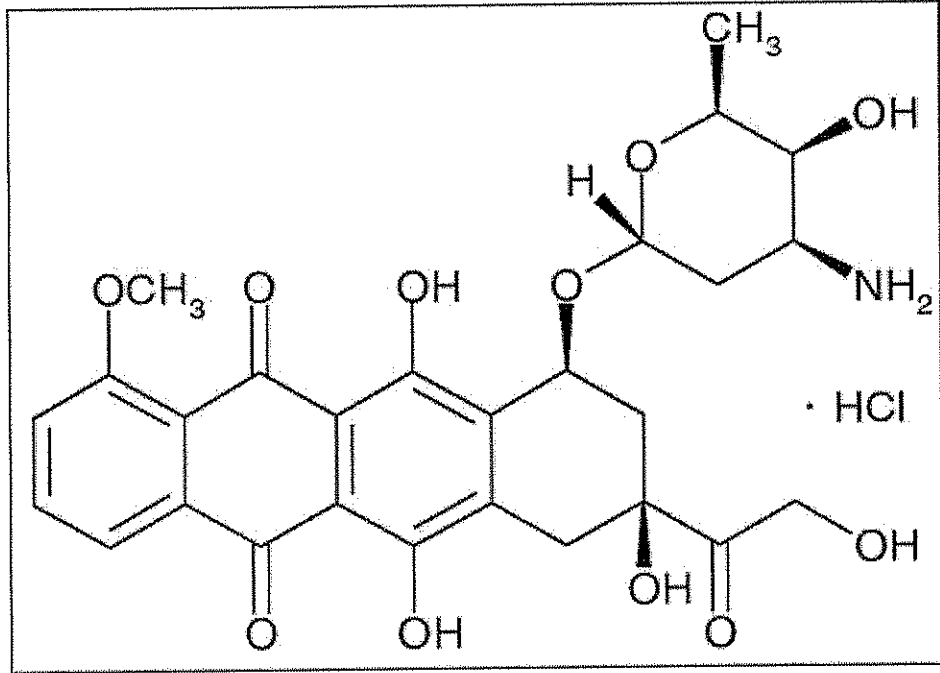
2.1. Doksorubisin

2.1.1. Doksorubisinin Genel Özellikleri

Doksorubisin, yaklaşık 30 yıldan beri onkolojide kullanılan geniş spektrumlu bir antrasiklidir (18). Doksorubisin, hematolojik ve solid tümörlere karşı son derece etkili antineoplastik ilaçtır (19). Doksorubisin, akut lösemi, Hodgkin hastalığı, non-Hodgkin lenfoma, göğüs kanseri ve yumuşak doku sarkomlarını içeren insan neoplazmalarına karşı güçlü aktiviteye sahip kemoterapötik bir ajandır (20). Tedaviye daha az cevap vermelerine rağmen gastrik, karaciğer, pankreatik ve endometriyal karsinom gibi kanserlerde de kullanılmaktadır (21). Maligniteli hastaların tedavisinde önemli olup akut ve kronik yan etkileri nedeniyle doksorubisinin kullanımı tartışmalıdır (21,22). İlacın intravenöz verilmesini takiben birkaç dakika ve hafta içinde gerçekleşen akut yan etkileri, bulantı, kusma, miyelosupresyon, aritmi, kellik, hipertansiyon, kemik iliği supresyonu, mukozal ülser, kilo kaybı ve perikardittir (23). Bu etkiler geri dönüşümlüdür ve klinik olarak tedavi edilebilir (21). Tekrarlı olarak verildikten sonra birkaç hafta veya ayda gerçekleşen kronik yan etkileri, kronik kardiyomiyopati ve konjestif kalp yetmezliğidir (21,23,24). Bu kronik yan etkiler, geri dönüşümsüzdür (24,25). Bazı hastalarda tedavi tamamlandıktan sonra 4 ile 20 yılda kardiyak hasarla birlikte doksorubisine bağlı geç kardiyomiyopati belirlenmiştir (21,24).

2.1.2. Doksorubisinin Kimyasal Yapısı

Doksorubisin, suda çözünmeyen tetrasiklin aglikan ve suda çözünen indirgeyici daunozaamin şekerden oluşur (11).



Şekil 1. Doksorubisinin kimyasal yapısı

2.1.3. Doksorubisinin Yan Etkileri

Doksorubisin, geniş toksisiteye sahip olup en önemlisi kardiyotoksisitedir (19,26). Doz bağımlı olarak akut ve kronik kardiyotoksisiteye neden olur (24). Doksorubisinin toksik etkisi nedeniyle sınırlı doz verilmesine neden olur (27). Hücre hasarına neden temel mekanizma antrasiklin metabolizması ile ortaya çıkan serbest oksijen radikalleridir (28). Doksorubisinin uygulama dozları, farklı kanser hastalıklarında değişiklik gösterir (29). Doksorubisin, klinik olarak genellikle 3-4 haftada aralıklarla 40-75 mg/m² lik bir dozda devamlı infüzyonla verilir (30). Verilen toplam doz, vücut yüzey alanının 550 mg/m²'sini aştığında hastanın kemoterapi tedavisinden doksorubisin çıkarılır (21). Bu doz üzerinde klinik kardiyotoksisite riskinde önemli bir artış görülür ve bu artış kalp yetmezliğine ve ölüme neden olabilir. Çocuklarda 210 mg/m² kadar düşük doksorubisin dozları birkaç yıl içinde tehlikeli kardiyak fonksiyon bozukluğu ile sonuçlanabilir (31). Hastaların doksorubisin toleransları çeşitlilik göstermesine rağmen, kardiyomiyopati riskini minimize etmek için deneysel doz limiti vücut yüzey alanının 500 mg/m²'si olarak belirlenmiştir (21).

2.1.4. Doksorubisin Toksisitesi

Antrasiklinin kemoteropetik, kardiyak ve diğler organ toksisiteleri ile ilgili etkilerini açıklayan birkaç mekanizma bilinmektedir (21). Bu mekanizmalar, topoizomeraz II-DNA kompleksinin stabilizasyonu, DNA'ya interkalasyon, ribonükleik asit (RNA) polimeraz II inhibisyonu, semikuinon radikalının redoks döngüsü veya doksorubisin-demir kompleksi ile reaktif oksijen türlerin oluşumu ile gerçekleşen serbest radikal aracılı toksisitedir (32-34). Doksorubisinin kemoteropetik etkisi, hem topoizomeraz enzim aktivitesini hem de DNA sentezinin inhibisyonunu gerektirir ve kardiyotoksik mekanizmasından çok farklıdır (35). Biyokimyasal sonuçlar, doksorubisin kardiyotoksitesinin fizyolojik lipit peroksidasyon oranındaki artışla sonuçlanan reaktif oksijen türlerinin oluşumu ile ilgili olduğunu göstermektedir (36).

2.1.5. Doksorubisin ve Serbest Radikal Mekanizması

Doksorubisinin serbest radikal oluşumuna yol açtığı iki farklı mekanizma bilinmekte olup bunlar; redoks döngüsü ile serbest radikal mekanizması ve doksorubisin - demir kompleks aracılı serbest radikal mekanizmasıdır. Serbest radikal üretimi ve oksidatif stresin doksorubisinin hem kemoteropetik etkisi hem de kardiyotoksisite ile ilgili olduğu kabul edilmektedir. Bu yüzden doksorubisinin oksidatif strese yol açtığı ve lipit peroksidasyonuna neden olduğu rapor edilmiştir (21).

2.1.6. Doksorubisin ve Kardiyotoksisite

Antrasiklinler, akut ve kronik kardiyotoksisiteye neden olur. Akut kardiyotoksisite geçici olup hipertansiyon, aritmi ve perikardittir. Kronik kardiyotoksisite daha ciddi olup kardiyomiyopati ile karakterizedir. Doksorubisin kardiyotoksitesini, doz bağımlı olup bireylerin kardiyotoksik etkilere hassasiyetinde önemli farklılıklar görülmektedir. Genelde 450-500 mg/m²'lik doksorubisin dozları klinik olarak kardiyomiyopatiye neden olur. 300 mg/m² veya daha yüksek dozlarda kalp yetmezliği oluş derecesi %2 iken 500 mg/m² de %7 ve 700 mg/m² de %20'nin üzerine yükselir. Kalp dokusunda yüksek oksijen tüketimi ile reaktif oksijen türlerin oluşumu artar (37). Ayrıca kalp diğler dokulara göre çok daha düşük antioksidan aktivitesi nedeniyle serbest radikallere daha hassastır (31). Doksorubisinin kardiyotoksik etkisi ile ilgili farklı mekanizmalar yer almaktadır. Bu mekanizmalar,

mitokondriyal fonksiyonsuzluk, hiperkalsemi, bazı membran bağılı veziküllerin inhibisyonu, nükleik asitlere bağlanma, kardiyak dokuda enerji metabolizmasının azalmasına neden olan yağ asit oksidasyonunun değişmesi, apoptozisin indüklenmesidir. Antioksidan yetersizliğe ek olarak reaktif oksijen türlerin oluşması ve artan oksidatif stres, doksorubisine bağılı olarak oluşan kalp hasarında önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (18).

Doksorubisine bağılı kardiyotoksisite ve oksidatif stres arasındaki ilişki pek çok hayvansal deney modelinde gösterilmiştir. Kardiyotoksisitede hidroksil radikallerini içeren reaktif oksijen radikalleri önemlidir (18). Serbest radikal oluşumu, doksorubisinin antineoplastik aktivitesinde önemli bir rol oynamasa da kardiyak hücrelerin mitokondrisinde hidroksil radikal oluşumu ve elektron transport sisteminin bozulması, ilacın akut ve kronik kardiyotoksisitesini açıklar (38).

Hayvan çalışmalarında doksorubisinin tetiklediği akut ve kronik kardiyotoksisitede deneklerin kalp dokusunda lipit peroksidasyonunda artış gözlenmiştir (20,38). Doksorubisin redoks döngüsünü inhibe eder (20,26,27). Böylece kardiyak doku doksorubisinin neden olduğu hidrojen peroksidi detoksifiye etme mekanizmasından yoksun kalır (26). Sonuçta kardiyak dokuda daha az detoksifikasyon enzimatik aktivite nedeniyle daha yüksek radikal hasarı beklenir (26).

Antrasiklinler, kardiyotoksik etkilerini mitokondriyal membranda gösterir. Çalışmalarda yapılan flüoresans ölçümler antrasiklinlerin membranın hem lipit hem de protein yapılarına bağlanabildiğini göstermiştir. Antrasiklinler, proteinlerle doğrudan etkileşerek bazı enzimatik fonksiyonları inhibe edebilir. Antrasiklinlerin enzimlerin fonksiyonları için gerekli lipit çevrelerine bağlanması mitokondriyal enzimatik aktivitenin inhibe edildiğini tamamen gösteren mekanizmadır. Özellikle bazı mitokondriyal enzim aktivitesinin, lipit bağımlı olduğu gözlendi. Nikotinamid adenin dinükleotid dehidrogenaz, sitokrom c oksidaz ve sitokrom c redüktaz, fonksiyonları için belirli miktarda kardiyolipine gereksinim duyarlar (26,39). Doksorubisin, kardiyolipine karşı çok yüksek afiniteye sahiptir (21,30). Kardiyolipin, kalpte mitokondri iç membranında bulunan bir fosfolipittir ve kardiyolipin ile en güçlü kompleksler kuran en kardiyotoksik bileşik doksorubisindir (40). Kardiyolipin,

mitokondriyal enzim ve transfer edici aktivitelerin allosterik düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (30). Doksorubisin, kardiyolipin bağımlı enzimlerin aktiviteleri için gerekli kardiyolipin ile kompleks oluşturarak bu enzimleri inhibe edebilir. Böylece mitokondri membran yapı ve fonksiyon bozukluğuna neden olur (41). Doksorubisin, sitokrom c oksidaz aktivitesinin inhibisyonundan sorumludur. Bu gözlenen inhibisyon, doğrudan ilaç enzim etkileşimi yüzünden değildir. Daha çok enzimin lipit çevresi ile kompleksleşmesi ile gerçekleşir. İlaç-lipit kompleksinin oluşumu, sitokrom c oksidaz için gerekli kardiyolipinden yoksun kalmasına neden olur (26).

Doksorubisin ve bazı metabolitleri, in vitro çalışmalarda kalp mitokondrisinin kalsiyum toplama ve biriktirme kapasitesini azaltmıştır. Doksorubisin bir oksidan olarak davranır ve mitokondri membranı içindeki proteinlerin (kalsiyum iyonu transportu için kanallar ve porlar) sülfidril gruplarını okside eder. Bu sülfidril gruplarını indirgeyici ajanlar, kalsiyum akışını bu şekilde engeller (19). Antrasiklinlerin kalsiyum dengesi üzerindeki etkisinin moleküler mekanizmalarından biri, serbest radikal mekanizmasına dayanır. Serbest radikaller, sarkoplazmik retikulum tarafından kalsiyum akışını zayıflatabilir. Sonuç olarak doksorubisin intoksikasyonundan sonra hücre içindeki kalsiyum seviyesindeki artış miyokardiyumda kontraktilite bozukluğuna ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna neden olur (26).

Doksorubisinin demir için yüksek afinite göstermesi doksorubisin-demir kompleksinin mitokondri üzerindeki etkisi detaylı olarak belirlenmiş ve metal iyon komplekslerinin biyolojik hasarı saptanmıştır. Çalışmalarda doksorubisinin sinyal transdüksiyonu, proteinlerin ve lipitlerin translokasyonu veya elektron transferi gibi hücre fonksiyonların değişimi ile sorumlu membran akışkanlığında azalma sağladığı gösterilmiştir (26).

Kontrollü hücre ölümü olan apoptozis, endojen enzimler, sitokrom c ve apoptozis indükleyici faktörü içeren mitokondri membranlar arası boşluktan salınan proteinlerle başlatılabilir. Bu protein salınımı, depolarizasyonun veya antrasiklin stres gibi kimyasal membran hasarının neden olduğu, dış mitokondri membran kesintisi ile belirlenir. Doksorubisin, hem mitokondriyal DNA' da hem de çekirdek

DNA'sında 8-hidroksideoksiguanozin birikimine neden olur (42,43). Antrasiklinlerin lipitlere yüksek afinitesi sonucu mitokondriyal membranların bozulmasına ve lipit bağılı enzimlerin inhibisyonuna neden olur. Sitokrom c oksidaz da olduğu gibi mitokondriyal enzimlerin doğrudan inhibisyonu, mitokondriyal enzim sistemlerinde serbest radikal oluşturma yeteneği ile hücre hasarına, kalsiyum salınmasına, lipit peroksidasyonuna ve oksidatif strese yol açar. Antrasiklinlerin apoptozise neden olduğu moleküler mekanizma henüz açık değildir. Fakat temel hipotez, serbest oksijen radikallerinin oluşmasıyla sfingomyelin enzim regülasyonunun dağılmasını ifade eder (26).

