

137

T.C.  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

KEMOTERAPİYE BAĞLI MYELOSUPRESYONUN  
ÖNLENMESİNDE: G-CSF, GM-CSF, İNTERFERON  $\alpha$  2A,  
ERİTROPOETİN, KLORAMFENİKOL ve GAMAGLOBULİN  
KULLANIMININ ETKİNLİĞİNİN  
DENEYSEL OLARAK ARAŞTIRILMASI

T.C. İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ



\*02516001\*

tu RC 1997.093

Özcan, Cevher

Kemoterapiye bağlı myelosupresyonun önlenmesi

UZMANLIK TEZİ

DR. CEVHER ÖZCAN

TEZ YÖNETİCİSİ

DOÇ.DR. İSMET AYDOĞDU

MALATYA - 1997

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
Genel Kurul Başkanı

## ÖNSÖZ

Kanser tedavisinde, kemoterapi için yüksek doz sitostatik ilaç kullanımı her geçen gün artmaktadır. Ancak antineoplastik ilaçlar maligniteli hastalarda, ciddi yan etkilere neden olmaktadır. Sitostatik ilaçların, özellikle kemik iliği baskılayıcı etkisi en önemli ikincil morbidite ve mortalite nedenidir. Kemik iliğinin baskılanmasının önlenmesi mortalite ve morbiditeyi azaltabilir ve sitostatik ilaçların daha yüksek dozlarda kullanım avantajı sağlayabilir. Ayrıca günümüzde bu amaçla kullanılmakta olan kan ve kan ürünlerinin transfüzyonuna bağlı komplikasyonlardan da korunma sağlayabilir. Myelosupresyon sorununa çözüm getirebilmek için, hemotopoetik growth faktörlerin ve sitokinlerin kullanımının etkin olabileceği düşünülmüştür. Bu çalışmada 5 farklı ilaç, 8 çalışma grubuna uygulanmış, kontrol grubuyla kıyaslaması yapılmış; sitostatik ilaçlara bağlı kemik iliği baskılanmasının yeterince önlenip önlenemediği araştırılmıştır. Amacımız, myelosupresyonun önlenmesinde ve tedavisinde kan ve kan ürünleri transfüzyonlarından daha etkili ve daha güvenilir seçenekleri sunabilmektir.

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde yardımlarını esirgemeyen; başta tez yöneticim Doç Dr İsmet Aydoğdu'ya teşekkürlerimi sunmak isterim. Ayrıca yardımları için; Yrd Doç Dr Mustafa Birincioğlu, Doç Dr Bülent Mızrak, Yrd Doç Dr Tuncay Özdemir, Yrd Doç Dr Saim Yoloğlu, Yrd Doç Dr İsmail Temel ve Hacer Erdoğan'a teşekkür ederim.

Bununla birlikte; uzmanlık eğitimimi en iyi şekilde alabilmemi sağlayan Sayın Hocaları; Prof Dr Fatih Hilmioğlu, Doç Dr Haluk Şavlı, Doç Dr İsmet Aydoğdu, Yrd Doç Dr Süleyman Büyükberber, Doç Dr Canan Hasanoğlu, Doç Dr Emine Sönmez, Yrd Doç Dr Bülent Yıldırım'a ve şu anda kliniğimizde bulunmayan Prof Dr Mehmet Yücesoy, Doç Dr Haldun Müderrisoğlu, Doç Dr Mehmet Emin Korkmaz, Doç Dr Eftal Yücel'e saygı ve minnettarlığımı sunmak isterim.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖNSÖZ .....	ii
İÇİNDEKİLER .....	iii
ŞEKİL LİSTESİ .....	v
RESİM LİSTESİ .....	v
TABLO LİSTESİ .....	v
GRAFİK LİSTESİ .....	vi
I- GİRİŞ .....	1
II- GENEL BİLGİLER .....	2
II- A: KEMOTERAPİNİN GELİŞİMİ VE SORUNLARI .....	2
II- B: HEMATOPOEZ .....	5
II- C: ÇALIŞMADA KULLANILAN İLAÇ BİLGİLERİ .....	12
II- C1: SİKLOFOSFAMİD .....	12
II- C2: KOLONİ UYARICI FAKTÖRLER .....	14
II- C3: ERİTROPOETİN .....	16
II- C4: İNTERFERON $\alpha$ 2A .....	18
II- C5: GAMMAGLOBULİN .....	19
II- C6: KLORAMFENİKOL .....	20
III- AMAÇ.....	22
IV- GEREÇ VE YÖNTEM .....	24
IV- A: Çalışma Düzenegi .....	24
IV- B: Grup Tanımlaması .....	24
IV- C: Kemik İliği Değerlendirme Parametreleri .....	26
IV- D: Hematolojik Değerlendirme Parametreleri .....	27
IV- E: Biyokimyasal Değerlendirme Parametreleri .....	28
IV- F: İstatistiksel Analizler .....	29

<b>V- BULGULAR</b> .....	29
V- A: KLİNİK İZLEM SONUÇLARI.....	29
VI- B: PERİFERİK KAN ÖLÇÜMLERİ SONUÇLARI .....	32
V- B1: Grup 1: Kontrol Grubu Sonuçları .....	32
V- B2: Grup 2: G- CSF +7 Gün Grubu Sonuçları .....	37
V- B3: Grup 3: G- CSF -7 Gün Grubu Sonuçları .....	41
V- B4: Grup 4: GM- CSF +7 Gün Grubu Sonuçları .....	45
V- B5: Grup 5: GM- CSF -7 Gün Grubu Sonuçları .....	49
V- B6: Grup 6: İnterferon $\alpha$ 2a Grubu Sonuçları .....	60
V- B7: Grup 7: Eritropoetin Grubu Sonuçları .....	63
V- B8: Grup 8: Kloramfenikol Grubu Sonuçları .....	67
V- B9: Grup 9: Gammaglobulin Grubu Sonuçları .....	70
V- C: Kemik İliği Değerlendirme Sonuçları .....	80
VI- D: Biyokimyasal Değerlendirme Sonuçları .....	86
<b>VI- TARTIŞMA</b> .....	90
VI- A: Kontrol Grubu .....	91
VI- B: Growth Faktör Grupları .....	92
VI- C: İnterferon $\alpha$ 2a Grubu .....	97
VI- D: Eritropoetin Grubu .....	99
VI- E: Kloramfenikol Grubu .....	101
VI F: Gammaglobulin Grubu .....	103
<b>VII- ÖZET</b> .....	106
<b>VIII- KAYNAKLAR</b> .....	108

## ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1: Sistostotik ilaç ve hücre ilişkisi .....	3
Şekil 2: Hemotopoez, hemapoetik growth faktörler ve sitokinler .....	6
Şekil 3: Kemoterapide growth faktör kullanımı .....	11

## RESİM LİSTESİ

Resim 1. Kemoterapi sonrası PY değişiklikleri .....	35
Resim 2: Periferik yaymada nötropeninin izlenmesi .....	36
Resim 3: Sağlıklı rattaki kemik iliği biyopsisi .....	81
Resim 4: Sağlıklı rattaki kemik iliği biyopsisi retikülin oranı .....	81
Resim 5: Sağlıklı rattaki hemopoetik öncü hücreler .....	82
Resim 6: Kontrol grubu kemik iliği biyopsisi .....	82
Resim 7: GM-CSF -7 grubundaki kemik iliği biyopsisi .....	83
Resim 8: İnterferon $\alpha$ 2a grubu kemik iliği aspirasyonu .....	84
Resim 9: Kloramfenikol grubunda kemik iliği biyopsisi .....	85
Resim 10: Gamaglobulin grubunda kemik iliği aspirasyonu .....	85

## TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Kontrol grubu hematolojik parametrelerin sonuçları ve istatistiksel analizleri.....	33
Tablo 2: G-CSF +7 gün grubu hematolojik parametrelerin sonuçları ve istatistiksel analizleri.....	38
Tablo 3: G-CSF -7 gün grubu hematolojik parametrelerin sonuçları ve istatistiksel analizleri.....	42
Tablo 4: GM-CSF -7 gün grubu hematolojik parametrelerin sonuçları ve istatistiksel analizleri.....	46

Tablo 5: GM-CSF +7 gün grubu hematolojik parametrelerin sonuçları ve istatistiksel analizleri.....	50
Tablo 6: İnterferon $\alpha$ 2a grubu hematolojik parametrelerin sonuçları ve p değerleri .....	61
Tablo 7: Eritropoetin grubu hematolojik parametrelerin sonuçları ve p değerleri .....	64
Tablo 8: Kloramfenikol grubu hematolojik parametrelerin sonuçları ve p değerleri .....	68
Tablo 9: Gammaglobulin grubu hematolojik parametrelerin sonuçları ve p değerleri .....	71

## GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1: Grup 1-2-3-4-5 Hemogloblin değerleri izlemi .....	54
Grafik 2: Grup 1-2-3-4-5 Hemotokrit değerleri izlemi .....	55
Grafik 3: Grup 1-2-3-4-5 MCV değerleri izlemi .....	56
Grafik 4: Grup 1-2-3-4-5 Eritrosit değerleri izlemi .....	57
Grafik 5: Grup 1-2-3-4-5 Platelet değerleri izlemi .....	58
Grafik 6: Grup 1-2-3-4-5 Beyaz küre değerleri izlemi .....	59
Grafik 7: Grup 1-6-7-8-9 Hemogloblin değerleri izlemi .....	74
Grafik 8: Grup 1-2-3-4-5 Hemotokrit değerleri izlemi .....	75
Grafik 9: Grup 1-2-3-4-5 Eritrosit değerleri izlemi .....	76
Grafik 10: Grup 1-2-3-4-5 MCV değerleri izlemi .....	77
Grafik 11: Grup 1-2-3-4-5 Platelet değerleri izlemi .....	78
Grafik 12: Grup 1-2-3-4-5 Beyaz küre değerleri izlemi .....	79

## I- GİRİŞ

Halen bütün dünyada erişkin ölüm nedenleri arasında kalp hastalıklarından sonra ikinci sırada yer alan kanserler, Hipokrattan günümüze kadar tıbbın en büyük ilgi odağı olmuştur. Uzun yıllar gerek etyolojisinin belirlenmesinde, gerekse tedavisi için çok büyük gayretler ve maddi harcamalar yapılmaktadır.

1995 yılında yapılan epidemiyolojik çalışmada, Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda yeni tespit edilen kanser vaka sayısının 1,25 milyon ve kansere bağlı ölümlerin ise 547.000 olduğu, bütün ölümlerin yaklaşık %21'ini oluşturduğu tespit edilmiştir ve 167/100000 insidans oranıdır(1). Ülkemizde Sağlık Bakanlığınca derlenen bilgilerde; yıllık 20000 dolayında yeni kaydedilmiş kanser olgusunun varlığı ve insidansının 49-69/100000 olduğu ve ölümlerin %10,1 sorumlusu kabul edilmiştir. Ancak sağlıklı veri elde edilememesinden dolayı bu verilerin gerçeği tam olarak yansıtmadığı düşünülmektedir (2).

Willis tümörü, "normal dokuların gelişmesini aşan, normal dokulara uyum göstermeyen ve kendisini meydana getiren uyarının yok olması durumunda bile aşırı seyrini sürdüren doku kitlesi" olarak tanımlanmıştır(3). Kanser, tek bir ana hücreden köken olarak çoğalan, çevrenin normal kimyasal ve fiziksel uyanılardan bağımsız olarak aşırı büyüeyebilen, normalin dışında bir hücre farklılaşması gösteren ve vücudun diğer bölgelerine yayılabilen dokunun varlığıdır. Hemen her dokudan kaynaklanabilir, anormal büyüeyebilir ve biyokimyasal olarak aktif zararlı moleküller üretebilir.

Kanser tedavisi hızlı bir gelişme göstermektedir. 1945 yılında sadece bir ilaç bu amaçla kullanılırken, günümüzde 50'den fazla kemoterapötik ilacın tek veya kombine kullanılmaları söz konusudur. Tümörün tek hücre kalmaksızın yok edilmesi, ideal bir tedavi yaklaşımı olup; bunun gerçekleştirilmesinde bazı engeller vardır. Sitostatik ilaçların etkinliğini kısıtlayan faktörlerin başında yüksek dozda kullanılamaması gelmektedir. Sitostatik ilacın dozu ve kullanım süresi ile tümoral yapının küçülmesi arasında ilişki olmasına rağmen; normal doku toksisitesi, özellikle kemik iliğinin(Kİ) baskılanması sıktır. Antineoplastik ilaçların hemen çoğunun dozunun ve kullanımının kısıtlamasındaki temel neden myelotoksisitedir.