2.1.7. Doksorubisin Kardiyotoksisitenin Engellenmesi

Dokсорubisin kardiyotoksisitesini azaltmak için kullanılan yöntemler sırasıyla kardiyoprotektif ajanlarla birlikte verilmesi, dokсорubisin dozunu küçük miktarlarda enjeksiyonlara bölmek, dokсорubisinin devamlı yavaş infüzyonu, kardiyotoksisitenin ilk işaretlerinin eşik değerine göre her hasta için maksimum dokсорubisin dozunu belirlemek ve daha yeni daha az kardiyotoksik dokсорubisin analoglarının geliştirilmesidir (23). Dokсорubisinin kardiyotoksik etkisine karşılık düşük doz sınırı, ciddi kardiyotoksisiteyi önler fakat bu strateji çok daha yüksek dozları tolere edebilen ve maksimum antineoplastik etkisinden faydalanabilen kişileri güçlü ve etkili bir ajanla tedaviden yoksun kalmasına neden olur. Günümüzde son strateji dokсорubisin terapisinin kardiyotoksisite ile sonuçlandığı doz derecesinin altında olacak şekilde verilmesidir (23).

Hayvan deney çalışmaları göstermiştir ki kardiyomiyopati, dokсорubisin yüksek dozu verildiğinde aynı toplam doz daha küçük dozlarda verildiğinden daha ciddi olduğu yönündeydi. Bu görüş kardiyotoksisitenin, dokсорubisinin konsantrasyon seviyesinin azalması ile ilgilidir. Bu ilke daha sonra 24–72 saatlik bir periyotla yavaş ve devamlı intravenöz infüzyon ile dokсорubisin kardiyotoksisitesini indirgeme için kullanıldı (23). Genelde 3 haftada intravenöz olarak verildiğinde toplam doz sınırı 450–550 mg/m² olarak kabul edilir. Pek çok sonuç haftalık enjeksiyon veya 96 saatlik devamlı infüzyon gibi dozajlama sistemlerinin daha az toksik olduğunu göstermiştir (44).

2.1.8. Kalp Koruyucu Ajanlar

Yapılan çalışmalarda demir şelasyonu yapan ICRF-187, köpeklerde antrasikline bağlı kardiyomiyopati şiddetini serbest radikal üretimini azaltarak göstermiştir ancak hematolojik toksisitede bir artışa neden olmuştur (45). C ve E vitaminleri uzun dönem mortaliteyi etkilemezken akut kardiyotoksosite gelişiminde etkili olduğu görülmüştür (46). Klinik çalışmalarda doksorubisin toksisitesinden korunmada kısmi kalan kardiyokoruyucu ajanlara örnek olarak, adenozin, doksorubisin spesifik anti badi, anti-histamin ajanlar (H1 ve H2 blokörleri), beta-blokörler, amrinone, milrinon, früktoz 1- 6 difosfat, inozin, ibuprofen, dekstran, metilprednison, bizmut tuzları, çinko, kadmiyum, polietilen glikol, tetrasiklin antibiyotikler ve venoruton verilebilir. Hayvan çalışmalarında, doksorubisin nedenli kardiyomiyopatiye karşı süper oksit anyonları ve hidrosil radikallerini süpüren aminotiyol olan amifostin kardiyokoruma gösterdiği bulundu. Mitokondriyal oksidasyonun bir elemanı L-karnitin, deneysel hayvan çalışmalarında doksorubisin kardiyotoksitesinin indirgenmesinde bazı başarılarla kullanılmış olup tanımlayıcı olmayan sonuçlarla çok az insan çalışmalarında değerlendirilmiştir (23).

Doksorubisin, hücre organellerinde serbest radikal aracılı zarara neden olur. Çalışmalarda sıçanlarda süperoksid dismutaz, katalaz veya her ikisinin birlikte verilmesi, doksorubisinin toksisitesinin azalmasına neden olduğu bulunmuştur. Koenzim Q 10, yüksek dozda vitamin E ve N-asetilsisteinin, doksorubisin kardiyotoksitesinin sıçan modellerinde kardiyokoruma gösterdiği bulunmuştur. Glutasyon peroksidaz için gerekli selenyum, ilk insan çalışmalarında kullanılmış ve düşük doksorubisin dozlarında kardiyotoksitenin histolojik belirtilerini azalttığı bulunmuştur (23).

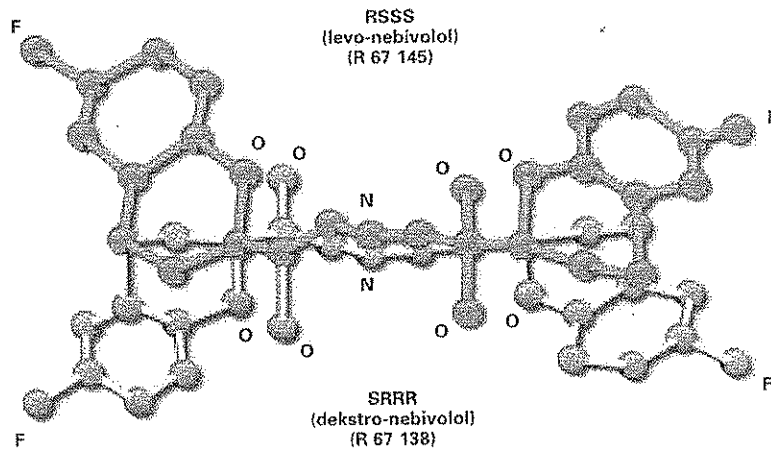
2.2. Nebivolol

Nebivolol 3. kuşak beta-blokerdir. Nebivolol, β 1-selektif adrenerjik blokaj yaparak etkisini gösterir. Nebivolol, endotel vasküler tonusun düzenlenmesindeki etkisini L-arginine-NO yolağı üzerinden NO seviyelerini arttırarak gösterir. Bu özelliği vazodilatasyon etki gösterir. Kardiyak çıkıma nötral etki göstererek periferik vasküler direnci düşürür (47). Nebivolol, karaciğerde sitokrom P450-CYP2D6 enzim sistemi tarafından metabolize edilerek aktif hidrosil moleküllerine dönüşmektedir.

Bu nedenle sitokrom P450-CYP2D6 enzim sistemini etkileyen ilaçlar ile birlikte alınması nebivololün etkinliğini değiştirebilir. Nebivololün %0,5'den azı değiştirilmeden idrar ve feçesle atılır bu nedenle böbrek yetmezliğinde doz değişikliğine gerek yoktur (48). Nebivololün hayvan çalışmalarında solunum preparatları üzerinde yapılmış in vitro çalışmalarda yüksek düzeyde β 1-adrenoseptör seçiciliğinin olduğu bulunmuştur (49). Diğer yapılan in vitro çalışmalarda da nebivololün, bisoprolol, seliprolol, karvedilolden daha seçici olduğu gözlenmiştir (50).

2.2.1.Nebivololün Kimyasal Özellikleri

Nebivolol molekülünün bir nitrojen atomu etrafında bir C2 simetri eksenine 4 asimetric karbon atomu vardır ki bu konfigürasyon nedeniyle 10 farklı stereo izomer olasılığı mevcuttur. Nebivolol, d-nebivolol ile l-nebivolol konfigürasyonlu enantiyomerlerinin eşit oranlı, rasemik karışımıdır (Şekil 2). Bu nedenle bu karışıma dl-nebivolol denir. Rasemik karışımındaki enantiyomerlerin, (d- ve l-nebivolol) farklı özellikleri vardır. Her ikisi de NO salınımıyla vazodilatasyon gerçekleştirir. Ancak, d-nebivolol enantiyomeri yüksek β 1-adrenoseptör seçiciliği ile karakterizeyken, l-nebivolol'da yüksek dozlarda bile β -blokaj özelliği yoktur, l-nebivolol vazodilatasyon üretir ve d- izomerin negatif inotropik etkilerini azaltır (51).



Şekil 2. Nebivololün üç boyutlu yapısı.

2.2.2. Nebivololun Farmakodinamiği

Nebivolol, NO salınımının modülasyonu yoluyla vazodilatör etki, β 1-adrenoseptör antagonisti etkisiyle çift etki mekanizmalı bir antihipertansif ajandır. Nebivolol, damar tonumu regle etmekte kilit rol oynayan L-arjinin/NO aktivasyonu yoluyla NO düzeylerini artırarak doğrudan vazodilatör etki gösterdiği hayvan modelleri üzerindeki deneysel çalışmalarda saptanmıştır (52).

2.2.4. Nebivololun Farmakokinetiği

Oral uygulama sonrasında pik plazma konsantrasyonlarına 0.5-2 saat içinde ulaşmakta olup emilimi yemeklerden etkilenmemektedir (53). Bu plazma konsantrasyonları 1-2 saatlik yarılanma ömrü ve onu takip eden 10-44 saatlik terminal yarılanma ömrüyle azalır. Aktif hidroksi metabolitin yarılanma ömrü ortalama 20 saattir. Çoğu denekte; nebivolol 1 günde, hidroksi metabolitler birkaç günde kararlı duruma ulaşmaktadır. Plazma konsantrasyonları, terapötik doz aralığında doza bağlıdır (54). Nebivololun plazma proteinlerine bağlanma oranı %98'dir ve ilaç öncelikle albümine bağlanır. Uygulamadan 1 hafta sonra, dozun %38'i idrarla, %48'i feçesle atılır. Değişmemiş nebivolol'un idrarla atılımı uygulanan dozun %0,5'inden azdır (54). Ana metabolik yolu, aromatik hidroksilasyondur. Diğer yollar ise alisiklik oksidasyon, glukronidasyon ve N-dealkilasyondur (55).

2.2.5. Nebivololün Yan Etkileri

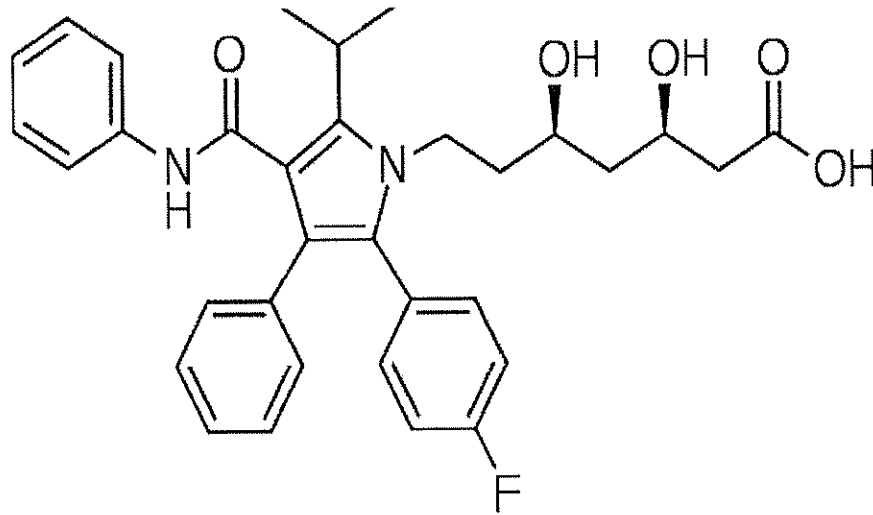
Nebivolol, tüm β -blokör ilaçlarda olduğu gibi bradikardi, egzersiz toleransında düşüş, yorgunluk, parestezi, kabızlık, kalp yetersizliğinin kötüleşmesi, atrioventriküler blok, periferik dolaşım bozuklukları yapabilir. Diyabetiklerde hipoglisemi semptomlarının gizlenmesi nedeniyle yoğun insülin tedavisi alanlarda dikkatli olunmalıdır. Astım hastalarında da bronkospazmı tetikleyebileceği için kullanımı sakıncalı olabilir.

2.3. Atorvastatin

Kardiyovasküler olay sıklığı ve mortaliteyi azalttığı büyük klinik çalışmalarda gösterilen statinler, dislipidemi tedavisinde kullanılmaktadır (57-63). Yapılan çalışmalarda alt grup analizlerinde elde edilen olumlu sonuçların sadece lipit düşürücü etki ile açıklanamayacağı görülmüştür. Kolesterol düşüşünden bağımsız olan ve statinlerin etki yelpazesi giderek genişlemekten bu etkiler “pleiotropik etkiler” olarak isimlendirilir.

2.3.1. Atorvastatinin Kimyasal Özellikleri

Atorvastatinin molekül ağırlığı ağırlığı 558.639803 (g/mol), formülü ise $C_{33}H_{35}FN_2O_5$ dir.



Şekil 3. Atorvastatinin kimyasal yapısı

2.3.2. Atorvastatinin Farmakodinamisi

Statinler, HMG CoA'nın, kolesterollerini de içeren sterollerin bir prekürsörü olan mevalonata dönüşmesinden sorumlu hız kısıtlayıcı enzim olan HMG CoA redüktazın selektif, kompetitif inhibitörüdürler (56). Bu enzim HMG-Co A'nın mevalonik aside dönüşmesini katabolize eder ve bu inhibisyonla statinler mevalonik asitten kolesterol oluşumunu önler (57). Atorvastatinin yarı ömrü diğer statinlerden daha uzun olup

diğer statinlerin karaciğerden ilk-geçiş temizlenmeleri yüksek ve yarı ömürleri kısadır.

2.3.3. Atorvastatinin Farmakokinetiği

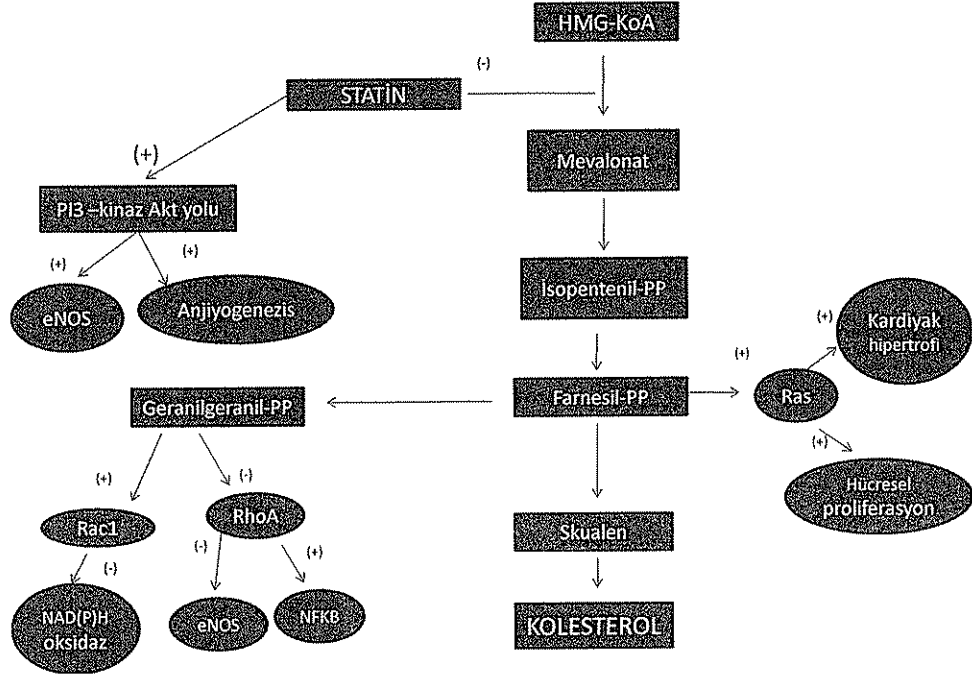
Atorvastatin oral olarak kullanılır. Plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanırlar. Statinlerin karaciğerden ilk-geçiş temizlenmeleri yüksek ve yarı ömürleri kısa olmakla birlikte farklı olarak atorvastatinin yarı ömrü diğer statinlerden daha uzundur. Emilen miktarın %80-85'i safra ile geri kalan kısmı renal sistemden atılır.

2.3.4. Atorvastatinin Yan Etkileri

Statinler, karaciğer enzimlerinde % 0.5-2 oranında artış yapabilir. Transaminaz değerlerinin normalin 3 katı veya daha fazla artması durumlarında ilacın kesilmesini Food and Drug association tarafından önerilmekte olup enzim yüksekliği doz azaltılması hatta aynı dozun devamı ile normale dönebilmektedir (58). Statinlerin mekanizma açık olmamakla birlikte miyopati yapabilir. Statin kullanımı sırasında gelişen kas ve eklem ağrılarının statinlere bağlı olması nadirdir ve genellikle kreatin kinaz düzeylerinde artışla birlikte değildir. Miyopati genellikle fazla miktarda ilaç kullanan kişilerde gelişir. Miyopatinin gözden kaçırılması ve ilacın kesilmemesi rabdomiyoliz, miyoglobinüri ve akut tubüler nekroza neden olabilir. Miyopati kliniğinden şüphe ediliyorsa veya CK düzeyi normal değerinden 5 kat fazla artmışsa ilaç derhal kesilmesi gerekmektedir (58,59).

2.3.5. Statinlerin Pleiotropik Etkileri

Pleiotropik etki, bir ilacın amaçlanan etkisi dışında, diğer organ ve sistemlerde gösterdiği etkilere denir. Statinlerin primer etkileri plazma LDL kolesterol seviyesinin azaltılması olup pleiotropik etkileri; endotel fonksiyonlarının korunması ve düzeltilmesi, aterom plağı stabilizasyonu, enflamasyon ve oksidatif stresin azaltılması gibi etkileridir (60). Mevalonik asit yıkımının statinler tarafından önlenmesi, farnesilpirofosfat ve geranilgeranilpirofosfat gibi izoprenoidlerin oluşumunu engeller. Bu izoprenoidler, Ras, Rho, Rac ve Rap gibi hücre büyümesi ve sinyal iletiminde görev alan proteinlerin posttranslasyonel değişiminde görev alırlar. İzoprenilasyon ile olan bu ilişki, statinlerin hücre büyümesi, hücre çoğalması ve apoptoz üzerine olan etkilerini açıklamaktadır (61).



Şekil 4. Statinlerin etkileri

Serum total kolesterol ve HDL kolesterol seviyesinden bağımsız olarak statinlerle yapılan tedavide kolesterol esterlerinin kolesterol kristallerine dönüşümü hızlanması, fibröz kapsül içine kollajen akümülyasyonu artırması ile daha sert yapılı ve rüptüre daha dayanıklı plak oluşmaktadır (62,63).

Statinler, endotel kaynaklı nitrik oksitinin bozulmuş sentez, salınım ve aktivitesini düzeltir ve sağlıklı vasküler alanlarda endotelial nitrik oksit sentetaz ile nitrik oksit miktarını artırır (64).

LDL- β oksidasyona daha yatkın olup endotelden daha kolay geçer ve daha aterojeniktir. Statinlerin kullanımıyla LDL'nin oksidatif direncinin arttığı gözlenmiştir (65).

Lipid depolanması ile birlikte düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonu aterosklerozda majör olaydır (67). Mevalonat ve ara ürünleri izoprenoidler hücre proliferasyonu için gerekli maddeler olup bu yolu etkileyen ilaçlar potansiyel olarak antiaterojenik ilaçlardır (62).

Statinler doz bağımlı olarak mononükleer hücre proliferasyonunu ve T hücre sitotoksitesini inhibe eder (59). Mevalonat yolunun hücre biyosentezindeki anahtar rolü ve birçok tümör hücresinde yüksek HMG CoA redüktaz enzim aktivitesi görülmesi nedeniyle, bu enzimin selektif inhibisyonunun yeni bir yaklaşım olabileceği düşünülmekte olup in vitro koşullarda yüksek konsantrasyonlarda statinlerin tümör hücre büyümesini büyük ölçüde bozduğu belirtilmiştir (59,65).

Statinlerin kolesterol seviyelerinden bağımsız olarak inme riskini azalttığı majör çalışmalarda gösterilmiştir (59). Yapılan çalışmalarda statinlerin direkt anti inflamatuvar etkileri belirlenmiş ve statin tedavisinin inflamasyonun bir göstergesi olan serum CRP değerlerini azalttığı ve bunu lipid düşürücü etkilerinden bağımsız olarak gerçekleştirdiği gösterilmiştir (59).

2.4. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif stres serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (67).

Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanır. Serbest radikaller hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir (68). Kovalent bağlı bir molekülün homolitik bölünmesi, bir moleküle elektron eklenmesi ve normal bir molekülden tek bir elektron kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi serbest radikalleri oluşturur (69). Reaktif oksijen türleri ve diğer çeşitli radikalleri, sülfür merkezli radikaller, reaktif nitrojen türleri oksidanlar olup biyomedikal oksidasyon sonrası hücre hasarına neden olduğu çalışmalarda görülmüştür (70).

Moleküler oksijen serbest radikallerin başlıca kaynağı olup aerobik canlılarda enerji için karbondan zengin ürünler okside edilir ve oksijen molekülünün indirgenmesi ile serbest oksijen radikali oluşur (71). Bilinen önemli bazı serbest

radikal çeşitleri, süperoksid radikalleri, hidrojen peroksit, hidroksil radikali, nitrik oksit, peroksil radikalidir.

Kemoterapi alan hastalarda, plazma lipit hidroperoksitleri ve tiyobarbitürikasit reaktif bileşiklerin artması, kemoterapinin oksidatif strese yol açtığına işaret etmektedir (72). Kemoterapi aracılıklı oluşan reaktif oksijen bileşiklerinin; DNA, RNA, protein ve lipit gibi makro moleküllerde hücre ölümüne kadar giden hasara neden olabildiği belirtilmektedir (73). Oksidatif stresin oluşumunda muhtemel bir neden de demir iyonudur (74). Demir, plazmada serbest radikal reaksiyonları için katalitik etkiye sahiptir. Doksorubisinin demir iyonu ile oluşturduğu kompleksin, potansiyel prooksidan etkisi olduğu gösterilmiştir. Bu kompleks, glutasyon veya NADPH bağımlı enzimleri azaltabildiği gibi, serbest radikal oluşum reaksiyonlarının bir basamağını başlatabilmektedir (74). Doksorubisin ile indüklenen oksidatif stresin, bu ilaca bağlı kalp ve beyin toksisitesinin altında yatan asıl neden olduğu ileri sürülmektedir. Doksorubisin varlığında artan reaktif oksijen bileşiklerinin, kalpte metabolik yollarla etkileşmekte, demir metabolizmasını bozmakta ve redoks siklusunu etkilemektedir (75).

2.4. 1. Serbest Radikallerin Etkileri

Hücre membranlarının ana bileşenleri olan yağ asitleri, proteinler, nörotransmitterler ve nükleik asitler serbest radikallerden oksijen radikallerinin etkilediği hücre komponentlerinin başlıcalarıdır (76).

2.4. 2. Membran Lipitlerine Etkileri (Lipit Peroksidasyonu)

Lipitler serbest radikal etkilerine en duyarlı hücre bileşenleridir. Organizmada poliansatüre yağ asitlerinin serbest radikallerle oksidasyonuna lipit peroksidasyonun denir. Birçok radikal lipit peroksidasyonuna neden olur. Bununla beraber lipit peroksidasyonunu başlatan asıl ajan hidroksil radikali (71,76). Lipit peroksit seviyelerinin belirlenmesinde kullanılan MDA üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu ile meydana gelir. MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur. Böylece iyon transportu enzim aktivitesi gibi membran özelliklerini bozar. Lipit peroksidasyonu zararlı bir zincir

reaksiyonu olup membran akışkanlığında kayıp, membran potansiyelinde azalma, hidrojen ve diğer iyonların permeabilitesinde artma ve sonuç olarak membranın rüptürü ile hücre ve organel içeriklerinin ortama boşalmasına neden olur (71). Lipit peroksidasyonu ile lizozomal membranlarda olan hasar hidrolitik enzimlerin salınması ve intrasellüler sindirimle sonuçlanır. Mitokondri gibi organellerin membranları da fosfolipidlerinde fazla miktarda doymamış yağ asidi bulundurmaları nedeniyle lipit peroksidasyonuna karşı duyarlıdır (77).

2.5. Antioksidan Maddeler

Antioksidanlar etki mekanizmalarını serbest radikalleri tutarak veya daha zayıf yeni bir moleküle çevirerek, serbest radikalle etkileşip aktivitelerini azaltarak, serbest radikalleri kendilerine bağlayıp reaksiyon zincirini kırarak ya da onarım yaparak gösterirler (78). Antioksidan moleküller endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirilirler. Hücre dışı savunma, albumin, bilirubin, transferin, seruloplazmin, ürik asit gibi çeşitli molekülleri içermektedir. Hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler asıl antioksidan savunmayı sağlamaktadır. Bu enzimler SOD, glutatyon- S-transferaz, GPX, glutatyon redüktaz, katalaz ve sitokrom oksidazdır. Bakır, çinko ve selenyum gibi eser elementler ise bu enzimlerin fonksiyonları için gereklidir.

2.5. 1. Glutatyon Peroksidaz

İntrasellüler antioksidanlardan GPX hidroperoksitleri indirgeyerek etki gösteren antioksidan bir enzimdir. Molekül ağırlığı yaklaşık 85.000 dalton olan enzim dört selenyum atomu ihtiva eden tetramerik bir yapıdadır. Fosfolipid hidroperoksid glutatyon peroksidazda selenyum atomu bulunduran monomerik sitozolik bir enzimdir. Membran fosfolipid hidroperoksidlerini alkollere indirger. Membran antioksidanlarının en önemlilerinden biri olan E vitamini yetersiz kaldığı zaman glutatyon peroksidaz membranı peroksidasyondan korur (79). GPX, H₂O₂ ve diğer hidroperoksitleri indirgerken glutatyonun redükte formunu kullanır. Redükte glutatyon, glutatyon redüktaz aracılığıyla okside glutatyondan elde edilir (95).

2.5. 2. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit radikalini, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar. Oluşan hidrojen peroksit, katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimler ile etkisizleştirilir. Bu sonuç ile intrasellüler süperoksit seviyesi azalır (80).

2.6. Miyokard Hasarının Belirlenmesinde Biyokimyasal Göstergeler

Miyokard hasarını saptamada ideal kardiyak belirteç kalbe özgün olup, miyokard hasarında erken yükselip yeterli süre serumda ölçülebilir durumda olmalıdır. Miyokarda yüksek konsantrasyonda bulunmalı, miyokard dışındaki dokularda ve dolaşımında saptanmamalıdır. Seviyesi miyokard hasarının derecesi ile orantılı olarak artmalı ve serumda varlığı ve miktarı ile hasarın sonlanımı arasında bir ilişki olmalıdır. Ölçüm yöntemi ucuz, kolay, hızlı ve kantitatif olmalıdır. Ancak bu özelliklerin tamamını içeren bir kardiyak enzim veya protein henüz tanımlanmamıştır (81).

2.6.1. Miyogloblin

Miyogloblin, kalp ve iskelet kasında bol miktarda bulunan düşük molekül ağırlıklı bir proteindir. Akut miyokard infarktüsü (AMİ) için duyarlı bir belirteçtir ancak özgüllüğü yoktur. Hasar sırasında miyokarddan erken dönemde (ilk 1-3 saat içinde) yükselir. Hızla salınır ve böbreklerden hızlı itrah edilir. Kardiyak hasarın erken saptanması ve/veya ekarte edilmesi açısından güvenilir bir belirteçtir. Özgüllüğü olmadığı için klinikte esas önemli olan pozitif değerinden ziyade, negatif değeridir (82).

2.6.2. Kreatin kinaz ve Kreatin kinaz-MB

M ve B zincirlerinden oluşan 3 farklı izoenzim şeklinde kas hücrelerinde mitokondri ve sitozol içinde yer alır. CK-MM; tüm dokularda bulunan dominant formdur. CK-BB; beyin, böbrek ve gastrointestinal sistemde bulunur. CK-MB; kalp, iskelet kası ve az miktarda ince bağırsak, diyafram, uterus, dil ve prostatta bulunur. CK, yüksek enerjili fosfatların ATP'den kreatine transferini sağlayan bir enzimdir. Miyokarda yer alan total CK'ın %20'si MB formundadır. Bu da AMİ tanısında hassaslık ve özgüllüğe sebep olur. İskelet kasında ise %5 oranında bulunur. Bu nedenle travma ve inflamasyonlarda seviyesinin yükselmesi özgüllüğünü

azaltmaktadır. CK-MB'nin bir diğer kısıtlılığı da yüksek moleküler ağırlığı nedeniyle minör miyokard hasarını gösterememesidir. Serum CK ve CK-MB'nin plazma aktivitesi AMİ başlangıcından 4-8 saat sonra normal sınırlarını aşar. 20-24 saatte pik yapar ve 48-72 saat içerisinde normal düzeylerine ulaşır. Ancak serum enzim tayini ile kesin AMİ tanısı için semptomların başlamasından itibaren 6-12 saat geçmesi gerekir. Total CK ve CK-MB düzeyleri enfarktüs büyüklüğü ile koreledir ve prognozun önemli bir belirteçidir. CK-MB seruma geçtikten sonra, MB1 ve MB2 olarak ikiye ayrılır. Plazmada normalde CK alt tipleri dengededir (82).