## II- GENEL BİLGİLER

### II-A: KEMOTERAPİNİN GELİŞİMİ VE SORUNLARI

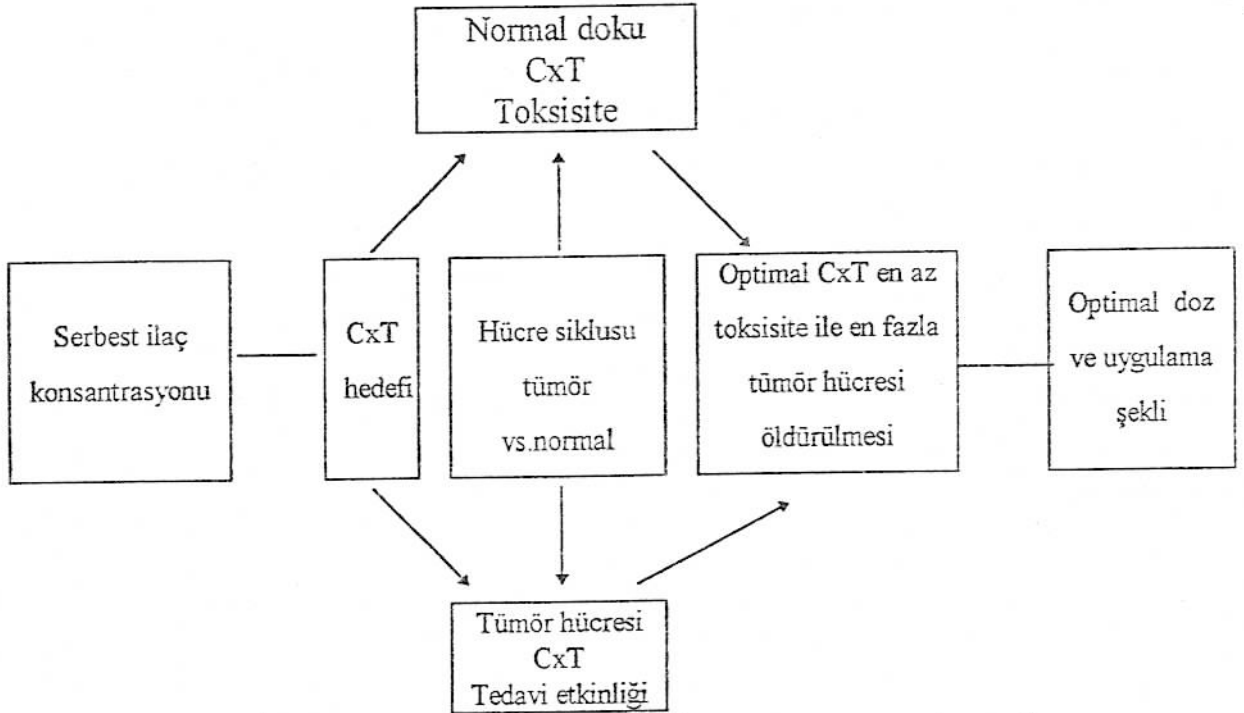
1943 yılında; Nitrojen Mustard ile askerlerin lenfadenopatilerinin küçüldüğü tesadüfen görülmesi üzerine, Meklorethamin Hidroklorid ilk olarak Hodgkin hastalığının tedavisinde kullanılmıştır(4). Ancak ilaç toksisitesine bağlı ölümler fazla tespit edilmiştir Antineoplastik ilaçlar; cerrahi ve radyoterapi ile tedavinin yetersiz kaldığı durumlarda, semptomların azaltılması, yaşam süresinin uzatılması ve yaşam kalitesinin yükseltilmesi için kullanılmaktadır. Kemoterapi uygulanım oranı her geçen gün artmaktadır,1980'li yıllarda metastatik kanserli hastaların yalnızca 10.000 tanesi kemoterapi ile kür şansı olurken, 1990'lı yıllarda bu oran 30.000'nin üstüne çıkmıştır ve hastaların kemoterapi ile yaşam süresi uzatılmıştır.

Kemoterapi ilaçları, alkilleyici ajanlar ve antimetabolitler olmak üzere iki ana gruptan oluşur. Nitrojen mustard, etilenamin bileşikleri ve alkilsülfonad'lar alkilleyici ajanların ana elemanlarıdır. Sisplatin ve dekarbazinde bu gruptadır. Antimetabolitler ise folik asit, pürin ve pirimidin antagonistleridir. Vinka alkaloidleri ve padofilotoksin türevleri (Etoposid) gibi mitotik aktivite inhibitörleri, Streptozosin gibi antibiotikler nükleik asitler üzerinden etki ederek antineoplastik amaçlı kullanılırlar. Sınıflandırılmayan grup içindeki sitostatikler ise; aminoglutetimid, hidroksiürea, mitotan, prokarbazin, razoksan, tamoksifen'dir (5). Malignite tedavisinde immünolojik yaklaşım düşünülmüş ve Muromonab- $CO_3$  gibi monoklonal antikolar ve İnterlökinlerin(IL) aktivitesini etkileyici ilaçlar araştırılmıştır. Glukokortikoidler de kemoterapide kullanılmaktadır (5).

Malign tümörler lokalize olduklarında cerrahi ve radyoterapi ile kontrol altına alınabilirlerse de, mikrometastazlar kür şansını azaltır. O nedenle sitostatiklerle yapılan kemoterapi metastazı yok edici yaklaşım olarak algılanır. Sistemik kemoterapinin kökleri Paul Ehrlich'e kadar uzanır (6). 1900'lü yılların başında George Clowes' un yol göstericiliği ile rodentlerde tümör modeli tanımlıyarak, bu maddeler üzerinde çeşitli sistemik ilaç denemeleri yapılmıştır (7).

1960'lı yılların başında Skipper ve arkadaşları Rodent lösemi L1210 modelini kullanarak kemoterapinin genel prensiplerinin oluşturdukları (8). Burada esas amaç: hastanın normal hücrelerine zarar vermeksizin tümör hücrelerinin büyüme ve çoğalmasını durdurmak ve yok etmektir. Ancak, insan normal hücresi ile malign hücreler arasında kalitatif olarak fazla fark olmaması, mevcut farkın daha ziyade kantitatif yönden olması dolayısıyla antineoplastik ilaçların kanser hücresine karşı seçiciliği istenilenden daha az düzeydedir. Bu nedenle antineoplastikler vücudun hızla çoğalma özelliği olan normal hücrelerini, örneğin: testisin germinativ ve gastrointestinal mukoza epitelini, hemopoetik hücreleri, kıl folikül hücrelerini ve fetus hücrelerini yok edebilirler. Çoğalmanın az olduğu; Karaciğer(KC), böbrek, sinir dokusu hücrelerine zarar verebilirler, immunosupresyon oluşturabilirler (9).

Kanser tedavisinde en önemli kural olan ilaç-hücre ilişkisi, Skipper tarafından şu şekilde şematize edilmiştir (Şekil 1) Antineoplastiğe maruz kalan dokudaki toksisiteyi değerlendirmek için; maruz kalınan konsantrasyon ile maruz kalma süresi arasındaki ilişkiden faydalanılmıştır (CXT). Toksikite ve tümör dokusunda küçülme ile bu iki parametre arasında lineer ilişki saptanmıştır (10).



**Şekil 1:** İlaç - hücre ilişkisi. Plazma konsantrasyonuna karşı ilaca maruz kalma zamanı (CxT).

Antineoplastik ilaçların mutajenik, teratojenik, karsinojenik etkileri vardır. İstenilen ideal bir antineoplastik ilaç üretilmemiştir. Kullanılan sitostatiğin dozu ve kullanım süresi ile tümoral yapının küçülmesi arasında doğru orantı olmasına rağmen, normal dokulara vereceği zarar yaşamla bağdaşmadığı için istenilen dozlarda kullanılamamaktadır. Bu durumu düzeltmek için çeşitli yaklaşımlar düşünülmüş yüksek doz kemoterapi ile Kİ ve periferik kök hücre transplantasyonu birlikte uygulanmıştır. Ancak bu fiyat-etkinlik açısından yeterince elverişli bulunamamıştır ve kısıtlı olarak uygulanmaktadır. Yüksek doz antineoplastik ilaçla beraber onun antidotunun verilmesi, örneğin methotreksat ile folinik asit uygulaması; veya tümörün yerleştiği bölgeye lokal olarak yüksek doz sitostatik uygulaması: KC tümörlerinde hepatik arter perfüzyonu, intraperitoneal, intraplevral, intralezyonal sitostatik ilaç enjeksiyonları yapılabilmektedir (5, 10).

Sitostatiklere bağlı tedavi etkinliğinin artırılamamasının en önemli nedeni, normal doku toksisitesidir. Başta Kİ baskılanması gelmektedir. Özellikle kemoterapi sonrası erken dönem yan etki olarak myelotoksisite görülmektedir. Hormonlar, vinkristin, bleomisin, asparaginaz ve sisplatin hariç, günümüzde antineoplastik ilaçların hemen çoğunun dozunun kısıtlanmasındaki temel neden Kİ toksisitesidir.

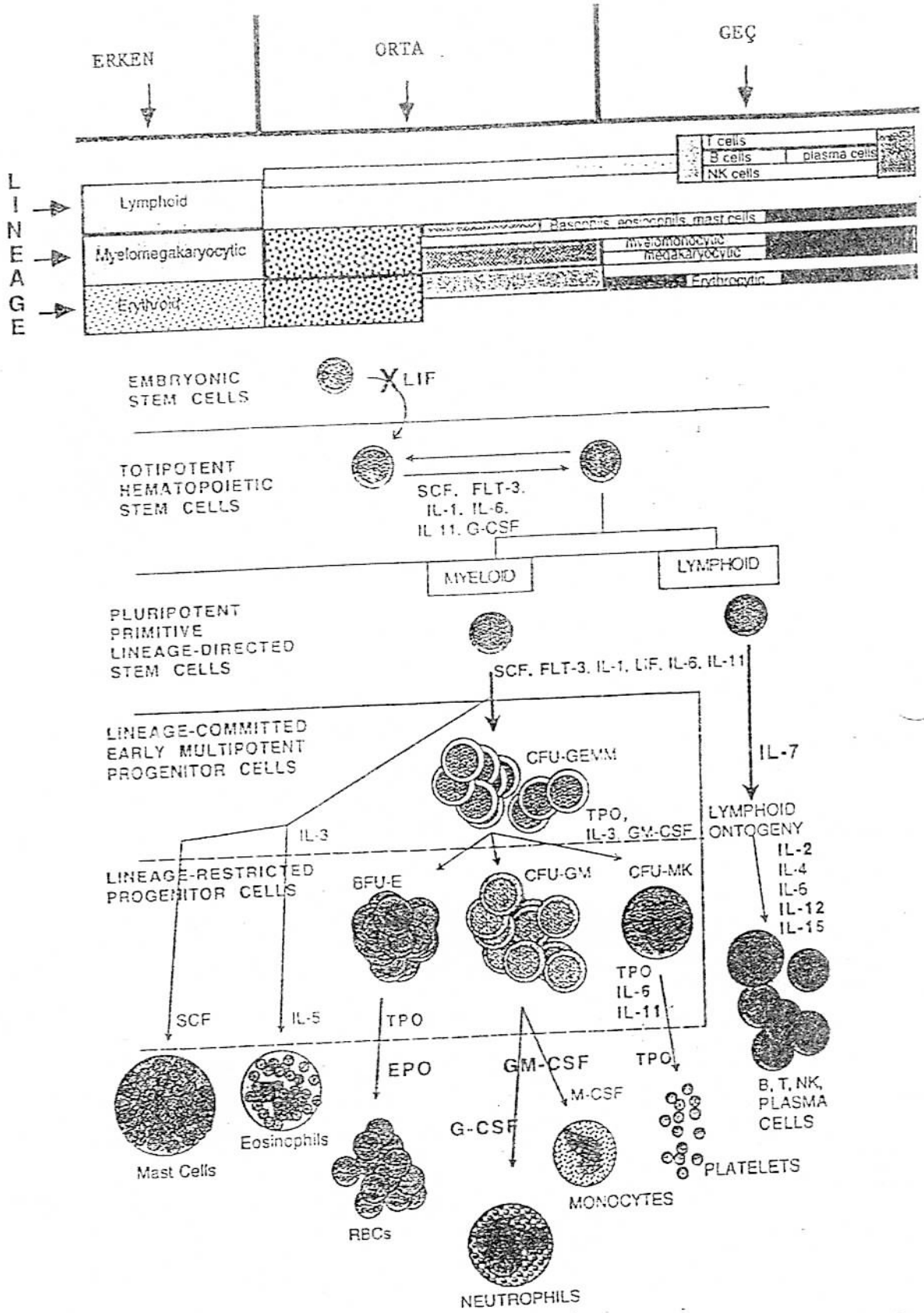
Sitostatikler; Kİ'de lökosit, trombosit ve eritrosit öncülerinde ve olgun hücrelerinde ileri derecede toksiktir. Eritrosit turnover hızı diğerlerine oranla daha yavaş olduğu için; anemi, geç ve tehlikeli olmayan bir komplikasyondur. Fakat, nötropeni ve trombositopeni; kemoterapi sonrası erken ve tehlikeli, hayatı tehdit edici yan etki olarak karşımıza çıkar ve kemoterapiye ikincil morbidite ve mortalite nedenidir. Nötropeni ve trombositopeniye ait komplikasyonların önlenmesi amacıyla, kemoterapi sırasında Kİ'ni koruyabilmek için, kemik iliği ve periferik kök hücre transplantasyonu işlemlerinin yanı sıra çeşitli hemopoetik growth faktörlerin ve hemopoetik sitokinlerin kullanılabilirliği araştırılmıştır. Bu konu ileride ayrıntılı olarak anlatılacaktır. Trombositopeni ve nötropenin, palyatif tedavisinde hücre ayırma cihazlarında özel setlerle hazırlanan trombosit süspansiyonları sıklıkla, lökosit süspansiyonları ise daha nadir olarak kullanılmaktadır. Ayrıca anemi için eritrosit süspansiyonu transfüzyonu yapılmaktadır. Bu uygulamalar kan ve kan ürünleri tedavisinin riskleri ile kanserli hastaya yeni bir komplikasyon yükü getirmektedir.

## II-B: HEMATOPOEZ

Hematopoez, kanın şekilli hücrelerinin oluşum sürecini ifade eder, hemopoetik büyüme faktörleri ve sitokinlerin etkisi ile düzenlenir. Myelosupresyon ise hematopoezin inhibisyonudur. Hematopoez moleküler biyolojisinin anlaşılması, aslında son iki dekatta olmuştur, özellikle hematopoetik growth faktörlerin ve sitokinlerin kanın üretiminin düzenleyici glikoproteinleri olduğunun tespit edilmesi ile. Bunlar hücre yaşam süresinin kontrolü, büyümesi, gelişmesi, farklılaşması hatta, olgun kan hücrelerinin fonksiyonel kapasitesinin artırılmasını sağlayan düzenleyici moleküllerdir (11).

20. yüzyılın başından itibaren hematopoez araştırmacılar için ilgi çekici olmuş, *invivo* hayvan çalışmaları, hücre alt tiplerinin klonlanma ile ayrıştırılması, hücre içi olayların büyüme, farklılaşma ve gelişme üzerindeki etkileri, kan hücreleri öncülleri anlaşılmaya çalışılmıştır. Hücre modelleri oluşturulmuştur. 1906 yılında ilk kez Carnot ve arkadaşları anemik tavşandan kan alıp, eritropezi uyarmak için, sağlıklı tavşan kanına enjekte etmiş ve sağlıklı tavşanda eritrosit üretimini aşırı uyarılmasını sağlamıştır (12). Böylece eritropoetin ilk bulunan hemopoetik büyüme faktörü oldu. 1965, 1966 yıllarında Isfluznik ve Sachs İsrail'den, Brodley ve Metcalf Avusturalya'dan kan elemanların üretimini düzenleyicisi sitokinlerin laboratuvar incelemelerini yapıp, varlığını göstermişlerdir (13,14).

Bu faktörlerden başka, kök hecrenin çoğalma ve farklılaşmasında, Kİ mikroçevresi ve stromal hücrelerinin de önemli rolleri vardır. *Invitro* hücre kültürlerindeki çalışmalar ve hayvan modellerindeki incelemelerde tüm öncü hücrelerin, çeşitli hücre tiplerine farklılaşması ve çoğalması, hemopoetik büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin her bir hücre grubuna spesifik olan uyarıları ile olduğu gösterilmiştir. Bu growth faktörler öncü hücrelerin spesifik membran resptörlerini uyararak aktivasyonlarını, farklılaşmasını ve çoğalmasını temin eder (15). Şekil 2' de bu etkileşim açık olarak gösterilmektedir (12).



Şekil 2 : Hematopoezde rol alan growth faktörler ve sitokinlerin etki aşamaları sunulmaktadır.

Embriyonik kök hücre, totipotent hemopoetik ana hücreye dönüşür. Totipotent ana hücre pluripotent primitif ana hücreye, dolayısıyla da myeloid ve lenfoid seri ayrımın başladığı aşamaya dönüşür. Lenfoid seri bu aşamadan sonra IL 7 etkisinde B ve T lenfositleri, doğal öldürücü(NK) hücreleri ve plasma hücrelerini oluşturur. Myeloid seri ise pluripotent ana hücre sonrası, erken multipotent öncü hücreleri oluşturur. Ardından CFU - GEMM grubuna dönüşürler. Koloni forming unit GEMM ise blast forming unit (BFU-E) üzerinden eritrositer seriyi oluşturur, CFU-MK üzerinde trombositleri yapar. Mast hücreleri ve eozinofiller ise pluripotent ana hücre aşamasında myeloid seri ayrışması ile farklı uyarılar neticesinde hücre CFU-GEMM'e ayrışmadan kendi klonlarını oluştururlar. Şekil 2'de bu farklılaşmalar açık olarak sunulmuştur (12).

Hemopoetik hücre hiyerarşisi ve farklılaşmanın başlangıç uyarısının oluşumu halen bilinmemektedir. Ancak bu güç durumun belirlenen gerçekleri ise, sitokinlerin ve growth faktörlerin bu uyarılardan sonra aktif rol aldığıdır. G-CSF, GM-CSF, M-CSF, EPO, TPO, IL-1-3-6-11, SCF, en iyi bilinen, sitokinler ve growth faktörlerdir. Bu sitokinler hemen her aşamada farklı hücre gruplarının stimülasyonu için kullanılırlar, bazı sitokinler bazı hücreler için spesifiktir (Ör: TPO) (11,16). Bu moleküllerin etki yerleri Şekil 2'de sunulmaktadır. Sitokinler hemopoetik aktiviteleri olan çok fonksiyonel moleküllerdir. En erken fazlardan, en geç evrelere kadar, lenfoid ve myeloid serideki hücrelerde etkindirler. Günümüzde hemopoetik aktivitesi izlenen 25'den fazla sitokin ayrıştırılmıştır. Kök hücre faktörünün (SCF); multipotent erken hemopoetik öncü hücrelerin yaşam sürelerinin belirlenmesi, perifere çıkışının artırılması ve hematopoezin yeniden yapılandırılmasında matür mast hücrelerinin uyarılmasında rol alır (17, 18). GM-CSF, G-CSF, EPO hakkındaki bilgiler ileride sunulacaktır. Bu bölümde diğer sitokinlerden kısaca bahsedilecektir.

1950'li yılların sonunda araştırmacılar platelet üretimini düzenleyen, ancak yapısını tam olarak açıklayamadıkları bir faktörün olduğunu bulmuştur ve **trombopoietin** adını vermişlerdir (19,20). Daha sonra trombositler için uyarıcı olduğu kabul edilen IL1-3-6-11 bulunmuştur. Trombosit üretimindeki en kritik düzenleyicinin ne olduğu halen net değildir, yeni çalışmalarda c-mpl proto-oncogen reseptörleri üzerinde trombopoietinin etkin olduğu gösterilmiştir (21, 22, 23).

Trombopoezin direk kontrolünden TPO'nun sorumlu olduğu klinik çalışmalarla gösterilmiş olup, diğer sitokinlerden IL 3-6 bu gelişime yardım etmektedir. C-mpl proto-onkogeni myeloproliferatif lösemi virüsünün aktivitesini kazanmasını sağlayan maddenin normal bir analogudur ve c-mpl'nin megakaryopozle güçlü bir ilişkisinin olduğu hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (21). Eritropoz ve lökopoz etkilenmeden c-mpl ekspresyonu bloke edildiğinde megakaryopoz spesifik olarak bloke edilir. C-mpl geninde eksiklik olan farelerde kronik trombositopeni bulunmuş ve periferik kandaki trombositlerde %85 azalma saptanmıştır (24). Trombopoetin trombositopenilerin tedavisinde kullanımı konusunda yeterli klinik çalışma yoktur. Trombopoetin rekombinant tekniğinde üretilmiş ve halen çok pahalı olup, kemoterapi sonucu trombositopenide kullanımındaki etkinliği değerlendirilmektedir.

**IL-3:** 133 aminoasit(aa) içeren 14.000 dalton ağırlığında bir proteindir. 1980'li yıllarda keşfedilen ve başlangıçta multi-CSF olarak bilinen IL 3: granülositozda, monositozda, eritropozde, megakaryopozde olmak üzere hemen tüm hematopoetik klonda yer alır. 1981'de ilk olarak hematopoetik büyüme etkili sitokin olarak keşfedildi. 1986'da ise 5. kromozom uzun kolunda lokalize olduğu bulundu. GM-CSF genine çok yakın bir genetik lokusta yerleşmiştir(25). Kandaki konsantrasyonu tespit edilemez. Klinik çalışmalarda IL-3'e bağlı olarak orta derecede artmış, lökositoz, trombositoz, daha nadir olarak eritrositoz bulunmuştur(26). Günümüzde kemoterapiye bağlı myelosupresyonun önlenmesi için IL-3 kullanımı konusunda halen araştırmalar sürmektedir (27, 28).

**IL-6:** 7.kromozom kısa kolunda lokalizedir. 18.000 dalton ağırlığında ve 212 aa içeren bir proteindir. Dolaşımdaki düzeyi sağlıklı ve hastalıklı kişilerde tespit edilebilir düzeydedir. Myeloma hücresinde otokrin olarak üretilir ve myeloma hücre artışını sağlar. Myeloma tedavisinde IL-6 blokajı geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bir *in vivo* çalışmada eksojen IL-6 verildiğinde antitümör aktivitesi gösterilmiştir (29). Deneysel ve klinik çalışmalarda IL-6'nın megakaryopoezi uyardığı ve dolayısıyla platelet sayımını artırdığı gösterilmiştir. Myelosupresif durumlarda platelet sayım iyileşmesini hızlandırdığı yeni prospektif çalışmalarda gösterilmeye çalışılmaktadır (30, 31).

IL-11; Kİ stomal hücre'den klonlanan bir moleküldür, IL-6'ya yapısal olarak benzer, çok erken aşamalardan itibaren hematopoezi, özellikle megakaryositopoezi uyarmaktadır. Preklinik çalışmalarda myelosupresyon modellerinde hemopoetik iyileşmeyi hızlandırdığı gösterilmiştir. Kemoterapi ve Kİ transplantasyonu halindeki myelosupresyonun tedavisindeki klinik uygulama çalışmaları devam etmektedir, ciddi yan etkiye rastlanmamıştır (32).

IL-1: 1940'larda tanımlanan ve endojen pirojen olarak bilinen humoral düzenleyicidir. IL-1 $\alpha$  ve  $\beta$  olup her ikisinde aynı reseptörü kullanırlar, sağlıklı insanda nadiren kanda tesbit edilir; ancak enfeksiyon ve inflamasyon gibi stres hallerinde kan düzeyi artar. Potansiyel olarak pluripotent ana hücre havuzunu etkiler. IL-1 verilenlerde periferik kanda platelet sayısının arttığı gösterilmiştir (33, 34).