2.6.3. Laktat dehidrogenaz

LDH'nin 5 izoenzimi bulunmaktadır. LDH1/LDH2 oranının > 1 olması miyokard enfarktüsü için oldukça özgüdür (82).

2.6.4. Kalp yağ asidi bağlayıcı protein

Kardiyak hasar durumunda hızlı bir şekilde seruma çıkıp hızla temizlenen düşük molekül ağırlığı küçük sitozolik proteinlerdir. Ancak iskelet kası ve böbrekte de buldukları için özgül değildirler. Miyoglobine benzer. Yeterli çalışma olmamakla birlikte, miyokarttaki konsantrasyonları daha yüksek olduğu için daha özgül oldukları iddia edilmiştir (82).

2.6.5. Kardiyak Troponinler

İskelet ve kalp kasının kontraksiyonunu sağlayan aktin filamentleri üç komponentten meydana gelmektedir. Bunlar F-aktin, tropomiyozin ve troponin molekülleridir. Aktin filamentinin esas yapısını çift sarmal şeklindeki F-aktin molekülü oluşturmaktadır. Tropomiyozin istirahat durumunda F-aktin zincirlerinin aktif bölgesini kapatarak aktin ile miyozin arasında kontraksiyona neden olan etkileşmeyi önlemektedir. Troponin kompleksi ise 3 molekülden oluşmaktadır. Bunlar troponin T, I ve C'dir. Troponin C kalsiyumu bağlayarak kontraksiyon olayını başlatırken, troponin I aktini bağlar ve istirahat sırasında aktin-miyozin etkileşimini inhibe eder. Troponin I ise troponin kompleksinin tropomiyozine bağlanmasını sağlar. Düz kas hücrelerinde kontraksiyonu düzenleyen bir troponin kompleksi ise yoktur (83). Troponinlerin ölçümü miyokard infarktüsünden sonra miyokard hasarının yaygınlığı hakkında da bilgi vermektedir. Bir çalışmada sintigrafik olarak infarkt büyüklüğü ile troponin I ve T ölçümü arasında korelasyon saptanmıştır (84).

2.7. Elektrokardiyografi

Elektrokardiyografi kalp hastalıklarının tanı ve incelemesinde kullanılan bir yöntem olup kalbin ritmik ve elektrik aktivitesinin grafik olarak kayıt tekniğidir. Bu kayıt ile elde edilen grafiğe elektrokardiyogram (EKG), kullanılan cihaza elektrokardiyografi denir. EKG de görülen dalgalar, kalbin elektrotlara karşı gelen iki noktası arasında bulunan elektriksel gerilim farkından ileri gelir (85).

P dalgası: Atrial depolarizasyon, sağ atriumun yukarı kısmında sinüs düğümünden baslar merkezden dışa doğru atrio-ventriküler düğüme kadar ilerler. Bu dalganın ilk yarısı sağ atriumun, ikinci yarısı sol atriumun depolarizasyonu gösterir. Tüm atrial aktivasyon ilk EKG dalgasını verir (85). Genişliği 110 mm'yi genliği ise 0.25 mV'u geçmez.

PR aralığı: P dalgasının başlangıcından QRS kompleksinin başlangıcına kadar olan kısımdır. Uyarı sinüs düğümünden ventriküllere iletilmesi için geçen süreyi gösterir. PR aralığının süresini atrio-ventriküler iletim zamanı belirler. QRS kompleksi dalgası ile başladığı zaman PR aralığı yerine PQ aralığı terimi kullanılır. (85). PR genişliği 200 msn'yi geçerse anormal kabul edilir.

QRS kompleksi : Ventrikülerin depolarizasyonunu gösteren QRS kompleksi ventriküllerin elektriksel sistolüdür. Ekstremitte derivasyonlarında 100 msn' yi göğüs derivasyonlarında 110 msn'yi geçmez (85).

ST parçası ve T dalgası : ST parçası, ventriküllerde depolarizasyon bitimi ile repolarizasyonun başlangıcı arasında geçen süreyi gösterir. T dalgası ventriküllerin repolarizasyonunu gösterir. Ventriküllerin diastolü sırasında çizilir (85). Genliği ekstremitte derivasyonlarında 0.3 mV, göğüs derivasyonlarında 0.8 mV'u geçmez.

QT intervali: Ventriküllerin depolarizasyon ve repolarizasyonuna karşılık gelmektedir ve Q dalgasının başlangıcından T dalgasının sonuna kadar olan süreyi ifade eder. Kalp hızındaki artış QT mesafesini kısaltır. Kalp hızına göre düzeltilmiş QT aralığı, QT aralığının (sn)' nin RR aralığı (sn)' nin kareköküne bölünmesiyle hesaplanır (Bazett formülü). Düzeltilmiş QT aralığı (QTc) erkeklerde 420 msn'yi kadınlarda 430 msn'yi geçmez. QT mesafesi, R-R ilişkisini etkileyen bir takım

faktörler olup bunlardan bazıları cinsiyet, yaş, diümal değişkenlik, otonomik aktivite, sol ventrikül hipertrofisi, ventrikül içi ileti bozuklukları, hipokalsemi, hipomagnezemi ve ilaç kullanımınıdır (86).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Çalışmanın Etik Kurul Onayı ve Proje Desteği

Bu deneysel çalışmaya başlamak için Gaziosmanpaşa Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu'ndan onay alındı. Bu çalışma Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel araştırma Fonu'ndan (No: 2011/96) desteklenmiştir.

3.1.2. Deneklerin özellikleri

Ortalama 142.9 ± 19.2 gr (120-200 gr) ağırlığında , 6-8 haftalık toplam 35 adet dişi Wistar rat çalışmaya alındı. Ratlar Gaziosmanpaşa üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarından sağlandı. Deneysel çalışma Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Veterinerlik Deneysel Araştırma Merkezinde yapıldı. Hayvanlar deney süresince her bir kafeste 7 adet olacak şekilde; 60x90x45 boyutlarında olan 5 adet ızgaralı, metal köşebentli, tel örgülü kafeslerde barındırıldı Ratlar 23 ± 2 C⁰ ısıda, fare yetiştirme yemi (Best Yem, Gebze, Türkiye) ve su ile beslenerek 10 saat gündüz 14 saat gece ortamında bekletildi.

3.1.3. Çalışmada kullanılan İlaçlar

Doksorubisin (Doxorubicin-Fresenius Kabi 50 mg/25 ml, Farmar İlaç, İstanbul, Türkiye),

Nebivolol tablet (Vasoxen 5 mg tablet, Menarini group, İstanbul, Türkiye),

Atorvastatin tablet (Kolestor 80 mg tablet, Zentiva, Türkiye),

Ketamin flakon (Ketalar 75 mg flakon, Pfizer, İstanbul, Türkiye) ,

Xylazine (Rompun flakon, 10mg/kg, Bayer, İstanbul, Türkiye) ,

Serum fizyolojik (%0.9 NaCl 1000 ml'lik şişe, Eczacıbaşı-Baxter, Türkiye)

3.2. Yöntem

3.2.1. Grupların oluşturulması

Ratlar basit rastgele örnekleme yöntemiyle toplam 5 guruba ayrıldı.

Gurup 1 (Kontrol): Ağırlıkları 132.5 ± 3.9 gr (128-140 gr) olan 7 rata 5. günden itibaren 3 eşit dozda (5. günde, 7. günde, 9. günde) toplam 18 mg/kg serum fizyolojik intraperitoneal (İP) uygulandı.

Gurup 2 (Doksorubisin): 143.1 ± 27.2 gr (120-200 gr) ağırlığındaki 7 rata 5. günden itibaren 3 eşit dozda (5. günde, 7. günde, 9. günde) toplam 18 mg/kg İP doksorubisin uygulandı.

Gurup 3 (Doksorubisin + Atorvastatin): 137.7 ± 7.4 gr (126-150 gr) ağırlığındaki 7 rata doksorubisin verilmeden 5 gün öncesinden başlanarak doksorubisin verildiği süre boyunca günlük oral yolla gavaj yöntemi ile 100 mg/kg atorvastatin ve 5. günden itibaren 3 eşit dozda (5. günde, 7. günde, 9. günde) toplam 18 mg/kg İP doksorubisin uygulandı.

Gurup 4 (Doksorubisin + Nebivolol): Ağırlıkları 140.9 ± 18.2 gr (120-174 gr) olan 7 rata doksorubisin verilmeden 5 gün öncesinden başlanarak doksorubisin verildiği süre boyunca günlük oral yolla gavaj yöntemi ile 6 mg/kg nebivolol ve 5. günden itibaren 3 eşit dozda (5. günde, 7. günde, 9. günde) toplam 18 mg/kg İP doksorubisin uygulandı.

Gurup 5 (Doksorubisin + Atorvastatin + Nebivolol): Ağırlıkları 162.5 ± 22 gr (132-184 gr) olan 7 rata doksorubisin verilmeden 5 gün öncesinden başlanarak doksorubisin verildiği süre boyunca günlük oral yolla gavaj yöntemi ile 100 mg/kg atorvastatin, 6 mg/kg nebivolol ve 5. Günden itibaren 3 eşit dozda (5. günde, 7. günde, 9. günde) toplam 18 mg/kg İP doksorubisin uygulandı.

3.2.2. EKG çekimi

Ratlar, heyecanlanmalarına olanak vermemek için anestezi uygulanarak sedatize edildi ve EKG çekimi için hazırlandı. Bu amaçla EKG aygıtında bulunan iğne elektrotlar ön bacaklarda triceps brachii kasının (coput longum ve coput laterale)

üzerindeki deriye, arka bacaklarda ise biceps femoris kasının üzerindeki deriye tutturuldu. EKG kayıtları çalışma başlangıcı olan 1. günü tüm ratlardan alındı. ve sonrası 10. Gün çalışma sonu tüm ratlardan elde edildi. Tüm EKG'lerde D II derivasyonu çekimi alındı ve EKG sürelerinin ve amplitüdlerinin ölçümü II. derivasyon kullanılarak yapıldı. Çalışmamızda kalp hızına göre düzeltilmiş QT süresi (QTc) hesaplandı. Çalışmamızda başlangıç ve çalışma sonu EKG' lerindeki veriler kullanılarak QRS, PR ve QTc süresi ve kalp hızındaki değişim hesaplandı. (Delta QRS, Delta PR, Delta QTc, Delta kalp hızı)

3.2.3. Biyokimyasal ve patolojik analiz için örnek alma

İlaç uygulamaları sonlandırıldıktan sonra hayvanlar 5. günde Ketamin (Ketalor flakon, 75 mg/kg, Pfizer, İstanbul, Türkiye) ve Xylazine (Rompun flakon, 10 mg/kg) kullanılarak IP yolla verilerek anestezide alındı. İşlemden önce hayvanların ayak parmakları pens ile sıkıştırılarak ağrı duyusunun tam olarak kaybolup kaybolmadığı kontrol edilip rattan herhangi bir tepki alınmadığı zaman anestezinin yeterli olduğuna karar verildi. Hayvan, küçük deney hayvanları için özel olarak yapılmış, bir diseksiyon masasına sırtüstü yatırılarak dört ayağından sabitlendi. Ratin göğüs boşluğu açılarak kalp ortaya çıkarıldı ve vena cava inferiordan kan alındı ve rutin biyokimya tüplerine konuldu. Daha sonra kalp dokusu çıkarıldı ve histopatolojik inceleme %10'luk formaldehit içerisinde alındı.

3.2.4. Biyokimyasal Analizler

Kanlar santrifüje edilerek serumları alındı ve kardiyak hasarlanma için rat kardiyak troponin-I; lipid peroksidasyonun bir göstergesi olarak MDA, serbest oksijen radikallerinden koruyucu enzimler olan GPX ve SOD eliza yöntemi ile Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda çalışıldı. Ratlardan alınan kan örnekleri yaklaşık yirmi dakika pıhtılaşmaya bırakıldıktan sonra on beş dakika kadar santrifüje edilerek (+4 C⁰, 1500 g) serumları ayrıştırıldı. Daha sonra ependorf tüplerine ayrılan serumlar analiz edilene kadar -40 C⁰ de saklandı. Ayrılan serumlardan Rat Cardiac Troponin I Type 3 (TNNI3), Rat Malondialdehyde ve Rat Glutathione Peroxidase 1 ELISA Kit (Usen Life Science Inc.) kullanılarak üretici firmanın talimatları doğrultusunda tüm grupların serum kardiyak troponin I, MDA ve GPX seviyeleri ölçüldü. Ayrıca Superoxide Dismutase Assay Kit (Cayman

Chemical, Ann Arbor, Michigan) kullanılarak tüm grupların serum SOD düzeyleri ölçüldü. Sonuçlar sırasıyla; TNNI3 için pg/ml, MDA için µg/ml, GPX1 için µg/ml ve SOD için U/ml cinsinden hesaplandı.

3.2.5. Patolojik analiz

Ötenazi sonrası tüm sıçanlardan kalp eksize edilip ağırlığı alınarak % 10 formaline koyularak histopatolojik değerlendirme için ayrıldı. Patolojik inceleme için alınan kalp materyalleri % 10'luk formalin solüsyonunda hemen tespit işlemine alındı, parafin bloklara gömülen doku örneklerinde 4 mikron kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen-Eosin ile boyanarak ışık mikroskobunda Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda incelendi. İncelemede miyokard dokusunda fibrozis ve dejenerasyon (Billingham skoru) modifiye skorlandırılarak değerlendirildi (87,88) (Tablo 1).

Tablo 1. Histopatolojik Dejenerasyon Skorlaması

	Puan
Hasar izlenmedi veya sitoplazmik vakuolizasyon	0
% 5 den daha az miyofibril kaybı	1
%5-30 miyofibril kaybı	2
%30 dan daha fazla miyofibril kaybı	3

Tablo 2. Histopatolojik Fibrozis Skorlaması

	Puan
Fibrozis izlenmedi	0
Ventrikül, septum veya papiller kasta minimal fibrozis	1
Çoklu lokalizasyonda küçük odaklarda fibrozis	2
Çoklu lokalizasyonda çoklu odaklarda fibrozis	3
Septum ve papiller kası etkileyen diffüz ve geniş alanlarda fibrozis	4

3.3. İstatistiksel Analiz

Sürekli değişkenler ortalama \pm standart sapma, nitel değişkenler sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Gruplar arasında sürekli değişkenler “Mann-Whitney U” ve “Kruskal-Wallis” tek yönlü varyans analiz testi, nitel değişkenler ise ki kare (chi-square) testi ile karşılaştırıldı. Nitel değişkenler karşılaştırılırken dört gözlü çapraz tablolarda beklenen değerlerin 5’ten küçük olduğu durumlarda Fisher’in kesin kare testi (Fisher’s Exact Test) kullanıldı. Hesaplanan iki yönlü *P* değeri <0.05 ise karşılaştırılan değişkenler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Tüm analizler için SPSS (statistical Package for the Social Sciences) istatistiksel yazılım paketi kullanıldı (Version 16, SPSS Inc, Chicago, IL, USA).