C-kit ve fit-3 ligand hemapoetik düzenleyicidir. Hemopoetik sitokinlerin hücrelerde yapışmasını ve aktivite kazanmalarını sağlayan transmembran proteinleridir. Oldukça erken hematopoez düzeyinden itibaren etkilidirler. Halen *invivo*, *invitro* çalışmaları sürmekte olup, klinik çalışmaya rastlanmamıştır (35).

Bunlar dışında son yıllardan hematopoetik sitokinlerin immun düzenleyicisi olarak ikincil etkili sitokinlerde tanımlanmıştır. M-CSF, IL2, IL4, IL5, IL7, IL8, IL9, IL10, IL11, IL12, IL13, IL15'dir. Bunlar daha çok lenfositler üzerinde etkileri ile birinci derecede aktif olan sitokinlerin yapımını sağlarlar. Halen gerçek etkileri için yeterli klinik çalışma yapılamamıştır (12).

Aynı zamanda hematopoezde negatif düzenleyicilerde rol alır ve bunlar öncü hücrelerin olgunlaşmasını ve perifere şekilli hücre çıkışını önlerler. Amaçlarının hematopoetik hiyerarşide erken dönemdeki hücrelerin korumasıdır. Ancak bu konu tam olarak anlaşılammıştır. Negatif düzenleyicilerin TNF, transforming growth faktör beta (TGF-beta), makrofaj inflamatuvar protein 1 $\alpha$  olduğu kabul edilir (36,37).

Kanser tedavisinde hematopoetik sitokinlerin optimal kullanımı konusunda bir çok karşıt görüş vardır. Kemoterapiye bağlı myelosupresyonun önlenmesi veya tedavisi için bu sitokinlerin kullanımı yeterince açık değildir. Günümüzde sadece GM-CSF ve G-CSF bu amaçla kullanılmaktadır. Kanser tedavisinde doza bağımlı kemoterapinin önemi arttıkça yüksek doz sitostatik kullanma eğilimi doğmuş, buda

myelosupresyonu önemli yan etki olarak öne çıkarmıştır. Bu aşamada hemopoetik sitokinlerin kullanımı düşüncesi devreye girmiştir. Ancak cevaplanamamış sorular bulunmaktadır. Bu sitokinler teknolojik olarak elde edilmesi oldukça pahalıdır. Myelosupresyonda kullanımı kemoterapiye önemli bir ekonomik yük getirmektedir. Şu anda en popüler kullanımı olan CSF'ler nötropeni periyodunu kısaltması nedeniyle, hastanede kalış süresini azaltmaktadır. Ancak kullanımı için mutlak nötropeni hali gibi belirli kriterleri vardır. Profilaktik kullanımı netleşmemiştir.

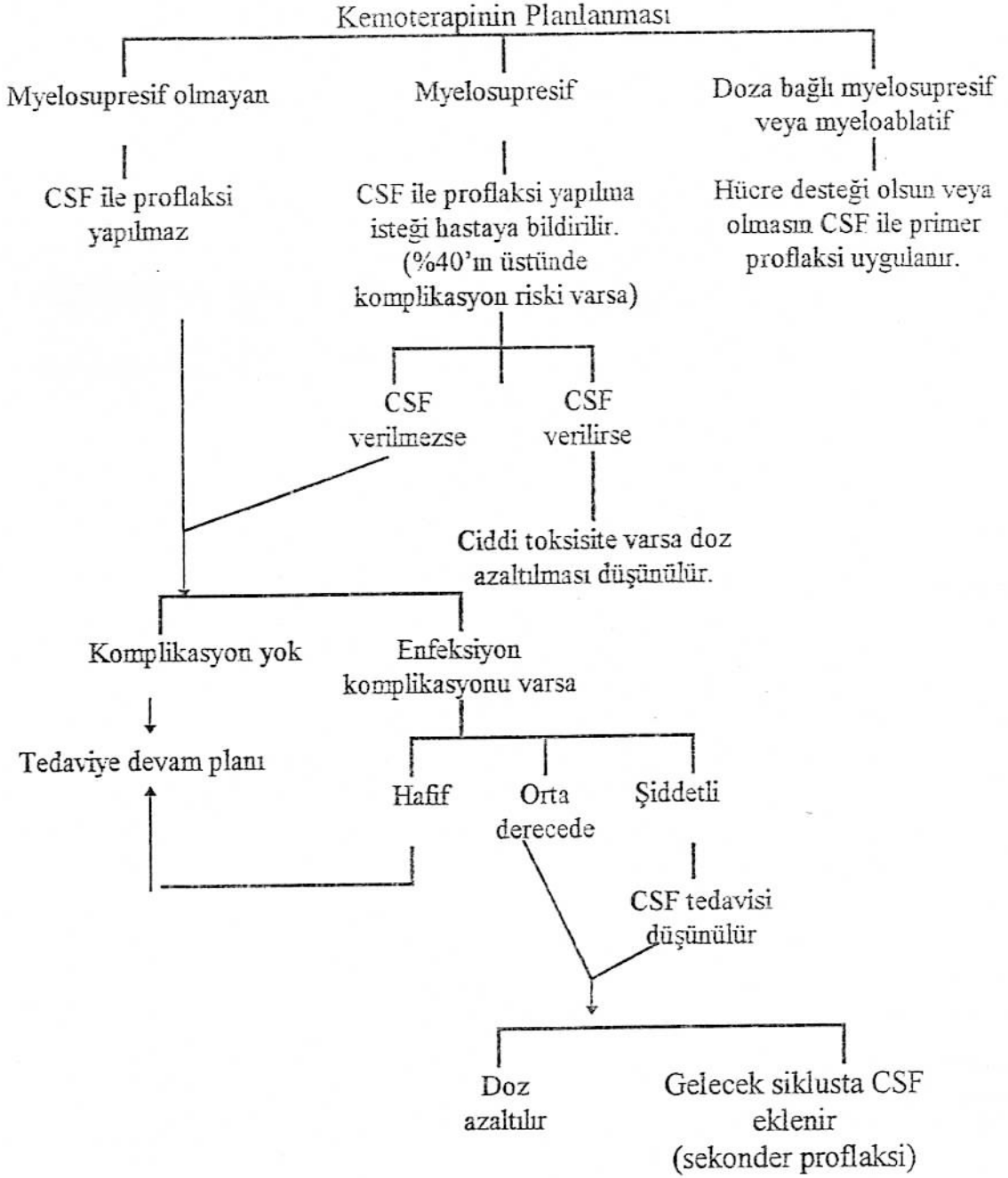
Sitotoksik kemoterapide destekleyici olarak hemopoetik sitokinlerin doğru kullanımı tam olarak tanımlanamamıştır. Koloni uyarıcı faktörlerin kullanımında geliştirilmiş bir algoritma Şekil 3'de izlenmektedir (12) ve Amerikan Klinik Onkoloji Derneği'nin bu konuda geliştirmiş olduğu kılavuzdur (38).

Sitokinlerin hemapoetik hücrenin gen tedavisi ile uyarımında kullanılabilirliği tartışılmaktadır. Hemopoetik sitokinlerin kesin immünomodulator etkilerinin olması antitümör aşlarının geliştirilmesinde, farmakolojik dozlarda kullanılıp kansere karşı immün-reaktiviteyi sağlamada, kök hücre eksikliğinde dışardan verilen öncü hücrelerin çoğalmasını uyarmada kullanılabilirliğini düşünülmektedir.

Sonuç olarak; hematolojik malignitelerin tedavisinde ve önlenmesinde çeşitli yollardan etki eden sitokinler farmakolojik ajan olarak kullanılabilmesi gelecekte muhtemeldir. Ancak günümüzde en aktif kullanımı düşünülen saha kuşkusuz yüksek doz kemoterapi ve Kİ transplantasyonu ile oluşan myelosupresif durumun önlenmesi ve tedavisinde bu sitokinlerin etkin rol alabilmesidir. Yani sitotoksik kanser tedavisi alan hastaların destekleyici tedavisinde kullanımındır.

Bütün bunların anlatılma nedeni ise çalışmamızda myelosupresyonun önlenmesi konusunda daha ekonomik alternatifler sunabilmek için kullandığımız ilaçların, bu sitokinler üzerinden etkili olmuş olabileceğinin düşünülmesidir. Ayrıca bu sitokinlerin klinik kullanımlarının olmadığını yeterli olmadığını vurgulamaktır.

Şekil 3: Hemopoetik sitokinlerin kullanımında kılavuz olabilecek algoritma.



## II-C: ÇALIŞMADA KULLANILAN İLAÇLARIN GENEL BİLGİLERİ

### II-C1: SİKLOFOSFAMİD

Alkilleyici ilaçlar içinde en fazla kullanılan sitostatiklerden birisidir. DNA çift zincirine birden fazla noktaya kovalent bağla bağlanarak, DNA molekülünü alkiler. DNA çift zincirinde, zincirler arasında ve aynı zincir içinde alkil gruplarından oluşan köprüler yapar. Protein ve enzimleride alkiler, hücrenin solunumunu ve ara metabolizmalarını da bozar. Hücre siklusu dönemlerinden birine özgün değildir. Ancak hücreler G1 ve S döneminde daha fazla duyarlıdır. Lenfoma myeloma ve çeşitli solid tümörlerde, immunosupresif etkisi dolayısıyla otoimmün hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (5).

Oral veya parenteral uygulanabilir, gastrointestinal sistemden %75'den daha fazla biyoyararlanımı vardır. Kan beyin bariyerini aşar, dokulara geniş olarak yayılır. KC'deki oksidaz sisteminin karmaşık fonksiyonları ile aktive hale gelir. Başlangıç metabolitleri; 4-hidroksisiklofosfamid ve onun asiklik tautomeridir. Bu metabolit aldofosfamide dönüşür. Aldofosfomidde enzimatik olmayan bir değişime uğrar, aktif fosforamid mustarda dönüşür. Sonra akrolein üretilir, bu mesane toksisitesinden sorumludur. Siklofosfomid başlıca idrar yoluyla atılır, metabolitleri ve değişmemiş ilaç formu olarak (39, 40, 41). Sağlam deriden kolaylıkla emilebilir (42)

Siklofosfamid sıklıkla diğer sitostatik ajanlarda kombine edilerek malign hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Burkitt lenfoma, multiple Myeloma, mikosis fungoides gastrosyonel trofoblastik tümör, Meme-beyin-serviks-endometrium Akciğer-prostat-over kanserlerinde çocukluk çağının nöroblastoma, Willm's tümörü ve sarkoma gibi malignitelerinde kullanılabilir (43).

Siklofosfamid immunosupresif etkisinden yararlanılarak; doku ve organ transplantasyonlarında, çeşitli otoimmün hastalıklarda; amiloidoz, Behçet hastalığı, glomerüler böbrek hastalığı, idiopatik trombositopenik purpura, intertisyel akciğer hastalığı, polimyozitis, sklereoderma, sistemik lupus eritematozis, çeşitli vaskülitik sendromlar, Churg-Strouss sendromu, poliarteritis nodoza, Takayasu arteritisi ve Wegener granülomatosisde tedavi amaçlı kullanılmaktadır(43).

İngiltere'deki uygulamalarda düşük doz rejiminde 2-6 mg/kg/hafta iv tek doz veya bölünmüş haftalık oral dozlarda verilmektedir. Orta derecede doz rejiminde 10-15 mg/kg tek doz iv verilir. Yüksek doz rejimlerinde ise 20-40 mg/kg iv tek doz her 10-20 günde tekrar şeklinde kullanılmaktadır. Amerika Birleşik Devletlerinde genel olarak malignitelerin tedavisinde başlangıç dozu olarak 40-50 mg/kg verilirken, her 2-5 günde bölünmüş dozlarda kullanılmaktadır. Örneğin; Lenfomalarda 650-750mg/m<sup>2</sup>, Kİ transplantasyonunda 60mg/kg uygulanabilir. Siklofosfamid intramusküler(im), intraperitoneal(ip), intraplevral, intraarteriyel ve lokal perfüzyon şeklinde (örneğin karaciğere) uygulanabilir.

Siklofosfamid uygulanan hastalarda tedavi süresince düzenli kan sayımının yapılması, idrar çıkışının ve hidrasyonunun izlenmesi esastır. Şayet lökopeni veya trombositopeni gelişirse tedavi kesilmek zorundadır (5,43). Siklofosfamid tedavisinde en önemli yan etki ve doz kısıtlayıcı faktör myelosupresyondur. İlaç uygulandıktan itibaren ilk 1-2 haftada lökopeni, trombositopeni ve anemi gelişebilir. Bu durum 3-4 hafta içinde iyileşir. Trombositopeni ve anemi daha geç, daha az ve daha hafif bir yan etkidir. Nötropeni daha sık, erken ve ciddidir.

En önemli komplikasyonundan birisi olan sistit, aktif metabolitlerinin üriner sistemden akımı dolayısıyla oluşmaktadır. Bazan bu sistit şiddetli ve hemorajik olabilir ve yaşamı tehdit edebilir. Bu toksisiteyi azaltmak için bol hidrasyon ve mesna uygulanması önerilmektedir (44).

Alopesi hastaların %20'sinde görülür, geri dönüşümlüdür ve normal dozda uygulananlarda 3.haftada ortaya çıkar. Yüksek doz uygulananların ise hemen hepsinde görülür. Hiperpigmentasyon cilt ve tırnaklarda olabilir. Gastrointestinal huzursuzluk, hepatotoksisite, antidiyretik hormonu salımına karşı cevap sendromu, karbonhidrat metabolizma bozukluğu, gonadal baskılanma, sterilitte, intestinal pulmoner fibrosis, kardiyotoksikite diğer alkilleyicilerde olduğu gibi karsinojenik, mutajenik ve teratojenik potansiyeli, ikincil malignite oluşturma riski vardır. Gebelikte ve emziren annelerde kullanılmaz. Diğer ilaçlarla olan etkileşimlerinde en ilginç olanı ise: siklofosfamid ve doksorubisinin filgrastim ile birlikte verildiği infantta fetal solunum yetmezliğine yol açan alveolar fibrosis yapmasıdır. CSF siklofosfamidin pulmoner toksisitesini artırabilir (45).

## II-C2: KOLONİ UYARICI FAKTÖRLER

Ecomgramostim (GM-CSF), Filgrastim (G-CSF), Lenograstim (G-CSF), Mirimostim (M-CSF), Molgramostim (GM-CSF), Nartograstim (G-CSF), Regromostim (GM-CSF), Sargramostim (GM-CSF).

CSF veya hemopoetik büyüme faktörü; doğal bir glikoproteindir. Hemopoetik öncü hücrelerinin uyanılmasını, farklılaşmasını ve çoğalmasını hızlandırır. Bir çok koloni uyaran faktörler ayrıştırılmıştır; farklı hücre gruplarını ve farklı büyüme aşamalarını uyaran bazı CSF'ler DNA rekombinant tekniği ile üretilmiştir. Bunlardan; Eritropoetin (EPO), GM-CSF ve G-CSF en fazla kullanılanlardır. M-CSF, trombopoetin, GM-CSF füzyon molekülü ve IL-3 olarak bilinen PIXSY-321 halen araştırılmakta olan diğer büyüme faktörleridir. GM-CSF beyaz kürelerdeki büyümeyi uyarırlar özellikle granulositler, makrofajlar ve monositlerdeki büyümeyi G-CSF ise sadece granulositteki büyümeyi uyarırlar (46, 47).

GM-CSF ve G-CSF myelosupresif kanser tedavisi alanlarda ve Kİ transplantasyonu geçirenlerde oluşan nötropeni periyodunu kısaltmak amacıyla kullanılır. G-CSF kronik konjenital, siklik ve idiyomatik granüositopeni durumları içinde kullanılmaktadır(48). Otolog periferik kök hücre transplantasyonunda uyarıcı faktör olarakta kullanılmaktadır. Hatta GMCSF gansiklovire bağlı nötropeniye azalttığı için bu amaçlarda kullanılmaktadır (49). Şu anda; aplastik anemilerde, cilt ülser ve yaralarında, enfeksiyon tedavisinde kullanımı araştırılmaktadır (50).

G-CSF, endotoksin tedavisinde farenin serumundan ayrıştırılan ve hemopoetik düzenleyici aktivitesi bulunan maddedir ve invitro olarak Kİ öncü hücrelerini, granulositik kolonileri uyardığı görülmüştür (51). Hücre çoğalmasını ve biyolojik aktivitelerini kazanmasında hızlandırdığı izlenmiştir. 1985 yılında bir insan glikoproteini olarak yapısı belirlenmiş, 1986 yılında gen yapısı aydınlatılıp klonlanmış, moleküler ve hücre biyolojisi belirlenmiştir. 17. kromozomda tek kopyası tespit edilen, 174 aa içeren ve 18.000 dalton ağırlığında bir moleküldür.. Fizyolojik olarak insan dolaşımındaki nütrofilik granulositlerin sayısını kontrol ettiği görülmüştür. Bazal durumda ve örneğin bakteriyel invazyon gibi stress hallerinde nütrofil sayısını belirlemektedir. Köpeklerde G-CSF karşı antikolar

verildiğinde kronik bir nötropeni oluşturulmuştur (52). Sağlıklı gönüllülerde serum düzeyi 10 µg/ml ve üstünde bulunmuştur. Bununla birlikte stress hallerinde, enfeksiyon veya sitotoksik kemoterapi halinde G-CSF düzeyinin belirgin arttığı izlenmiştir (52,53).

Filgrastim adultlerde, antineoplastik tedavi alanlarda, 5 µg/kg (veya 0.5 milyon/kg/ gün) günlük tek doz ve subkutan uygulanır. Ancak devamlı subkutan infüzyon veya günlük intravenöz 30 dak infüzyon uygulanabilir. Filgrastim tedavisine nötrofil sayısı normal düzeye çıkıncaya kadar, gerekirse 14 gün devam edilebilir. KİT takiben başlangıç dozu 5-10 µg/kg/gün subkutan verilir ve nötrofil sayısı artıncaya kadar devam edilir. Siklik nötropeni veya idiyomatik nötropenide 5 µg/kg/gün, konjenital nötropenide ise 12 µg/kg/gün önerilmektedir. Filgrastim günlük tek doz veya bölünmüş dozlarda uygulaması tedaviye cevabı değiştirmemiştir (53, 54, 55).

**GM-CSF;** 1977 yılında fare akciğeri doku kültüründe ayrıştırıldı. İlk olarak myeloid serideki büyüme faktörü etkisi ortaya çıkarıldı. Nötrofil, monosit, makrofaj serisini uyardığı anlaşılmıştır. 1984 yılında ise insan GM-CSF proteini ayrıştırılmış ve üretilmiştir(56). GM-CSF geni 5 kromozom uzun kolunda yerleştiği, 127 aa içerdiği, 1400 dalton moleküler ağırlıklı olduğu bulunmuştur. Serum düzeyi tespit edilemez. GM-CSF sadece nötrofil üretimini artırmayıp, Kİ' de ve lokal inflamasyon bölgelerinde mikroçevreyi etkileyip nötrofil aktivasyonunu sağlar (57,58).

Molgramostim (GM-CSF) 5-10 µg/kg/gün subkutan günlük tek doz halinde 7-10 gün verilebilir. Bazı hallerde 10 µg /kg/ gün 4-6 saat intravenöz infüzyonla KİT sonrası verilir ve bu tedavi 30 gün devam eder. Başlangıç dozu 5 µg /kg/ gün olacak şekilde subkutan uygulanır. Gansiklovir tedavisine bağlı nötropenin önlenmesi içinde kullanılabilir (59, 60).

GM-CSF ve G-CSF, myeloid hücrelerin büyüme ve gelişmesini sağlarlar. İn vitro çalışmalarda bu ajanların maligniteli hücrelerde stimülasyonu yapmaksızın etki ettiği görülmüştür. Yinede tedbirli olmak açısından premalign veya myeloid malignite durumlarında; akut lösemi ve myelodisplastik sendrom refrakter anemi artmış blast (MDS-RAEB) tablosunda kullanımı sınırlıdır. Monosit üzerindeki sınıf

2 major doku uyumluluk antijeni ekspresyonunu artırabilir, antikor üretimini güçlendirebilir, bakteri fagositozunu ve olgun nötrofil fonksiyonel aktivitesini artırabilir. CSF sitotoksik ilaçlarla myeloid hücrelerde hızlı parçalanma duyarlılığı oluşturabileceği için kemoterapinin 24 saat öncesinde ve sonrasında uygulanmaz.

GM-CSF pulmoner hastalığı olanlarda dispne yapabileceği için dikkatli kullanılmalıdır. Sıvı tutulumunu artırabilir, kalp yetmezliği olan olgularda dikkatli olunmalıdır. Beyaz küre sayımı tedavi sırasında düzenli olarak yapılmalıdır, şayet 50.000/ $\mu$ L üstünde ise tedavi kesilmelidir. Yan etkileri: GCSF tedavisi süresince kas ve kemik ağrıları, disüri olabilir. Hipersensivite reaksiyonu nadir görülür. Splenomegali, trombositopeni, anemi, epistaksis, baş ağrısı, diyare, cilt altı vaskülitler vaka sunumlarında bildirilmiştir (5,46,48). GM-CSF, kas-iskelet sistemi ağrısı, halsizlik, ateş, dispne, döküntü yapabilir. Antikorlar geliştirebilir. Anafaksi plevral ve perikardial effüzyon nadiren bildirilmiştir (53, 54, 59, 60).

### **II-C3: ERİTROPOETİN**

**Eritropoetin(EPO)** bir glikozile protein hormondur ve hemopoetik büyüme faktörüdür. Esas olarak böbreklerden, daha az miktarda başta karaciğer olmak üzere diğer organlardan salgınabilir (61). Eritropoezi; eritroid öncülerin büyüme ve farklılaşmasını uyararak, retikülositlerin dolaşıma salınmasını sağlayarak ve hücrel hemoglobin yapımını artırarak sağlamaktadır. EPO serum konsantrasyonu hipoksi ve anemi gibi durumlarda normalin 1000 katı kadar yükselebilir, ancak KBY gibi durumlarda EPO'nun serum konsantrasyonu artışı mekanizması ve etkinliği bozulmuş olabilir. Şayet vücudun demir desteğinde bir eksiklik varsa EPO'ne hematolojik cevap yetersiz olacaktır (62, 63).

Genetik klonlanması yapılan ilk insan hemotopoetik sitokindir. 193 aa'den oluşur. 18400 dalton moleküler ağırlıklıdır. Glikozilasyon sonrası molekül ağırlığı 30.000 dalton olur, glikozile olmadan ise aktivite kazanamaz. Serum düzeyi immünassay yöntemi ile ölçülebilir ve 4-30 mU/ml kadardır. Hipoksiye cevap olarak üretimi artar (12, 61).

Eritropoetin eritropoezin vücuttaki ana düzenleyicisidir. Kronik böbrek yetmezliği, kronik lenfositik lösemi ve multiple myeloma ile birlikte olan anemiler hariç, myeloid olmayan malign hastalıkların kemoterapisi sonrasındaki anemide, HIV-pozitif hastaların zidovudin tedavisi sonrası anemilerin tedavisinde kullanılmaktadır. Diğer anemi şekillerinde de kullanılabilirliği araştırılmaktadır. İnsan recombinant DNA tekniği ile 3 formu üretilmiştir; Epoetin  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  insan EPO geni klonlanarak çoğaltılmıştır ve 165 aa sekansının aynısı dizilmiş, ancak glikozilasyon paterni farklı yapılmıştır.