4.BULGULAR

4.1.Genel Klinik Değerlendirme:

Genel klinik değerlendirmede 10 günlük süre içinde kontrol grubuna göre bütün gruplarda anlamlı ağırlık azalması kaydedilmedi. Ratlar sakrifikasyon öncesi gözlendi. Ratlar genel olarak iyi klinik durumda olarak değerlendirildi. Grup 5'de 1 ratta (% 14.30) mortalite saptandı. Diğer gruplarda mortalite saptanmadı.

Tablo 3. Deneklerin Bazal Kiloları ve Kilo Değişimleri

Gruplar	Başlangıç (gr)	Kilo değişimi (gr)
Grup 1 (n:7)	132.5±3.9	+5.4
Grup 2 (n:7)	143.1±27.2	+5.7
Grup 3 (n:7)	137.7±7.4	+7.7
Grup 4 (n:7)	140.9±18.2	+7.1
Grup 5 (n:6)	162.5± 22	+5.1

4.2.Biyokimyasal parametrelerdeki Bulgular

Dokсорubisin alan tüm deneklerde 5. gün bakılan TnI düzeyleri kontrol grubuna (grup 1) göre daha yüksekti $P<0.05$ (Tablo 4.). Grup 2 ile grup 1 arasında karşılaştırmada MDA ve SOD değerleri grup 1'e göre yüksekti. ($1.06±0.21$ ile $0.80±0.61$, $22.19±2.08$ ile $17.34±2.37$, $P<0.05$). Grup 3 ile grup 1 arasında karşılaştırmada SOD değeri grup 1'e göre yüksekti. ($22.42±1.77$ ile $17.34±2.37$, $P<0.05$). Grup 4 ile grup 1 arasında karşılaştırmada SOD değeri grup 1'e göre yüksekti. ($22.42±3.15$ ile $17.34±2.37$, $P<0.05$). Grup 5 ile grup 1 arasında karşılaştırmada MDA ve SOD değeri grup 1'e göre yüksekti. ($1.32±0.29$ vs $0.80±0.61$, $21.38±1.45$ ile $17.34±2.37$, $P<0.05$). Grup 3 ile grup 2 arasında

karşılaştırmada grup 3’de TnI değeri grup 2’ye göre yüksek; MDA değeri grup 2’ye göre düşüktü (440.2±25.9 ile 342.1±32, 0.71±0.09 ile 1.06±0.21, $P<0.05$). Grup 4 ile grup 2 arasında karşılaştırmada MDA değeri grup 2’e göre düşüktü (0.80±0.13 ile 1.06±0.21, $P<0.05$). Grup 5 ile grup 3 arasında karşılaştırmada grup 5’ de MDA değeri grup 3 e göre yüksek iken GPX ve TnI düşüktü (1.32±0.29 ile 0.71±0.09, 4.39±0.70 ile 5.63±0.53, 291.7±68.7 ile 440.2±25.9, $P<0.05$). Grup 5 ile grup 4 arasındaki karşılaştırmada grup 4’e göre TnI ve GPX değeri düşük iken MDA düzeyi yüksekti (291.7±68.7 ile 423.9±99.8, 4.39±0.70 ile 5.67±0.56, 1.32±0.29 ile 0.80±0.13, $P <0.05$).

Tablo 4. Deneklerin Biyokimyasal Analiz Sonuçları

Gruplar	cTnI ^a (ng/ml)	MDA (µg/ml)	SOD (U/ml)	GPX (µg/ml)
Grup 1 (n:7)	0	0.80±0.61	17.34± 2.37	5.05±0.69
Grup 2 (n:7)	342.12±32.2	1.06±0.21 ^b	22.19± 2.08 ^b	5.10±0.54
Grup 3 (n:7)	440.24±25.9 ^c	0.71±0.09 ^c	22.42±1.77 ^d	5.63±0.53
Grup 4 (n:7)	423.91±99.8	0.80±0.13 ^e	22.42±3.15 ^f	5.67±0.56
Grup 5 (n:6)	291.71±68.7 ^{g,h}	1.32±0.29 ^{g,h,i}	21.38±1.45 ⁱ	4.39±0.70 ^{g,h}

MDA:Malonildialdehid; SOD:Superoksit Dismutaz; GPX:Glutatyon peroksidaz;

Troponin I:cTnI

^aGrup 1 e göre tüm gruplarda TnI yüksek $P <0.05$

^bGrup 2 ile grup 1 arasında $P <0.05$

^cGrup 3 ile grup 2 arasında $P <0.05$

^dGrup 3 ile grup 1 arasında $P <0.05$

^eGrup 4 ile grup 2 arasında $P <0.05$

^fGrup 4 ile grup 1 arasında $P <0.05$

^gGrup 5 ile grup 3 arasında $P <0.05$

^hGrup 5 ile grup 4 arasında $P <0.05$

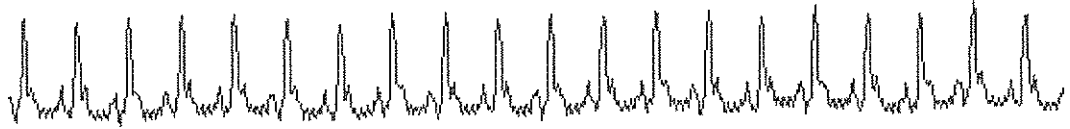
ⁱGrup 5 ile grup 1 arasında $P <0.05$

4.3. Elektrokardiyografik Bulgular

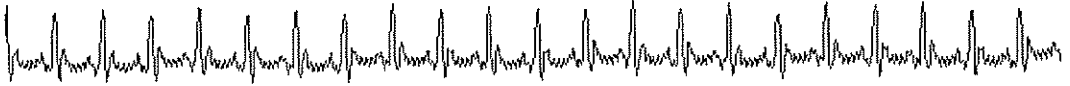
Grupların bazal ve çalışma sonu EKG bulguları Tablo 5 ve 6'de gösterilmiştir. Gruplar arasında bazal EKG bulguları bakımından fark yoktu. Gruplardan alınan EKG örnekleri şekil 4' de gösterilmiştir.



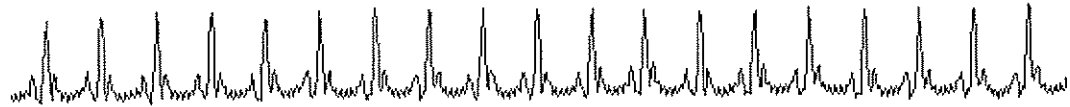
Grup 1, rat no: 4



Grup 2, rat no: 4



Grup 3, rat no: 3



Grup 4, rat no: 5



Grup 5, rat no: 4

Şekil 4. Deneklerin EKG Örnekleri

Tablo 5. Deneklerin Bazal Elektrokardiografik Analiz Sonuçları

Gruplar	PR süresi (msn)	QRS süresi (msn)	Kalp hızı (atım/dk)	QTc (msn)
Grup 1 (n:7)	50.57±4.54	42.29±8.18	333.29±45.38	259.81±30.31
Grup 2 (n:7)	54.00±4.58	33.43±8.54	310.29±45.36	272.72±31.54
Grup 3 (n:7)	63.57±6.52	35.29±3.59	308±10.34	271.73±4.26
Grup 4 (n:7)	57.43±2.99	33.29±7.95	313.57±17.12	278.54±32.58
Grup 5 (n:6)	55.86±5.87	38.86±2.11	322.29±37.65	267.35±9.73

Tablo 6. Deneklerin Çalışma Sonu Elektrokardiografik Analiz Sonuçları

Gruplar	PR süresi (msn)	QRS süresi (msn)	Kalp hızı (atım/dk)	QTc (msn)
Grup 1 (n:7)	51.14±5.39	41.71±5.39	333.29±44.68	261.78±32.99
Grup 2 (n:7)	56.43±4.31	36.00±8.32	289.71±48.06	278.95±26.67
Grup 3 (n:7)	64.00±6.37	35.86±2.19	228.57±58.10	313.95±20.23
Grup 4 (n:7)	59.86±2.85	33.43±8.22	271.14±38.35	289.00±22.70
Grup 5 (n:6)	55.67±3.61	39.67±1.36	300.00±32.66	271.23±13.30

PR süresi

Gruplar arasında PR mesafesi değişimi (delta PR) bakımından anlamlı bir fark yoktu (Tablo 7).

QRS süresi

Grup 2'deki deneklerde grup 1'e göre QRS sürelerindeki değişim (delta QRS) artmıştı (2.57 ± 0.78 msn ile -0.57 ± 0.53 ms, $P < 0.05$). Grup 3' deki deneklerde grup 2'ye göre delta QRS süreleri azalmıştı (0.57 ± 1.9 ile 2.57 ± 0.78 $P < 0.05$). Grup 4 deki deneklerde grup 2' ye göre delta QRS süreleri azalmıştı (0.14 ± 1.34 ile 2.57 ± 0.78 $P < 0.05$). Grup 5' deki deneklerde grup 2' e göre delta QRS süreleri azalmıştı (0.17 ± 1.16 ile 2.57 ± 0.78 $P < 0.05$).

QT Süresi (QTc)

Grup 3'deki deneklerde grup 2'ye göre QTc sürelerinde değişim (delta QTc) artmıştı. (42.22 ± 18.85 msn ile 6.23 ± 28.09 msn, $P < 0.05$) Grup 4 deki deneklerde grup 3'e göre delta QTc azalmıştı. (10.47 ± 11.69 msn ile 42.22 ± 18.85 msn, $P < 0.05$) Grup 5' deki deneklerde grup 3'e göre delta QTc azalmıştı (4.17 ± 5.42 msn ile 42.22 ± 18.85 msn, $P < 0.05$).

Kalp Hızı

Gruplar arasında kalp hızı değişimi (delta kalp hızı) bakımından kontrol grubuna göre grup 3, grup 4 ve grup 5' de değişim artmıştı. (0 ± 3.8 ile -79.43 ± 62.29 , -42.43 ± 36.92 , -24 ± 17.20 , $P < 0.05$)

Tablo 7. Deneklerin Elektrokardiografik Bulgularında Değişim

Gruplar	Delta PR (msn)	Delta QRS (msn)	Delta kalp hızı (atım/dk)	Delta QTc(msn)
Grup 1 (n:7)	0.57±1.51	-0.57±0.53	0±3.8	1.97±3.92
Grup 2 (n:7)	2.43±2.93	2.57 ±0.78 ^a	-20.57±25.78	6.23±28.09
Grup 3 (n:7)	0.43±1.27	0.57±1.9	-79.43±62.29	42.22±18.85 ^b
Grup 4 (n:7)	2.43±1.71	0.14±1.34	-42.43±36.92	10.47±11.69
Grup 5 (n:6)	1.17±1.9	0.17±1.16	-24±17.20	4.17±5.42

^a Grup 2 ile diğer grupların her biri arasında $P < 0.05$

^b Grup 3 ile diğer grupların her biri arasında $P < 0.05$

4.4. Histopatolojik bulgular

Tablo 8. Histopatolojik Analiz Sonuçları

	Grup 1 (n=7)	Grup 2 (n=7)	Grup 3 (n=7)	Grup 4 (n=7)	Grup 5 (n=6)
Dejenerasyon	0 (0)	7 (100)	7 (100)	7 (100)	6 (100)
Fibrozis	0 (0)	4 (57.1)	3 (42.9)	4 (57.1)	4 (66.7)

Veriler sayı ve parantez içinde yüzde olarak gösterilmiştir.

Dejenerasyon

Kontrol grubu olan grup 1 de dejenerasyon izlenmedi. Billingham skoru ile değerlendirilen deneklerde dejenerasyon derecesine bakılmaksızın doksorubisin alan tüm gruplardaki ratlarda dejenerasyon izlenmiştir ($p<0.05$) (Tablo 10).

Grup 2 de toplam 7 rattan 1'inde (14.3%) %5 den az miyofibril kaybı, 4'ünde (57.1%) %5-30 miyofibril kaybı, 2'sinde (28.6%) % 30 dan fazla miyofibril kaybı saptandı. Grup 3'de ise 5 ratta (71.4%) %5-30 miyofibril kaybı saptanırken 2 ratta (28.6%) % 30 dan fazla miyofibril kaybı saptandı. Grup 4'de 5 ratta (71.4%) %5 den az miyofibril kaybı, 2 ratta (28.6%) %5-30 miyofibril kaybı saptanırken % 30 dan fazla miyofibril kaybı hiçbir ratta saptanmadı. Grup 5'de toplam 6 rattan 3 ünde (50%) %5 den az miyofibril kaybı, 2 ratta (33.3%) %5-30 miyofibril kaybı, 1 ratta (16.7%) % 30 dan fazla miyofibril kaybı saptandı.

Grup 4 ile grup 3 arasında yapılan değerlendirmede grup 4 grup 3' e göre daha düşük dejenerasyon skoru saptandı ve istatistiksel olarak anlamlıydı ($P<0.05$) (Tablo 10).

Tablo 9. Histopatolojik Dejenerasyon Analizi

	Grup 1* (n=7)	Grup 2 (n=7)	Grup 3 (n=7)	Grup 4** (n=7)	Grup 5 (n=6)
0 (n, %)	7 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
1 (n, %)	0 (0)	1 (14.3)	0 (0)	5 (71.4)	3 (50.0)
2 (n, %)	0 (0)	4 (57.1)	5 (71.4)	2 (28.6)	2 (33.3)
3 (n, %)	0 (0)	2 (28.6)	2 (28.6)	0 (0)	1 (16.7)

Veriler sayı ve parantez içinde yüzde olarak gösterilmiştir.