Epoetin  $\alpha$  ve  $\beta$  glikolizasyon ve kimyasal preparat formüllerinden kaynaklanan bazı farmokokinetik farklılıklar gösterirler. EPO  $\alpha$  infeksiyon yerinden subkutan(sk) yavaş ve tam olmayarak absorbe edilir, biyoyaralanımı ise % 10-50 arasında değişir, iv olarak uygulanabilir. Pik konsantrasyona iv uygulandıktan 15 dakika sonra, subkutan uygulandıktan 4-24 saat sonra ulaşır. Eliminasyon yarılanma ömrü iv verilenlerde 4-16 saat, subkutan verilenlerde 24 saat kadardır (64). EPO  $\beta$  ise; biyoyaralanımı %23-42 olup, yavaş ve tam olmayarak absorbe edilir, iv uygulanabilir. Yarılanma ömrü iv kullanımda 4-12 saat ve sk kullanımda 13-28 saattir. Pik konsantrasyona sk uygulandıktan sonra 12-28 saatte ulaşır (64).

Baş ağrısı, hipertansiyon, konvülzyon gibi yan etkileri tedavi altındaki hastalarda tanımlanmıştır, özellikle kötü renal fonksiyonlu hastalarda bu yan etkiler daha fazladır. Bu bulgular artmış hemotokritin oluşturduğu hemodinamik bozukluklar sonucudur. Normotansif kişilerde hipertansiyon krizleri, ensefalopati benzeri durum, baş ağrısı, konfüzyon, konvülzyon tablosu oluşturabilir. Trombosis, pıhtılaşma bozukluğu, flu-like semptomlar, halsizlik, myalgi, hiperkalemi, cilt döküntüleri görülebilir(64). EPO tedavisi rat transplantında hiperfibrinojenemi ve hiperviskosite nedeniyle olduğu düşünülen erken graft trombosisi geliştirmiştir (65).

Epoetin alfa 50 IÜ/kg haftada 3 kez önerilmektedir. İngiltere'de ve ABD'de 50-100 IÜ/kg haftada 3 kez kullanılır. Bugüne kadar eritropoetin bir hemopoetik büyüme faktörü olmasına rağmen sadece eritroid seri üzerindeki etkisi

değerlendirilmiştir. Myelositer ve megakaryositer seri üzerindeki etkisi net olarak bildirilmemiştir (66, 67).

#### II-C4: İNTERFERON ALFA -2A

İnterferonların antiviral, antiproliferatif ve immunomodulator aktiviteleeri vardır. Viral enfeksiyonlar, saçlı hücreli lösemi, kronik myelositer lösemi, multiple myeloma, hipernefroma gibi malignitelerin tedavisinde halen kullanılmakta olup, yeni kullanılacak alanlarda araştırılmaktadır (5, 12). Başlıca immunolojik olarak farklı 3 tip interferon vardır. Alfa, Beta ve Gama interferon; bir çeşit sitokin olup, özellikle virüslerce yapılan çeşitli uyarılarda insan ve hayvan hücrelerinden protein ve glikoproteinlerden sentez edilerek salınır. İnterferon alfa; lökosit, lenfoblast gibi hücrelerden salınabilir ve DNA rekombinant tekniğiyle de üretilmektedir (68, 69).

İnterferon  $\alpha$  2a im veya sk verilir. İnfluenza benzeri semptomlar oluşturur, ateş, halsizlik, başağrısı, kırgınlık, artralgi, bulantı, kusma, ishal izlenir. Kilo kaybı, Kİ baskılanması, KC fonksiyon bozukluğu ve nekrozu, stroke, elektrolit bozukluğu olabilir. Ataksi, sommolans, konfüzyon, kanama nadiren bildirilmiştir. Mental depresyon, iskemik retinopati bildirilmiştir. Ejeksiyon yerinde reaksiyon, irritasyon ve hasar olur (70, 71).

Kan üzerine etkisi: Kİ trasplantasyonu sonrasında Kİ fonksiyonları düzelmeye ve yeniden yapılanmaya geçtiği dönemde interferon  $\alpha$ 2a preparatı uygulanan 3 hastada bu fonksiyonun geciktiği görülmüştür (72). Yine laboratuvar çalışmalarında GCSF'ün interferon  $\alpha$ 'nın inhibisyonunu sağladığı gösterilmiştir. İnterferon  $\alpha$ 'nın kemik iliği yetmezliği olanlarda kesinlikle kontrendike olduğu ve Kİ trasplantasyonu sonrasında greftin tam fonksiyonun oluşmadan verilmesinin zararlı olduğu düşünülmüştür. Bununla birlikte; Kronik myelositer lösemili 5 hastalık bir çalışmada, Kİ trasplantasyonu sonrası interferonun hastayı etkilemediği gösterilmiştir. 4 hastada periferik granülosit sayısında %60'dan daha fazla azalma saptanmıştır. Bütün hastalarda lenfositler artmıştır, 4 hastada PLT sayısı %37-80 oranında azalma saptanmıştır. İnterferon tedavisi kesildiğinde periferik kan hücreleri normale dönmüştür (73).  $\alpha$  interferonun diğer hematolojik yan etkisi, immun

hemolitik anemi ve immün trombositopeni oluşturmaktadır(74, 75, 76). 1 vakada immün trombositopeni ile beraber hemoraji bildirilirken, başka bir çalışmada interferon  $\alpha$  tedavisi ile beraber trombozisi rapor edilmiştir(77, 78).

Ciddi kardiyak, renal, hepatik ve santral sinir sistemi bozukluklarında kullanılmamalıdır. Vinblastin ve melfelan ile ateş oluşmasında artış şeklinde etkileşir ve hepatotoksisiteyi artırabilir (79). İnterferonlar GIS'den absorbe edilemezler, sk ve im verilince % 80'den fazla absorbe edilir, en yüksek plazma konsantrasyonu 4-8 saatte olur. Yarılanma ömrü 16 saattir. İv uygulandığında çok hızlı bir dağılım ve eliminasyon gösterir. Interferon  $\alpha$  kan beyin bariyerini geçmez (68). 2-3 milyon Ü'den 36 milyon Ü/güne kadar ulaşan dozlarda verilebilir, 50 mg/m<sup>2</sup> /gün enfeksiyon tedavisinde kullanılan dozdur (69).

Essansiyel trombositoziste hidroksi-ürea tedavisine alternatif olarak düşük doz interferon tedavisi kullanılmış ve başarılı sonuçlar bildirilmiştir (80, 81). Düşük dozda tercih edilir. Bazı hastalarda tedavinin 28. gününde PLT sayısında %50'den fazla azalma izlenmiştir. Myeloproliferatif bozukluğu ve trombositozu olan hastaların %78'de platelet sayımında anlamlı azalma bulunmuştur (82). Karşıt olarakta HIV enfekte kişilerdeki trombositopenilerde interferon kullanılmıştır (83).

## II-C5: GAMAGLOBULİN

İmmunoglobulinler (Ig); B lenfositler tarafından üretilen ve immün cevabın humoral kolunu oluşturan protein yapılı maddelerdir. Esas fonksiyonları antijenleri bağlamaktır, vücuda yabancı toksin, mikroorganizma, parazit ve diğer ajanlara karşı, bazan da vücutun kendi determinantlarına karşı aktivasyon kazanırlar. Bütün Ig'ler 2 ağır ve 2 hafif zincirden oluşurlar. A( $\alpha$ ), G( $\gamma$ ), M( $\kappa$ ), D( $\Delta$ ), E( $\epsilon$ ) alt grupları vardır. IgG total serum Ig yaklaşık %75'ni oluşturur. IgG<sub>1-2-3-4</sub> olmak üzere 4 alt grubu vardır. Makrofaj ve nötrofil fc reseptörüne bağlanırlar, kompleman sistemini aktive ederek inflamasyonun gelişimine katkıda bulunurlar (5, 12, 9).

İnsan normal serum immün globulini; IgG'dan zengin (% 90-95), konsantre edilmiş, steril globulin solüsyonudur, diğer Ig'leri eser miktarda içerir. Kan bankalarında çok sayıda donörden alınmış ve harmanlanmış normal insan

plazmasından Cohn yöntemiyle elde edilir. Hepatit A, B, kızamık, suçiçeği gibi viral enfeksiyonlarda profilaksi amacıyla kullanılır. İmmünomodulatör olması nedeniyle hastaların büyük çoğunluğunda korunma sağlar(9). Hematolojik malignitelerde; özellikle Kronik lenfositik lösemide bakteriyel, viral ve fungal enfeksiyonlara karşı koruyucu olarak kullanılır. Asit pH'da pepsinle işlenerek iv kullanılışı için hazırlanan insan normal Ig'ni İdiopatik Trombositopenik Purpura(ITP) dahil olmak üzere bir çok otoimmün hastalıkta, transfüzyon sonrası purpurada, trombotik trombositopenik purpurada, alloimmün platelet transfüzyon alıcılarında. hipogamaglobulinemi ve agamaglobulinemilerde genellikle 0,1-0,4 g/kg dozlarında uygulanmaktadır (5).

Akut ve kronik ITP'de platelet sayısını bariz artırması dolayısıyla Splenektomi geçirmiş ve geçirmemişlerde tedavide kullanılmaktadır. İv gamma globulinin ITP'de etki mekanizması tam anlaşılamamıştır. Muhtemelen IgG bağlanmış antijenler oluşturarak monosit-makrofaj sisteminin yarışmalı inhibisyonunu sağlamaktadır. Diğer mekanizma ise antiplatelet antikorlarının iv gamaglobulin preparatları içinde var olan antiidiotip antikorları ile bağlanmasıdır. Ig kullanılan özellikle yaşlı hastalarda platelet sayısının aşırı artışına karşı trombosis komplikasyonu nedeniyle dikkatli olunmalıdır (84). ITP'lı hastalarda iv Ig kullanımı sonrasında nötropenin oluştuğu bildirilmiştir(85). Ancak bu klinik gözleme başka yayınlarda itiraz edilmiştir (86). Kİ transplantasyonu geçiren hastalarda iv Ig, bakteriyel enfeksiyon ve sitomegalovirus (CMV) enfeksiyonu önlenmesinde ve semptomlarını azaltmasında kullanılmaktadır, Gansiklovirle kombine verildiğinde CMV enfeksiyonlarında tedavi edici oranı daha yüksek bulunmuştur (87).

## II-C6: KLORAMFENİKOL

1947 yılında streptomyces kültürlerinden elde edilen kloramfenikol geniş spektrumlu bir antibiyotik olup, günümüzde sentetik olarak üretilmektedir. Nitrobenzen moiney ile dikloroasetik asit derivesidir. Başlıca bakteriyostatik etkili olup ve bakterinin protein sentezini bozar. Gram pozitif ve negatif bakteriler, riketsialar, klamidyal ve mycoplazmalar üzerinde etkilidirler.

Kloramfenikol Na-süksinat ve palmitat formları vardır ve oral-parenteral kullanılabilir. Bu ilacın kullanımına başladıktan 1-2 yıl sonra dahi Kİ üzerinde fatal seyirli depresyon yaptığı bulunmuştur. Özellikle yeni doğanlarda Grey sendromu olarak tanımlanan fatal yan etkisi bildirilmiştir. Bu sendrom; fatal Kİ supresyonu, aplastik anemi, siyanoz, kardiovasküler kollapsın birlikte bulunması şeklinde tanımlanmaktadır. Kloramfenikolün Kİ üzerindeki etkisi 2 şekilde açıklanmaktadır: 1-Daha sık görülen, geri dönüşümlü, doza bağlı depresyondur. Genellikle plazma-kloramfenikol konsantrasyonu 25 µg/ml üstüne çıktığında Kİ'de morfolojik değişiklikler yapar: Demir kullanımını azaltır, retikülositopeni, anemi, lökopeni ve trombositopeni oluşturur. Kİ hücrelerinin mitokondrilerindeki protein sentezini inhibe ederek bu etkiyi oluşturduğu düşünülmektedir.

2-Ciddi geri dönüşümsüz aplastik anemi oluşturabilir. Çok nadirdir, 1/20000-1/50000 sıklığında bildirilmekte, bu tablonun dozdan bağımsız olduğu, genetik ve biyokimyasal yatkınlıkla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Aplazi haftalar hatta aylar süren bir latent periyod sonrası oluşmaktadır. Bu duruma invivo olarak oluşturulan nitrat benzen radikallerinin neden olduğu düşünülmektedir. Oral, parenteral ve topikal uygulama sonrası olabilmektedir. Erken gelişen aplazilerde, myeloblastik lösemiye dönüş bildirilmiştir. Oral uzun süre uygulandı intestinal flora azalması ve K vitamini sentezininin inhibisyonu ve Kİ supresyonu bile oluşabilir. Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz eksikliklerinde hemolitik anemi oluşturduğu bildirilmiştir (88).

Kloramfenikol bütün dokuları iyi nüfuz eder. KC, Akciğer ve böbrekte hidrolize olur. BOS'ta konsantrasyon % 50'si kadar bulunur. Yarılanma ömrü 1,5-4 saattir. Böbrek ve safra yollarıyla atılır. Absorpsiyonu, metabolizması ve atılımı kişisel farklılıklar gösterir. 50 mg/kg/gün üstünde verilen yüksek dozlarda Kİ'de hematopoez hücrelerde mitokondriyal ribozomların protein sentezinin bozulmasını sağlayarak reversible toksik etki oluşturabilir. Bu toksik etki anemi, rekülosit sayısında azalma, serum demir düzeyinde ve demir bağlama kapasitelerinde artma şeklindedir. Kİ incelemesinde eritroid öncü hücrelerinde vakuolizasyon, hücre sayısında çoğalma ve myeloid/eritroid öğelerin oranında yükselme görülebilir. Anemi ile beraber lökopeni ve trombositopenide tanımlanmıştır (89, 90).

### III-AMAÇ

Kanser tedavisinde küratif olmak için yüksek doz kemoterapinin daha ideal olmasına rağmen, uzun süreli myelosupresif etkisinden dolayı kullanımı kısıtlıdır. Çalışmamızın amacı; mevcut kemoterapotik ilaçların myelosupresif etkisini azaltarak, hem sitostatik ilaçları daha yüksek dozda kullanmak, hem de kemoterapinin en önemli yan etkisi olan myelosupresyonu önleyerek, mortalite ve morbiditeyi azaltmaktır.

Bu amaçla; hematopoez sürecinde çoğalma ve farklılaşma etkisi olduğunu bildiğimiz büyüme faktörlerinin myeloprotektif kullanımı planlanmıştır. Ayrıca nötropenin önlenmesi için kullanılan GM-CSF ve G-CSF gibi growth faktörlerin, nötropeniye önlemede teorik olarak doğru seçilmiş bir ilaç olmasına rağmen, istenilen düzeyde etkili olmadığı görülmüştür. Bu durumun uygulama tekniği ile ilgili olabileceği düşünülerek etkisi uygulama şekli farklı gruplarda araştırıldı. Kemoterapi öncesi 7 gün ve kemoterapi sonrası 7 gün uygulanan GM-CSF ve G-CSF için yapılması ve kendi aralarında kıyaslanması planlanmıştır.

EPO'nin hemotopoetik growth faktör olması dolayısıyla, kemoterapiye bağlı anemiye önlemede ve transfüzyonlara bağlı risklerin azaltılmasında etkin olabileceği ve daha güvenilir tedavi sağlayabileceği düşünüldü. Ayrıca, EPO'nun eritropoezin yanı sıra granülopoez üzerindeki etkinliğinin belirlenebilmesi için, nötropeni ve trombositopeninin önlenmesinde yararlılığı araştırılmak istenildi.

ITP gibi, bazı otoimmün hastalıklarda kullanıldığında trombositopeniyi önlediği bilinen iv Ig kemoterapi öncesinde verildiğinde; trombosit sayısının seyrini ve trombositopeniyi önleme etkinliğinin değerlendirilmesi düşünüldü.

Hücre uyarılmasında sitokin rolü bulunan ve immunomodülatör olan interferon  $\alpha 2a$ 'nın; granülopoez ve eritropoez üzerinde kemoterapi sonrasında nasıl bir etki oluşturduğu araştırıldı. Kİ mikroçevresindeki sitokinlerden biri olan İnterferon $\alpha 2a$ 'nın, kemoterapiye bağlı nötropeni, anemi ve trombositopeni üzerindeki etkisi araştırıldı.

Kİ aplazisi yaptığı bilinen kloramfenikolün, kronik nötropenli iki olgunun tedavisinde etkin başarı sağladığı ve nötropeniye tedavi ettiğinin bildirilmesi üzerine;

bu ilacın kemoterapiye bağlı n6tropeni 6zerindeki etkisinin araştırılması d6ř6n6ld6. Şayet n6troopeninin 6nlenmesinde başarı sağlanırsa, kloramfenikol6n antibiyotik etkisinden ikincil olarak yararlanılabiliyor idi.

Kısacası, kemoterapinin daha y6ksek dozda kullanımını engelleyen, kemoterapiye bağlı morbidite ve mortalitenin nedeni olan n6tropeni, trombositopeni ve aneminin, 6nlenmesi, tedavi seçeneğinin geliştirilmesi ve transf6zyonsuz tedavi alternatifleri sunabilmek için; GM-CSF, GCSF verilmesi gibi bilinen tedavilerin uygulama tekniğini değiştirmeyi, Eritropoetin, Gammaglobulin, İnterferon  $\alpha$ 2a ve Kloromfenikol gibi bu anala kullanılmamış ilaçların myel6protektif etkileri araştırıldı.

Sonuç olarak, bu çalışmanın amacı; etkin, g6venilir, risksiz bir Şekilde myelosupresyonu 6nleyebilmesi ve kemoterapiye bağlı mortalite ve morbidite oranını azaltılabilmesi için; G-CSF, GM-CSF, İnterferon  $\alpha$ 2a, gamaglobulin, EPO ve kloramfenikol6n rollerinin araştırmasıdır.

## IV- GEREÇ VE YÖNTEM

### IV-A: Çalışma Düzenegi

Bu çalışma Nisan 1997 ile Ağustos 1997 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi Deneysel Araştırma Laboratuvarında yapıldı. Çalışma sırasında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Turgut Özal Tıp Merkezi Hematoloji, Biyokimya, Patoloji ve Farmakoloji Laboratuvarlarından teknik olarak yararlanıldı.

Çalışmada 90 adet aynı özellikleri taşıyan Wistar tipi,  $200 \pm 20$  gr ağırlığında, 12-14 haftalık, erkek ratlar kullanıldı. Ratlar tüm çalışma boyunca muhtemel enfeksiyonlardan korunmak için özel olarak düzenlenen ve dezenfeksiyon uygulanan bir laboratuvar odasında bulunduruldu. Odada sadece bu çalışma için kullanılan ratlar mevcuttu, havalandırma sistemi ve oda ısısı kontrolleri uygun olarak sağlandı.

Günlük olarak; odanın, ratlar için kullanılan kafeslerin ve ratların beslenmesinde kullanılan malzemelerin temizliği yapıldı. Ratlar 5'li gruplar halinde standart kafeslere yerleştirildi. Standart laboratuvar hayvanı yemi ve musluk suyu ile beslendi. Çalışma sırasında diurnal değişikliklerin sonuca etkisi azaltmak içinde ratların muayeneleri ilaç uygulamaları, kan ve serum örneklerinin alımı, her gün saat 11<sup>00</sup>-13<sup>00</sup> arasında gerçekleştirildi. Bu müdahalelerde steril tıbbi malzemeler kullanıldı. Kullanılan ilaçlar ve alınan kan örnekleri uygun ısıda saklandı.

### VI-B: Grup Tanımlaması

Çalışmada her gruptaki ratlar otuz gün izlendi. 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 ve 30.günlerde kan örnekleri alındı. Bu çalışmada 9 ayrı grup oluşturuldu. Herbir grup yukarıdaki özellikleri taşıyan 10 rat kullanıldı. Her gruptaki bütün ratlar ise model oluşturmak amacıyla kemoterapotik olarak siklofosamid  $110 \text{ mg/ m}^2$ 'den tek doz intraperitoneal olarak uygulandı. Çalışma gruplarında ise deney ilaçları verilerek izlendi. İzlem, müdahale ve değerlendirmeler eşit şartlarda yapılmıştır.

**1. grup:** Kontrol grubu: İlk gün 10 rata  $110 \text{ mg/kg/gün}$  Siklofosamid tek doz intraperitoneal uygulandı ve ardından ratlar 30 günlük izleme alındı.

2. **grup:** G-CSF +7gün Grubu: 10 rat ilk gün 110 mg/ kg/ gün Siklofosfamid intraperitoneal uygulandı. Daha sonraki 7 gün süresince her gün 2.000.000 IU/kg/gün dozunda G-CSF (Filgrastim, Neupogen-Roche,) subkutan olarak verildi. 30 gün izlendi.
3. **grup:** G-CSF -7gün grubuna: 10 rata ilk 7 gün süresince sadece 2.000.000 IU/kg/gün dozunda subkutan G-CSF (Filgrastim) verildi. Bu uygulama yedinci günde sonlandırıldı ve sekizinci gün tek doz 110 mg/kg/gün Siklofosfamid intraperitoneal uygulandı ve 30 gün izlendi.
4. **grup:** GM-CSF +7 gün grubu: 10 rata ilk gün 110 mg/kg/gün intraperitoneal Siklofosfamid verildi. Daha sonraki 7 gün süresince her gün günde tek doz subkutan GM-CSF (Leucomax, Molgramostim -Sandoz+ Schering - Plougin) 10 µg/kg/gün dozunda uygulandı ve 30 gün izlendi.
5. **grup:** GM-CSF -7gün grubu: Bu çalışma grubunda 10 rata ilk 7 gün GM-CSF (Molgramostim) 10 µg/kg/gün subkutan uygulandı. 8. gün ise ratlar 10 mg/kg/gün Siklofosfamid verildi ve 30 gün izleme alındı.
6. **grup:** İnterferon grubu: 10 rata interferon alfa 2a (Roferon A-Roche) 180.000 IÜ/kg/hafta dozunda yani hergün 26.000 IÜ/kg/gün tek doz subkutan olarak 2.günden itibaren 10 gün uygulandı. 1.gün ise ratlara Siklofosfamid 110 mg/kg/gün verildi ve 30 gün izlendi.
7. **grup:** Eritropoetin grubu: 10 rata ilk gün 110 mg/kg/gün siklofosfamid intraperitoneal verildi. Daha sonraki 10 gün süresince her gün subkutan 100 IÜ/kg/gün veya 500 IÜ/kg/hafta dozunda subkutan uygulandı(Eprex ampul, Santafarma) 30 gün süresince izlendi.
8. **grup:** Kloramfenikol grubu: 10 rata ilk gün 110 mg/kg/gün siklofosfamid intraperitoneal verildi. Daha sonraki 10 gün süresince her gün 50 mg/kg/gün günde tek doz, im, kloramfenikol Na süksinat (Klora Süksinat-İE Ulugay) uygulandı, 30 gün izlendi.
9. **grup:** Gamaglobulin grubu: Bu grupta diğerleri ile aynı özelliğe sahip 10 rata ilk gün ve ikinci gün intra peritoneal olarak 400-1000 mg/kg/gün dozunda

(Gammagard, Eczacıbaşı) uygulandı. 3.gün ise siklofosamid 110 mg/kg/gün dozunda tek doz intraperitoneal verildi ve 30 gün izlendi.

#### IV-C: Klinik Değerlendirme Parametreleri:

- Günlük besin maddesi ve su tüketimi izlendi.
- Hareketlilikleri değerlendirildi
- Vücut ısısı, vücuttaki enfeksiyon sebepleri araştırıldı.
- İdrar rengi ve idrar yaparken ses çıkarıp çıkarmadıkları ve idrar miktarı izlendi.
- Gaitalar rengi, kıvamı değerlendirildi.
- Enfeksiyon bölgeleri ve peritonda lokal yara oluşumu açısından izlendi.
- Tüylerindeki dökülmeler izlendi.
- Halsizlikleri, canlılıkları, günlük aktiviteleri değerlendirildi.
- Hemorajik sistit, peteşi, purpura, ekimoz izlendi.
- Kan alınan kuyruk bölgelerinde kanama odağı ve açık yara oluşumu izlendi.
- Günlük uyku düzenleri izlendi.