*Kontrol grubu ile doksorubisin alan gruplar arasında $P < 0.05$

** Grup 4 ile grup 3 arasında $P < 0.05$

Fibrozis

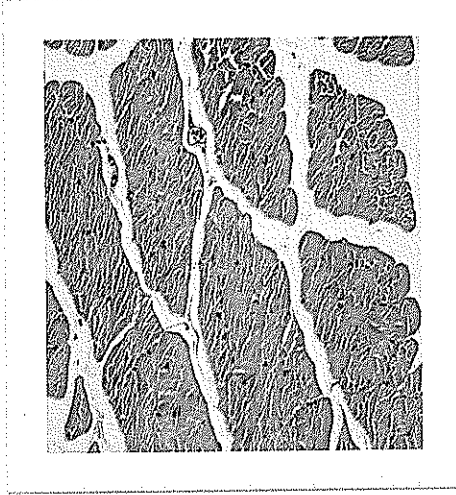
Kontrol grubu olan grup 1 de fibrozis izlenmedi. Grup 2' de toplam 7 ratın 3'ünde (%42.9) çoklu lokalizasyonda küçük odaklarda fibrozis; 1 ratta (%14.3) çoklu lokalizasyonda ve çoklu odaklarda fibrozis izlenirken; 3 ratta (%42.9) fibrozis izlenmedi. Grup 3 de toplam 7 rattan 3 ratta (%42.9) çoklu lokalizasyonda küçük odaklarda fibrozis; 4 ratta (%57.1) fibrozis izlenmedi. Grup 4 de toplam 7 rattan 2 ratta (%28.6) çoklu lokalizasyonda küçük odaklarda fibrozis; 1 ratta (%14.3) ventrikül, septum veya papiller kasta minimal fibrozis izlenirken; 3 ratta (%42.9) fibrozis izlenmedi. Grup 5'de toplam 6 rattan 1 ratta (%16.7) çoklu lokalizasyonda küçük odaklarda fibrozis; 3 ratta (%50) ventrikül, septum veya papiller kasta minimal fibrozis izlenirken; 2 ratta (%33.3) fibrozis izlenmedi. Doksorubisin alan gruplar fibrozis analizi açısından kendi arasında farklı değildi. (Tablo 11).

Tablo 10. Histopatolojik Fibrozis Analizi

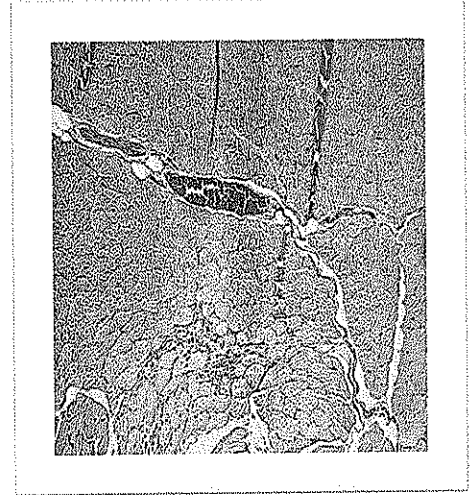
	Grup 1* (n=7)	Grup 2 (n=7)	Grup 3 (n=7)	Grup 4 (n=7)	Grup 5 (n=6)
0 (n, %)	7 (100)	3 (42.9)	4 (57.1)	3 (42.9)	2 (33.3)
1 (n, %)	0 (0)	0 (0)	3 (42.9)	1 (14.3)	3 (50.0)
2 (n, %)	0 (0)	3 (42.9)	0 (0)	2 (28.6)	1 (16.7)
3 (n, %)	0 (0)	1 (14.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
4 (n, %)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (14.3)	0 (0)

*Kontrol grubu ile doksorubisin alan gruplar arasında $p < 0.05$

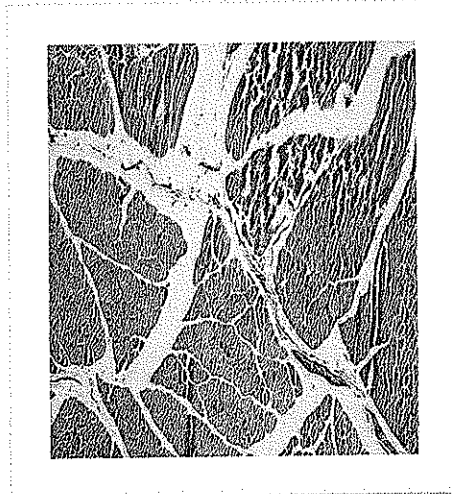
Resim 1: Rat miyokardındaki saptanan histopatolojik değişiklikler



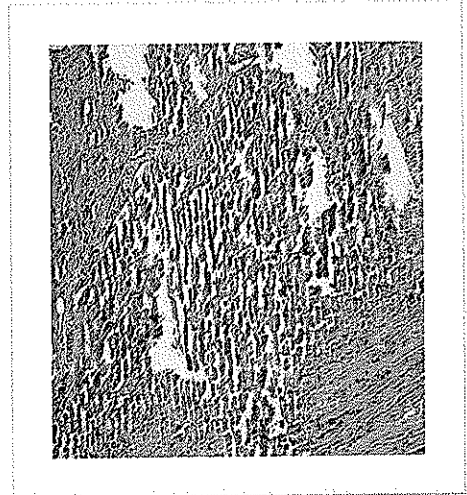
Resim 1a: Normal miyokard



Resim 1b: Grade-1 Dejenerasyon

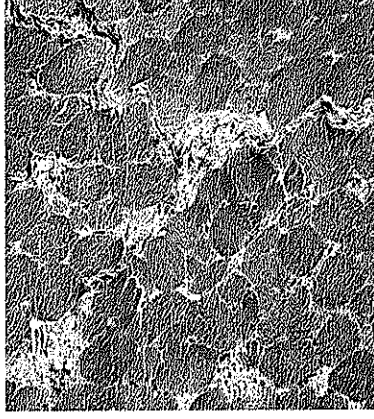


Resim 1c: Grade-2 Dejenerasyon



Resim 1d: Grade-3 Dejenerasyon

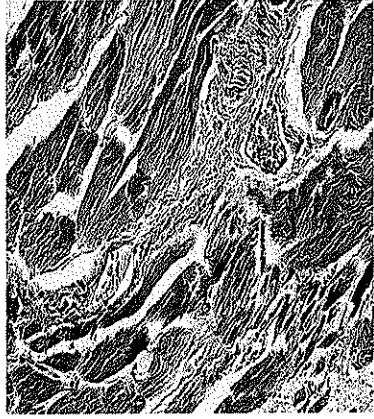
Resim 2: Rat miyokardındaki saptanan histopatolojik değişiklikler



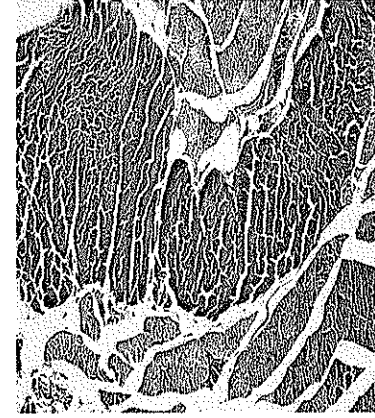
Resim 2a : Grade- 1 Fibrozis



Resim 2b: Grade- 2 Fibrozis



Resim 2c: Grade-3 Fibrozis



Resim 2d: Grade- 4 Fibrozis

5.TARTIŞMA

Bu çalışmada doksorubisinin tetiklediği kardiyotoksisiteyi önlemek için beta bloker olan nebivolol ve hiperlipidemi tedavisinde kullanılan HMG COA redüktaz inhibitörü atorvastatinin etkisi araştırıldı. Çalışmada total 18 mg/kg doz olan kümülatif dozda doksorubisin verildi (89). Çalışmada kümülatif doza 3 eşit doz ile ulaşılmış olup günlük klinikte uygulanan paylaştırılmış doz yöntemi uygulanmıştır. Yapılan deneysel çalışmalarda ratlarda antrasiklinlerin yol açtığı akut kardiyotoksistenin genellikle ilk bir haftada ortaya çıktığı görülmüştür (6,7). Bu yüzden çalışmamızda doza maruziyetten 1. hafta içerisinde eksplere edilerek örneklem yapıldı. Çalışmada doksorubisinin indüklediği kardiyotoksiste üç farklı yolla araştırıldı. Biyokimyasal olarak serumda troponin I, MDA, SOD ve GPX düzeylerinin belirlenmesi; EKG’de deney öncesi ve sonrası kalp hızı, QT süresi ve PR süresinin hesaplanması ve histopatolojik olarak dejenerasyon ve fibrozis düzeylerine bakıldı. Biz çalışmamızda doksorubisin ile rat kalplerinde bakılan parametreler doğrultusunda başarılı bir şekilde kardiyotoksiste oluşturduk. Atorvastatin ve nebivololun doksorubisin ile kombine edildiğinde ise kardiyotoksisiteyi önlemede bazı parametreler doğrultusunda azalma sağladığını gördük.

Doksorubisine bağlı kardiyotoksistenin oluşumu tamamen anlaşılmış olmayıp muhtemel mekanizmalar kalsiyum homeostaz bozuklukları, serbest oksijen radikalleri ve antrasiklin metabolitlerine bağlıdır (90). Beta blokerler negatif kronotropik ve inotropik özellikleri ile miyokard oksijen tüketimini azaltan ve koroner kan akımını düzenleyen iskemik kalp hastalıklarının tedavisinde kullanılan ilaçlardır. Yeni yapılan çalışmalarda beta blokerlerin intrasellüler mekanizmasının farklı olup kendi aralarında farklı özellikler gösterdiği bulunmuştur (91). Uzun süreli olan çalışmalarda metoprolol ve bisoprolol doksorubisine bağlı kardiyomiyopatide mortalite ve morbiditenin azaltılması açısından etkileri yeterli olmadığı yönündeydi (92). Güncel bir çalışmada karvedilol, kardiyovasküler nedenlere bağlı hastaneye yatış ve ölüm riski azaltılmış olduğunu gösterdi (93). Nitrik oksit sentaz (NOS) ve NO, kalp patofizyolojisinde önemli olup kalp hastalıklarının etyolojisinde rol oynamaktadır. Nebivolol, hipertansiyon tedavisi için kullanılan bir kardiyoselektif

beta blokerdir. Nebivolol, L arginine/NO yolu ile vazodilatatör etki gösterir (94). NO, salınımı yapan beta bloker olan nebivololün daha önce yapılan çeşitli deneysel çalışmalarda doksorubisinin yol açtığı akut ve kronik karditoksisiteyi önleyebildiği gösterilmiştir (15). Shasi ve arkadaşları doksorubisinin indüklediği oksidatif stresin endotelial NOS transkripsiyonunu artırıp doksorubisin indüklediği apoptozda ilişkili olduğunu belirtmiştir (95). Antrasiklinler oksidatif stres ve serbest radikallerin etkisi ile lipid peroksidasyon ürünü olan MDA da artış ve glutatyon peroksidaz aktivitesinde azalmaya neden olduğu daha önceki çalışmalarda saptanmıştır (96,97). Kardiyotoksisite patogeneğinde rol oynayan serbest oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA ile ilgili çalışmaların çoğu doksorubisin ile yapılmış olup çalışmalarda serbest oksijen radikallerinin ve MDA düzeylerinin arttırdığı görülmüştür (8,98). Daunorubisin tetkiklediği kardiyotoksisitenin önlenmesinde karvedilol ile yapılan çalışmada; kontrol grubuna kıyasla daunorubisin kolunda MDA düzeyi artmış GPX düzeyi azalmış; karvedilol alan grupta MDA düzeyi azalmış ve GPX düzeyi artmıştır (96). Bizim çalışmamızda doksorubisin grubunda kontrol grubuna göre lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeyinde anlamlı yükselme mevcuttu. Toksisiteyi azaltmak için verilen nebivolol grubunda ise doksorubisin grubuna göre MDA düzeyi daha düşük saptandı. Bu sonuç, doksorubisin lipid peroksidasyonunu artırır iken, nebivolol ile birlikte verilmesinin lipid peroksidasyonunda azalma sağlayabileceği şeklinde yorumlanabilir.

Statinler, kardiyovasküler risklerin azaltılması ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde umut verici farmakolojik moleküllerdir. Statınlerin kolesterol düşürücü özelliklerinin yanında enflamasyonda azalma, sol ventrikül fibrozisinde ve immün aktivasyonunda azalma sağlayan pleotropik etkileri mevcuttur. Lipid düşürücü ilaç olan probukol daha önce antrasikline bağlı gelişen kardiyomiyopati tedavisinde ratlarda kullanılmış olup başarılı sonuç alınmıştır (99). Probucol günümüzde yerini daha yüksek antioksidan özellikleri ve pleotropik özelliği olan HMG Co-A redüktaz inhibitörlerine bırakmıştır (99). Lovastatin ile yapılan çalışmada doksorubisinin indüklediği serbest radikal hasarını ve oksidatif DNA hasarında azalma sağladığı gösterilmiştir (100). Fluvastatin ile yapılan çalışmada ön yük, ard yük ve inotropi etkisi olmaksızın doksorubisin tedavisi öncesi fluvastatin verilen farelerde doksorubisin indüklediği kardiyomiyopatide sol

ventrikül fonksiyonunu bağımsız bir şekilde koruduğu gözlenmiştir (101). Çalışmamızda toksisiteyi azaltmak için verilen atorvastatinin, doksorubisin verilen gruba göre MDA düzeyini anlamlı olarak düşürdüğü saptandı. Bu sonuç doksorubisinin lipid peroksidasyonunu arttırır iken atorvastatin ile birlikte verilmesi ile lipid peroksidasyonunun daha az olduğunu gösteren önceki çalışmalarla uyumlu bulundu. Ancak nebivololün ve atorvastatin doksorubisin tedavisine birlikte kombinasyonunda ise ilginç olarak MDA düzeylerinde artış saptanmıştır. Bu ilginç sonucun nedeni, son grubumuzdaki 1 ratın ölümü dolayısıyla grupta toplam 6 rat kalması ve bunun da istatistiksel sonucu etkilemesi olabilir.

Katalaz, SOD ve GPX gibi enzimler ve hücre içi total glutatyon, serbest oksijen radikallerinin hücrelere verdikleri zararlardan koruması deneysel çalışmalarda görülmüştür (102,103). GPX, organik peroksitleri ve redükte GSH' nu ve okside-GSH dönüşümünü katalize eder. Sonuç olarak serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun hücreye verdiği zararı azaltmaktadır (104). Bazı deneysel çalışmalarda doksorubisine bağlı kardiyotoksistede kalp dokusunda SOD, katalaz, GPX ve total glutatyon düzeylerinde azalma saptanmış ve bu azalmanın lipid peroksidasyonu ile ilişkisi ortaya konulmuştur (102,103). Bizim çalışmamızda doksorubisin ile SOD düzeyi artmıştı. Bu sonuç lipid peroksidasyonuna bağlı endojen antioksidanların artışı ile açıklanabilir. Fakat beklenenin aksine SOD değeri açısından nebivolol veya atorvastatinin dahada fazla koruyucu etkisi gözlenmedi. Bu sonuç, lipid peroksidasyonuna bağlı endojen antioksidan artışına nebivolol veya atorvastatinin bu dozlarda ek bir katkısının olamayabileceği şeklinde yorumlanabilir. GPX' in nebivolol ve atorvastatin verilen gruplarda arttığını, fakat bu artışın anlamlı değerlere varmamasının nedeninde mevcut denek sayısının azlığı olabilir. Daha fazla sayıda denekle yapılacak çalışmalar bulduğumuz bu farkı anlamlı hale getirebilir.

Antrasiklin ilişkili kardiyotoksistenin farelerdeki deneysel modellerinde ve insanlarda yapılan klinik çalışmalarda troponinin serumdaki düzeyinin minimal miyosit hasarında yükselişini gösterilmiştir (105,106). Çalışmalarda doksorubisinin troponini arttırdığı ve kardiyotoksistenin bir belirteci olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (90). Çalışmamızda doksorubisinin verilen gruplarda troponin değeri kontrol grubuna göre artmıştır. Kardiyotoksisteden korunma amaçlı verilen grup 3

de troponin düzeyi grup 2 den daha yüksekti. Ancak grup 5 grup 2 ve grup 4 den daha düşük troponin seviyesine sahipti.

EKG; kalbin elektriksel aktivasyonunun kaydedilmesi ve yorumlanmasıdır. Doksorubisin kardiyotoksitesisi gelişen hastalardaki EKG değişikliği daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Çalışmalarda doksorubisin kardiyotoksitesisi sonrası uyumlu EKG değişiklikleri; QRS süresinde artma, QT süresinde uzama ve T dalgası düzleşmesidir (107). Ratlarda kronik doksorubisin tedavisinin indüklediği miyokard hasarının en prediktif parametresi QT mesafesinde uzamadır (108). Genel olarak doksorubisin aksiyon potansiyelinin repolarizasyon fazını etkileyip uzatır (109). Yağmurca ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada doksorubisin alan gruplarda miyokarda nekroz ve apoptozis sonucu olan oksijen tüketiminde artışa bağlı kalp hızı, sistolik ve diyastolik kan basıncında artış olduğu bulunmuştur (110). Bizim çalışmamızda gruplarda bazal kalp hızlarına göre anlamlı değişiklik saptanmamıştır. Atorvastatin diğer gruplara kıyasla QT süresini anlamlı olarak uzattı. Bu bize atorvastatinin doksorubisin ile birlikte verilmesi QTc değişimini arttırdığı göstermektedir. Buna karşılık nebivololün böyle bir etkisi gözlenmedi. Bu ayrıca grup 5 ile grup 3 arasında da anlamlıydı. Bu bize nebivololün tek başına veya atorvastatin ile birlikte verilmesinin QTc süresindeki değişimde koruyucu olduğunu göstermektedir. Rossi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada atorvastatin alan grupta, kümülatif doksorubisin dozu EKG’de QRS süresinde uzama yaptığı gösterilmiştir (113). Benzer sonuç çalışmamızda saptanmış olup EKG’de QRS süresinde uzama atorvastatin ve nebivolol verilen gruplarda QRS süresi uzaması bu moleküllerin koruyucu etkisini gösteriyor olabilir. Daha önceki çalışmalarda PR süresi ile doksorubisin kardiyotoksitesisi arasında ilişki olmayıp çalışmamızda PR süresinde doksorubisin verilen gruplarda anlamlı etki olmamıştır.

Daha önce yapılan hayvan çalışmalarında doksorubisin verilen deneklerin kalplerinde yapılan histopatolojik incelemede kardiyomiyositlerde fibrozis, sarkotübüler dilatasyon, sitoplazmik vakuolizasyon ve miyofibriler kayıp izlenmiştir. (87). Doksorubisine bağlı kardiyotoksitesiteyi değerlendirmek için dejenerasyon skoru (Billingham skoru) deneysel çalışmada kullanılmıştır (87). Çalışmamızın esas bulgusu; doksorubisin alan gruplarda histopatolojik incelemede dejenerasyon skoru artmıştı. Gruplar arası yapılan değerlendirmede nebivololün atorvastatine göre

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- 1) Doksorubisin, lipid peroksidasyonunu arttırdı.
- 2) Doksorubisin, serum MDA düzeyini arttırdı.
- 3) Troponin, doksorubisin alan tüm gruplarda yüksekti.
- 4) Doksorubisin ile birlikte verilen atorvastatin, tek başına verilen doksorubisine göre troponin düzeyini daha da yükseltti.
- 5) Doksorubisinin atorvastatin ve nebivolol ile birlikte verilmesi ile troponin düzeyi atorvastatin verilmesine göre düşük izlendi.
- 6) Atorvastatin MDA düzeyini doksorubisine kıyasla düşürdü.
- 7) Nebivolol MDA düzeyini doksorubisine göre düşürdü.
- 8) Doksorubisin, serbest oksijen radikallerinden koruyucu enzimler olan SOD enzim düzeyini arttırdı.
- 9) Doksorubisinin atorvastatin ve nebivolol ile birlikte verilmesi SOD düzeyini artırdı.
- 10) Doksorubisin, EKG'de QRS süresini uzattı.
- 11) Doksorubisinin nebivolol ve/veya atorvastatin ile birlikte verilmesi, EKG parametreleri üzerinde QRS süresinde olumlu etkilerde bulundu.
- 12) Doksorubisinin nebivolol ile birlikte verilmesi, EKG parametreleri üzerinde QTc süresinde olumlu etkiledi.
- 13) Doksorubisin, histopatolojik olarak dejenerasyon ve fibrozisi arttırdı.
- 14) Nebivololun doksorubisinin oluşturduğu dejenerasyonu azaltma yönünde etkisi saptandı.

Bu araştırma genel olarak değerlendirildiğinde, bu konuyla ilgili ileride planlanacak çalışmalarda araştırmacı arkadaşlara yardımcı olabileceğini düşündüğümüz öneriler aşağıda sıralanmıştır;

- 1) Doksorubisin tetiklediği kardiyomiyopatinin önlenmesi için daha önce simvastatin, fluvastatin ve rosuvastatin denenmiştir. Atorvastatin ile elde edilen bulgular bu alanda ilk olduğu için orjinaldir.
- 2) Doksorubisin tetiklediği kardiyomiyopatinin önlenmesi için daha önce beta blokerlerden karvedilol, metoprolol, bisoprolol denenmiştir. NO üzerinden etkili olan

nebivololün etkisi daha önce deneysel laboratuvar ortamında in vitro çalışmalarda gösterilmiştir. Çalışmamızdan elde edilen bulguların daha geniş çalışmalarla desteklenmesi gerekir.

3) Çalışmada doksorubisin kardiyotoksisitesini önleme için verilen ilaçların etkisini tespit etmek için denek 7'şer adet rat kullanıldı. Ancak çalışma takibinde grup 5'de 1 rat kaybedildi. Bu kayıp çalışmanın istatistiksel sonuçlarını etkilemiş olabilir. Daha fazla rat sayısı ile yapılan çalışmada ilaçların doksorubisin kardiyotoksisitesini önleme etkisini daha net tespit edilebilir.

4) Biz atorvastatin alan doksorubisin grubunda, sadece doksorubisin grubuna göre daha yüksek troponin değeri saptadık. Bu ilginç gözlemimize amacına uygun olarak tasarlanmış bir çalışmada araştırılması gerekir.

KAYNAKLAR

1. Hochster H, Wasserheit C, Speyer J. Cardiotoxicity and cardioprotection during chemotherapy. *Curr Opin Oncol*. 1995;7(4): 304-9.
2. Wojtacki J, Lewicka-Nowak E, Lesniewski-Kmak K. Anthracycline-induced cardiotoxicity: clinical course, risk factors, pathogenesis, detection and prevention--review of the literature. *Med Sci Monit*. 2000;6(2): 411-20.
3. Rudolph R, Stein RS, Pattillo RA. Skin ulcers due to adriamycin. *Cancer*. 1976;38(3): 1087-94.
4. Faulds D, Balfour JA, Chrisp P, Langtry HD. Mitoxantrone. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in the chemotherapy of cancer. *Drugs*. 1991; 41(3): 400-49.
5. Wojtacki J. [Cardiac complications of antineoplastic chemotherapy]. *Pol Arch Med Wewn*. 1998;100(5): 470-82.
6. Borchmann P, Hubel K, Schnell R, Engert A. Idarubicin: a brief overview on pharmacology and clinical use. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 1997;35(2): 80-3.
7. Herman EH, Zhang J, Hasinoff BB, Clark JR, Jr., Ferrans VJ. Comparison of the structural changes induced by doxorubicin and mitoxantrone in the heart, kidney and intestine and characterization of the Fe(III)-mitoxantrone complex. *J Mol Cell Cardiol*. 1997;29(9): 2415-30.
8. Doroshow JH. Effect of anthracycline antibiotics on oxygen radical formation in rat heart. *Cancer Res*. 1983;43(2): 460-72.
9. Doroshow JH, Akman S, Chu FF, Esworthy S. Role of the glutathione-glutathione peroxidase cycle in the cytotoxicity of the anticancer quinones. *Pharmacol Ther*. 1990;47(3): 359-70.
10. Andersson BS, Eksborg S, Vidal RF, Sundberg M, Carlberg M. Anthraquinone-induced cell injury: acute toxicity of carminomycin, epirubicin, idarubicin and mitoxantrone in isolated cardiomyocytes. *Toxicology*. 1999;135(1): 11-20.
11. Minotti G, Menna P, Salvatorelli E, Cairo G, Gianni L. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacol Rev*. 2004;56(2): 185-229.
12. Legha SS, Benjamin RS. Doxorubicin toxicity. *Ann Intern Med*. 1981;95(4): 520-1.

13. Swain SM, Whaley FS, Ewer MS. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin: a retrospective analysis of three trials. *Cancer*. 2003;97(11): 2869-79.
14. Von Hoff DD, Layard MW, Basa P, Davis HL, Jr., Von Hoff AL, Rozenzweig M, et al. Risk factors for doxorubicin-induced congestive heart failure. *Ann Intern Med*. 1979;91(5): 710-7.
15. Ignarro LJ, Cirino G, Casini A, Napoli C. Nitric oxide as a signaling molecule in the vascular system: an overview. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1999;34(6): 879-86.
16. Ghio S, Magrini G, Serio A, Klersy C, Fucili A, Ronaszeki A, et al. Effects of nebivolol in elderly heart failure patients with or without systolic left ventricular dysfunction: results of the SENIORS echocardiographic substudy. *Eur Heart J*. 2006;27(5): 562-8.
17. Gotto AM, Jr. Lipid risk factors and the regression of atherosclerosis. *Am J Cardiol*. 1995;76(2): 3A-7A.
18. Ahmed HH, Manna F, Elmegeed GA, Doss SH. Cardioprotective activity of melatonin and its novel synthesized derivatives on doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Bioorg Med Chem*. 2005;13(5): 1847-57.
19. Xu MF, Tang PL, Qian ZM, Ashraf M. Effects by doxorubicin on the myocardium are mediated by oxygen free radicals. *Life Sci*. 2001;68(8): 889-901.
20. Keizer HG, Pinedo HM, Schuurhuis GJ, Joenje H. Doxorubicin (adriamycin): a critical review of free radical-dependent mechanisms of cytotoxicity. *Pharmacol Ther*. 1990;47(2): 219-31.
21. Quiles JL, Huertas JR, Battino M, Mataix J, Ramirez-Tortosa MC. Antioxidant nutrients and adriamycin toxicity. *Toxicology*. 2002;180(1): 79-95.
22. Pritsos CA, Ma J. Basal and drug-induced antioxidant enzyme activities correlate with age-dependent doxorubicin oxidative toxicity. *Chem Biol Interact*. 2000;127(1): 1-11.
23. Jain D. Cardiotoxicity of doxorubicin and other anthracycline derivatives. *J Nucl Cardiol*. 2000;7(1): 53-62.
24. Childs AC, Phaneuf SL, Dirks AJ, Phillips T, Leeuwenburgh C. Doxorubicin treatment in vivo causes cytochrome C release and cardiomyocyte apoptosis, as well as increased mitochondrial efficiency, superoxide dismutase activity, and Bcl-2:Bax ratio. *Cancer Res*. 2002;62(16): 4592-8.
25. Green PS, Leeuwenburgh C. Mitochondrial dysfunction is an early indicator of doxorubicin-induced apoptosis. *Biochim Biophys Acta*. 2002;1588(1): 94-101.
26. Jung K, Reszka R. Mitochondria as subcellular targets for clinically useful anthracyclines. *Adv Drug Deliv Rev*. 2001;49(1-2): 87-105.

27. Rigatos SK, Stathopoulos GP, Dontas I, Perrea-Kotsarelis D, Couris E, Karayannacos PE, et al. Investigation of doxorubicin tissue toxicity: does amifostine provide chemoprotection? An experimental study. *Anticancer Res.* 2002;22(1A):129-34.
28. Dziegiel P, Jethon Z, Suder E, Sopel M, Rabczynski J, Surowiak P, et al. Role of exogenous melatonin in reducing the cardiotoxic effect of daunorubicin and doxorubicin in the rat. *Exp Toxicol Pathol.* 2002;53(6): 433-9.
29. Kalender Y, Yel M, Kalender S. Doxorubicin hepatotoxicity and hepatic free radical metabolism in rats. The effects of vitamin E and catechin. *Toxicology.* 2005;209(1): 39-45.
30. Wallace KB. Doxorubicin-induced cardiac mitochondrionopathy. *Pharmacol Toxicol.* 2003;93(3): 105-15.
31. Luo X, Reichetzer B, Trines J, Benson LN, Lehotay DC. L-carnitine attenuates doxorubicin-induced lipid peroxidation in rats. *Free Radic Biol Med.* 1999;26(9-10): 1158-65.
32. Muller I, Jenner A, Bruchelt G, Niethammer D, Halliwell B. Effect of concentration on the cytotoxic mechanism of doxorubicin--apoptosis and oxidative DNA damage. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;230(2): 254-7.
33. De Graff WG, Myers LS, Jr., Mitchell JB, Hahn SM. Protection against Adriamycin cytotoxicity and inhibition of DNA topoisomerase II activity by 3,4-dihydroxybenzoic acid. *Int J Oncol.* 2003;23(1): 159-63.
34. Le Bot MA, Begue JM, Kernaleguen D, Robert J, Ratanasavanh D, Airiau J, et al. Different cytotoxicity and metabolism of doxorubicin, daunorubicin, epirubicin, esorubicin and idarubicin in cultured human and rat hepatocytes. *Biochem Pharmacol.* 1988;37(20): 3877-87.
35. Kalyanaraman B, Joseph J, Kalivendi S, Wang S, Konorev E, Kotamraju S. Doxorubicin-induced apoptosis: implications in cardiotoxicity. *Mol Cell Biochem.* 2002;234-235(1-2): 119-24.
36. Llesuy SF, Arnaiz SL. Hepatotoxicity of mitoxantrone and doxorubicin. *Toxicology.* 1990;63(2): 187-98.
37. Ascensao A, Magalhaes J, Soares JM, Ferreira R, Neuparth MJ, Marques F, et al. Endurance training limits the functional alterations of rat heart mitochondria submitted to in vitro anoxia-reoxygenation. *Int J Cardiol.* 2006;109(2): 169-78.
38. Conklin KA. Cancer chemotherapy and antioxidants. *J Nutr.* 2004;134(11): 3201-4.
39. Al-Majed AA, Gdo AM, Al-Shabanah OA, Mansour MA. Alpha-lipoic acid ameliorates myocardial toxicity induced by doxorubicin. *Pharmacol Res.* 2002;46(6): 499-503.

40. Goormaghtigh E, Huart P, Praet M, Brasseur R, Ruyschaert JM. Structure of the adriamycin-cardiolipin complex. Role in mitochondrial toxicity. *Biophys Chem.* 1990;35(2-3): 247-57.
41. Valls V, Castelluccio C, Fato R, Genova ML, Bovina C, Saez G, et al. Protective effect of exogenous coenzyme Q against damage by adriamycin in perfused rat liver. *Biochem Mol Biol Int.* 1994;33(4): 633-42.
42. Serrano J, Palmeira CM, Kuehl DW, Wallace KB. Cardiosensitive and cumulative oxidation of mitochondrial DNA following subchronic doxorubicin administration. *Biochim Biophys Acta.* 1999;1411(1): 201-5.
43. Zhou S, Palmeira CM, Wallace KB. Doxorubicin-induced persistent oxidative stress to cardiac myocytes. *Toxicol Lett.* 2001;121(3): 151-7.
44. Black DJ, Livingston RB. Antineoplastic drugs in 1990. A review (Part II). *Drugs.* 1990;39(5): 652-73.
45. Von Hoff DD, Howser D, Lewis BJ, Holcenberg J, Weiss RB, Young RC. Phase I study of ICRF-187 using a daily for 3 days schedule. *Cancer Treat Rep.* 1981;65(3-4): 249-52.
46. Mimnaugh EG, Siddik ZH, Drew R, Sikic BI, Gram TE. The effects of alpha-tocopherol on the toxicity, disposition, and metabolism of adriamycin in mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1979;49(1): 119-26.
47. Kamp O, Sieswerda GT, Visser CA. Comparison of effects on systolic and diastolic left ventricular function of nebivolol versus atenolol in patients with uncomplicated essential hypertension. *Am J Cardiol.* 2003;92(3): 344-8.
48. McNeely W, Goa KL. Nebivolol in the management of essential hypertension: a review. *Drugs.* 1999;57(4): 633-51.
49. Pauwels PJ, Gommeren W, Van Lommen G, Janssen PA, Leysen JE. The receptor binding profile of the new antihypertensive agent nebivolol and its stereoisomers compared with various beta-adrenergic blockers. *Mol Pharmacol.* 1988;34(6): 843-51.
50. Bristow MR, Roden RL, Lowes BD, Gilbert EM, Eichhorn EJ. The role of third-generation beta-blocking agents in chronic heart failure. *Clin Cardiol.* 1998;21(12 Suppl 1): I3-13.
51. Van Bortel LMAB vBM. Exercise tolerance with nebivolol and atenolol. *Cardiovasc Drugs Ther* 1992;6: 239-247.

52. Gao YS, Nagao T, Bond RA, Janssens WJ, Vanhoutte PM. Nebivolol induces endothelium-dependent relaxations of canine coronary arteries. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1991;17(6): 964-9.
53. James OFW WS, Snoeck E. . A study to determine the pharmacokinetics and relative bioavailability of nebivolol in a group of young versus elderly subjects. Janssen Research Foundation, Clinical Research Report, NEB-GBR-9, Vasoxen (Nebivolol hidroklorür) ürün monografi;s76). 1994.
54. Nebivolol. Toxicology, pharmacodynamics and pharmacokinetics. Preclinical Expert Report. 1994; Vasoxen (Nebivolol hidroklorür) ürün monografi: 76.
55. Van Peer A SE, Woestenborghs R, et al. . Clinical pharmacokinetics of nebivolol-a review. . *Drug Invest.* 1991(3): 25-30.
56. Endo A. The discovery and development of HMG-CoA reductase inhibitors. *J Lipid Res.* 1992;33(11): 1569-82.
57. Blumenthal RS. Statins: effective antiatherosclerotic therapy. *Am Heart J.* 2000;139(4): 577-83.
58. Pasternak RC, Smith SC, Jr., Bairey-Merz CN, Grundy SM, Cleeman JI, Lenfant C. ACC/AHA/NHLBI Clinical Advisory on the Use and Safety of Statins. *Circulation.* 2002;106(8): 1024-8.
59. Oto A ÖM. Hiperlipidemi tedavisinde statinler. Türkiye kardioloji seminerleri. 2003.
60. Takemoto M, Liao JK. Pleiotropic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21(11): 1712-9.
61. A. H. The cellular functions of small GTP-binding proteins. *Science.* 1990(249): 635-40.
62. Kwak BR, Mulhaupt F, Mach F. Atherosclerosis: anti-inflammatory and immunomodulatory activities of statins. *Autoimmun Rev.* 2003;2(6): 332-8.
63. Koh KK. Effects of statins on vascular wall: vasomotor function, inflammation, and plaque stability. *Cardiovasc Res.* 2000;47(4): 648-57.
64. Laufs U. Beyond lipid-lowering: effects of statins on endothelial nitric oxide. *Eur J Clin Pharmacol.* 2003;58(11): 719-31.
65. D. S. Oxidative modification of LDL and atherogenesis. *Circulation.* 1997.(95): 1062-71.
66. Jakobisiak M, Golab J. Potential antitumor effects of statins (Review). *Int J Oncol.* 2003;23(4): 1055-69.

67. Serafini M, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the Total Antioxidant Capacity the right tool? *Redox Rep.* 2004;9(3): 145-52.
68. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet.* 1994;344(8924): 721-4.
69. Roggensack AM, Zhang Y, Davidge ST. Evidence for peroxynitrite formation in the vasculature of women with preeclampsia. *Hypertension.* 1999;33(1): 83-9.
70. Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta.* 2001;306(1-2): 1-17.
71. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 1995;41(12 Pt 2): 1819-28.
72. Sangeetha P, Das UN, Koratkar R, Suryaprabha P. Increase in free radical generation and lipid peroxidation following chemotherapy in patients with cancer. *Free Radic Biol Med.* 1990;8(1): 15-9.
73. Crohns M, Liippo K, Erhola M, Kankaanranta H, Moilanen E, Alho H, et al. Concurrent decline of several antioxidants and markers of oxidative stress during combination chemotherapy for small cell lung cancer. *Clin Biochem.* 2009;42(12): 1236-45.
74. Weijl NI, Cleton FJ, Osanto S. Free radicals and antioxidants in chemotherapy-induced toxicity. *Cancer Treat Rev.* 1997;23(4): 209-40.
75. Chen Y, Jungsuwadee P, Vore M, Butterfield DA, St Clair DK. Collateral damage in cancer chemotherapy: oxidative stress in nontargeted tissues. *Mol Interv.* 2007;7(3): 147-56.
76. B H. Reactive oxygen species in living systems :source ,biochemistry ,and role in human disease. *Am J Med* 1991(91): 14-22
77. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest.* 1982;47(5): 412-26.
78. Burton GW, Foster DO, Perly B, Slater TF, Smith IC, Ingold KU. Biological antioxidants. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1985;311(1152): 565-78.
79. İ A. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Konya ,Mimoza Yayınları. 1995.
80. Culotta VC. Superoxide dismutase, oxidative stress, and cell metabolism. *Curr Top Cell Regul.* 2000;36: 117-32.
81. Collinson PO. Troponin T or troponin I or CK-MB (or none?). *Eur Heart J.* 1998;19 Suppl N:N 16-24.
82. Çengel A TY. Miyokard hasarının biyokimyasal belirteçleri. *Türkiye Klinikleri Kardiyoloji* 2004;17.

83. Humana DKTN. Biochemistry and molecular biology of troponin I and T. . In Wu AHB (ed): Cardiac markers Totowa NJ: Humana. 1998: 193–204.
84. Y. A. Miyokard hasarının belirlenmesinde yeni biyokimyasal göstergeler: Troponin T ve troponin I. MN Kardiyoloji. 2001;8(3): 221–7.
85. Smith F W, K., Hadlock D.J. Elektrokardiyografi. . Manual of Canine and Feline Cardiology 23d W B Saunders Philedelphia. 1995: 47-74.
86. Malik M, Batchvarov VN. Measurement, interpretation and clinical potential of QT dispersion. J Am Coll Cardiol. 2000;36(6): 1749-66.
87. Billingham ME, Mason JW, Bristow MR, Daniels JR. Anthracycline cardiomyopathy monitored by morphologic changes. Cancer Treat Rep. 1978;62(6): 865-72.
88. Herman EH ZJ, Chadwick DP, et al. . Age dependence of the cardiac lesions induced by minoxidil in the rat. . Toxicology 1996;110: 71-83.
89. Hiroe M, Ohta Y, Fujita N, Nagata M, Toyozaki T, Kusakabe K, et al. Myocardial uptake of ¹¹¹In monoclonal antimyosin Fab in detecting doxorubicin cardiotoxicity in rats. Morphological and hemodynamic findings. Circulation. 1992;86(6): 1965-72.
90. Bhanumathi P, Saleesh ED, Vasudevan DM. WR-1065 as a chemoprotector in Adriamycin chemotherapy. Cancer Lett. 1994;81(2): 171-5.
91. Carreira RS, Monteiro P, Gon Alves LM, Providencia LA. Carvedilol: just another Beta-blocker or a powerful cardioprotector? Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets. 2006;6(4): 257-66.
92. Waagstein F, Bristow MR, Swedberg K, Camerini F, Fowler MB, Silver MA, et al. Beneficial effects of metoprolol in idiopathic dilated cardiomyopathy. Metoprolol in Dilated Cardiomyopathy (MDC) Trial Study Group. Lancet. 1993;342(8885): 1441-6.
93. Packer M, Bristow MR, Cohn JN, Colucci WS, Fowler MB, Gilbert EM, et al. The effect of carvedilol on morbidity and mortality in patients with chronic heart failure. U.S. Carvedilol Heart Failure Study Group. N Engl J Med. 1996;334(21): 1349-55.
94. Goldhammer E, Maor I, Shnitzer S, Lanir A, Abinader EG. The early anti-oxidant effect of carvedilol predicts the clinical course in congestive heart failure patients. J Cardiovasc Med (Hagerstown). 2007;8(6): 453-6.
95. Kalivendi SV, Kotamraju S, Zhao H, Joseph J, Kalyanaraman B. Doxorubicin-induced apoptosis is associated with increased transcription of endothelial nitric-oxide synthase. Effect of antiapoptotic antioxidants and calcium. J Biol Chem. 2001;276(50): 47266-76.

96. Wawaimuli Arozala KW, Punniyakoti T., Veeraveedua, Meilei Maa,, Rajarajan A. Thandavarayana VS, Kenji Suzukic,, Makoto Kodamad YA. Protective effect of carvedilol on daunorubicin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity in rats. *Toxicology* 2010(274):18–26.
97. Hou XW, Jiang, Y., Wang, L.F., Xu, H.Y., Lin, H.M., He, X.Y., He, J.J., Zhang, S., . Protective role of granulocyte colony-stimulating factor against adriamycin induced cardiac, renal and hepatic toxicities. *Toxicology Lett.* 2009.(187): 40–4.
98. Bolaman Z, Koseoglu MH, Demir S, Atalay H, Akalin N, Hatip I, et al. Effect of amifostine on lipid peroxidation caused by cisplatin in rat kidney. *J Chemother.* 2001;13(3): 337-9.
99. Siveski-Iliskovic N, Hill M, Chow DA, Singal PK. Probucol protects against adriamycin cardiomyopathy without interfering with its antitumor effect. *Circulation.* 1995;91(1): 10-5.
100. Damrot J, Nubel T, Epe B, Roos WP, Kaina B, Fritz G. Lovastatin protects human endothelial cells from the genotoxic and cytotoxic effects of the anticancer drugs doxorubicin and etoposide. *Br J Pharmacol.* 2006;149(8): 988-97. PMID: 2014634.
101. Alexander Riad SB, Dirk Westermann, et al. Pretreatment with Statin Attenuates the Cardiotoxicity of Doxorubicin in Mice. *Cancer Res.* (69): 695-9.
102. Dorr RT. Cytoprotective agents for anthracyclines. *Semin Oncol.* 1996;23(4 Suppl 8): 23-34.
103. Minotti G, Cairo G, Monti E. Role of iron in anthracycline cardiotoxicity: new tunes for an old song? *FASEB J.* 1999;13(2): 199-212.
104. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact.* 2006;160(1): 1-40.
105. Lipshultz SE, Rifai N, Sallan SE, Lipsitz SR, Dalton V, Sacks DB, et al. Predictive value of cardiac troponin T in pediatric patients at risk for myocardial injury. *Circulation.* 1997;96(8): 2641-8.
106. Herman EH, Lipshultz SE, Rifai N, Zhang J, Papoian T, Yu ZX, et al. Use of cardiac troponin T levels as an indicator of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Cancer Res.* 1998;58(2): 195-7.
107. Nousiainen T, Vanninen E, Rantala A, Jantunen E, Hartikainen J. QT dispersion and late potentials during doxorubicin therapy for non-Hodgkin's lymphoma. *J Intern Med.* 1999;245(4): 359-64.
108. Villani F, Monti E, Piccinini F, Favalli L, Dionigi AR, Lanza E. Effect of doxorubicin on calcium binding sites in guinea-pig heart. *Biochem Pharmacol.* 1986;35(7): 1203-4.

109. Danesi R, Del Tacca M, Soldani G. Measurement of the S alpha T segment as the most reliable electrocardiogram parameter for the assessment of adriamycin-induced cardiotoxicity in the rat. *J Pharmacol Methods*. 1986;16(3): 251-9.
110. Yagmurca M, Fadillioglu E, Erdogan H, Ucar M, Sogut S, Irmak MK. Erdosteine prevents doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Pharmacol Res*. 2003;48(4): 377-82.
111. Takemura G FH. Doxorubicin-induced cardiomyopathy from the cardiotoxic mechanisms to management. *Prog Cardiovasc Dis*. 2007;49: 330-52.
112. Jaenke R.S. FLF. Adriamycin-induced myocardial lesions, report of workshop. *Am J Surg Pathol* 1977;1: 55-60.
113. Rossi F, Filippelli W, Russo S, Filippelli A, Berrino L. Cardiotoxicity of doxorubicin: effects of drugs inhibiting the release of vasoactive substances. *Pharmacol Toxicol*. 1994;75(2): 99-107.