Bu çalışma tüm ratlar 30 gün boyunca her gün fizik muayene ile incelenip, ilaç uygulamaları yapıldı ve laboratuvar çalışmaları sürdürüldü. Tüm klinik değişiklikler kaydedildi. Ratları aynı hekim izledi, aynı hekim kan örneklerini aldı ve aynı hekim tarafından ihtiyaçları giderildi. Çalışma boyunca bütün davranış ve fiziksel değişiklikler kaydedildi. Her grupta çalışma sonuna doğru rat ölümleri oldu. Ölen ratlara otopsi uygulanarak bariz patolojiler ayrıştırılmaya çalışıldı. Bu ratların eksitus nedeni konusunda araştırma ve yorum yapıldı. Ratlar günlük hassas laboratuvar tartısı ile tartıldı, kiloları izlendi. Bütün ilaç uygulamaları gerek sk, gerekse im uygulamalarda insülin enjektörü ile ratın sağ ve sol arka bacakların iç kısımları kullanılarak yapıldı. İntra peritoneal uygulamada alt karın bölgesinden, lateralden yapıldı. Enjeksiyonlara ait komplikasyon gelişimi izlendi. İntrakardiyak giriş sternumun sağından apeks noktasının elle palpasyonu ile kalp atımlarının hissedildiği noktadan yapıldı.

Deney hayvanları üzerindeki çalışmalar sırasında anestezi için Ketamin hidroklorür (Ketalar, Parke-Davis) 50 mg/kg/ gün dozunda ip uygulanarak yapıldı.

#### IV-D: Hematolojik değerlendirme parametreleri:

- Beyaz küre (WBC)
- Hemoglobin (Hb)
- Hematokrit (Htc)
- Ortalama eritrosit hacimi (MCV)
- Ortalama eritrosit hemoglobin düzeyi (MCH)
- Ortalama eritrosit hemoglobin yoğunluğu (MCHC)
- Eritrosit büyüklük dağılımı oranı (RDW)
- Platelet (trombosit) sayımı (PLT)
- Eritrosit sayımı (RBC)
- Ortalama platelet hacimi (MPV)
- Beyaz küre (WBC)
- Periferik yayma (PY)
- Kİ aspirasyonu
- Kİ biyopsisi
- Retikülosit sayımı

Tüm alışma gruplarında ve kontrol grubunda bu parametreler değerlendirildi.

Ratların ollebilen değerleri herhangi bir ilaç uygulanmadan önceki sıfırcı değerler, kemoterapi uygulanmasından sonra ise 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 30 günlerde değerlendirildi. Ratların kan örneklere insülin enjektörü ile intrakardiak girişimle ve kuyruklarında oluşturulan kesiden akan kanı toplanmak suretiyle alındı. Alınan kanlar ise EDTA'lı tüplere anında konuldu ve pıhtılaşması nlenildi. Daha sonra Hematoloji laboratuvarında Coulter 2000 cihazında parametreler olld (91, 92). Aynı anda ratların kanından PY yapıldı ve wright boyası yapılarak aynı hekim tarafından skalalı objektif bulunan mikroskopta incelendi, cihazın sonuçları ile PY sonuçları ortak değerlendirilip, kıyaslandı ve gerçek sonuca ulaşıldı. Granulositer seri elemanları, eritrosit morfolojisi, plateletlerin durumu PY'de ayrı ayrı incelendi. Retikülosit boyası ile (Kristal-viole) retikülosit oranları saptandı.

Çalışmanın 30.günü ise ratın sternumundan ince iğne Kİ aspirasyonu yapılıp May-graunwald-giemza ile boyanıp değerlendirdi, rathane (1,2-1,4 g/kg) anestezi altında Kİ biyopsisi için sterum çıkarıldı. Sternum parçasından önce imprint yapıldı,

ardından nötral formaldehit solüsyonuna (%10) bırakıldı. May-graunwald-giemza boyası ile imprint preparatlarının, Hematoxilen-Eozin ve retikülin boyası ile biyopsi preparatlarının boyamaları yapıp değerlendirildi. Kİ yağlanma oranı, eritroid/myeloid seri oranı, blast oranı, megakaryositer seri görünümü, retikülin lifleri oranı değerlendirildi.

#### **IV- E: Biyokimyasal değerlendirme parametreleri:**

Çalışma ve kontrol gruplarında ilaç uygulanmadan önce, kemoterapi uygulandıktan sonra 5.günde ve 10.günlerde biyokimyasal ölçümler yapıldı. Amaç biyokimyasal değişiklikleri çalışma üzerinde olumlu veya olumsuz etkisi olup olmadığını belirlemektir. Glukoz, Alanin aminotransferaz(ALT), Aspartat aminotransferaz(AST), Kreatinin, Laktik dehidrogenaz(LDH), Ürik asit, Alkalin fosfataz(ALP) değerlerinin ölçümü biyokimya uzmanı tarafından Klinik kimyasal analizörler için Kinetik UV Testi yöntemi ile Olympus System Reagent kullanılarak, Olympus 600AU cihazında ölçüldü. Ölçümlerde kullanılan kan örnekleri, alındığı gün dondurma işlemine maruz kalmadan serumları ayrıştırılmış ve kullanılmıştır.

#### **IV-F: İstatistiksel Analizler:**

Çalışma verilerinin istatistiksel değerlendirmesi Windows 95 yazılım programında SPSS programlarında Kruskal-Wallis 1-Way Anova Varyans Analizi, Mann Whitney U testi ve Wilcoxon Rank Sum W testi ve çoklu regresyon testi kullanılarak gerçekleştirildi. İstatistiki olarak aritmetik ortalama  $\pm$  SD her grubun kendi içindeki analizleri için Kruskal Wallis one-way anova Varians analizi ile yapıldı. Bir grubun kendi içindeki farklı gün ölçümlerinin kıyaslaması için Wilcoxon Matched-Pairs Sined ranks testi kullanıldı. Gruplar arasındaki karşılaştırmalı değerlendirmelerde Mann-Whitney U testi kullanıldı.

## V- BULGULAR

### V- A:KLİNİK İZLEM SONUÇLARI

Kontrol grubundaki ratlara siklofosfanid ile kemoterapi uygulandıktan sonra, özellikle ilk 72 saatte günlük aktivitelerin belirgin olarak azaldığı, uykuya meyilli ve bitkin oldukları izlenilmiştir. Ratlardan ikisinde hemorajik sistitle birlikte olduğu düşünülen hematürisi gelişmiştir (%20). Hematüri tedavinin 2.gününden itibaren başlamış ve 3 gün devam etmiştir. Ayrıca ratlar disüri nedeniyle olduğu kabul edilen miksiyon sırasında fazla ses çıkarmaları oluşmuştur. Bu dönemde beslenmeye karşı ilgileri azalmış, yemlerin ve suyun tüketimi düşmüştür. Vücut ısılarında anlamlı farklılık izlenmemiştir. Ratlarda %8-10 oranında vücut ağırlığında kayıp oluşmuştur. Özellikle 3. ve 4.günden itibaren başlayıp artan oranda tüylerde dökülme olmuştur. KT sonrası ilk 2,3,4,5.günlerde gaita kıvamı yumuşaması izlenmiş ve 2 ratta belirgin enterit gelişmiştir. Ratların tamamı ise yumuşak ve sık defekasyon yapmış, ancak gaitada kan ve müküs görülmemiştir.

Exitus olan hemerojik sistitli ratta aynı zamanda ip ilaç uygulanan bölgede lokal yara odağı mevcuttu, ardından bütün abdomende distansiyon, sertleşme, hassasiyet oluşmuş ve bu olayın 2.gününde, çalışmanın 7. gününde ex olmuştur. Otopside ise abdomende serbest pürülan mayi izlenmiş ve intraabdominal sepsis olduğu düşünülmüştür. Ratlarda hiç peteşi, ekimoz, purpura izlenmemiştir.

Ratlardan ikisinde kesi yapılarak kan alınan kuyruk bölgesinde lokal enfeksiyon odağı oluşmuştur, ancak kendiliğinden bu lezyonları düzelmiştir. Bütün çalışma süresince ratlarda uykuya eğilim izlenmiş, sürekli hareketsiz kalmışlardır. Bu bulgular kemoterapinin 15.gününe kadar sürmüş, hematolojik parametrelerin düzelmesiyle beraber yeniden eski hallerine dönmeye başlamışlardır. Bariz olarak Kemoterapi alan ve almayan ratlar arasında klinik farklılıklar izlenmiştir.

Grup 2'deki ratlar ilk gün siklofosfanid almışlar ve daha sonraki 7 gün ise G-CSF sk uygulanmıştır. Bu grup ratlar kontrol grubuna kıyasla günlük aktiviteleri yönünden daha canlı izlenmiş ve günlük gıda-su tüketimleri yaklaşık aynı olmuştur. İlk günlerde gaita yumuşaklığı ve miksiyon güçlüğü izlenmiştir. 1 ratta yine 3 gün süren hematüri olmuştur. 1 rat ise sağ arka bacak iç yüzünde enjeksiyon yerinde

lokal enfeksiyon oluşmuştur ve kısa sürede iyileşmiştir. Ratlardan birisi 21.günde exitus oldumuş ve otopside exitus nedeni tespit edilememiştir. Ratların ortak değerlendirilmesinde kilo kaybı ve alopesi diffuza görülmüştür, ancak bu bulgular kontrol grubundan daha hafif geçirilmiştir. Genel olarak klinik izlemleri özetlenirse; grup 2 kemoterapiyi kontrol grubuna kıyasla daha iyi tolere etmiştir.

3. çalışma grubundaki deney hayvanlarına ilk 7 gün yalnızca G-CSF verilmiş, 8.gün siklofosfamid uygulanmıştır. Kemoterapi öncesinde growth faktör olan bu ratlarda 1.ve 2.gruba kıyasla çok belirgin bir klinik farklılıklar görülmüştür. Ratların ilk 7 gün besin ve su tüketimi artmış, yaklaşık %10 oranında kilo almışlardır. Ratlar çok daha gülbüz ve aktif görünmüştür. Ardından kemoterapi uyguladığını 1 ve 2 gruptan çok daha iyi tolere etmişlerdir. Hematüri izlenmemiştir. 1 ratta kan alınan bölgede, kuyrukta kısa süren lokal enfeksiyon görülmüştür. Kemoterapi sonrası enterit olmamış, kısa süreli bir yumuşak defekasyon olmuştur. Alopesi daha az, peteşi, ekimoz, purpura izlenmemiştir. Ratlardan biri çalışmanın 25.gününde tespit edilemeyen bir nedenle exitus olmuştur.

Grup 4 de çalışmanın ilk günü siklofosfamid alan ratlar daha sonraki 7 gün tek doz GM-CSF almışlardır. Kemoterapi sonrasında diğer gruplarda olduğu gibi günlük aktiviteleri ve besin tüketimi azalmıştır. Ancak kontrol grubundan daha iyi fizik incelemeleri vardır. Enterit 2 ratta, hematüri 1 ratta(%10), 1 ratta sol arka uylukta açık yara oluşmuştur. Alopesi diffuza ve kilo kaybı kontrol grubuna kıyasla daha az, Cilt bulguları normal izlenmiştir.

Grup 5'de ratlar ilk 7 gün GM-CSF almışlar, ardından 8.günde siklofosfamid uygulanmıştır. Tüm çalışma ve kontrol grupları içerisinde en sağlıklı ve en gülbüz ratlar bu grupta görülmüştür. Kemoterapiyi çok iyi tolere etmişler hatta bu dönemde normal sağlıklı ratlardan fazla farklılık göstermemişlerdir. Bu bulgular GM-CSF'nin myeloprotektif etkisi olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca bu grupta % 10 kilo artışı olmuş, alopesi çok hafif izlenmiştir. Lokal yara enfeksiyonu görülmemiştir. Ratlarda hiç exitus olmamıştır. Besin ve sıvı tüketimi normal izlenmiştir. 1 ratta hematüri görülmüş, ancak enterit görülmemiştir.

Grup 6 da çalışmanın birinci gününde siklofosfamid alan ratlara devam eden 10 gün süresince interferon  $\alpha 2a$  uygulanmıştır. Bu grupta kontrol grubu ile yaklaşık

eşit düzeyde fiziksel düşkünlük görülmüş, işlem sırasında dokunulduğunda ses çıkarmışlar (artralji?, miyalji?), halsiz ve hareketsiz izlenmişlerdir. 2 ratta hematüri oluşmuş(%20) ve 3 gün sürmüştür. Enterit 1 olguda geliş, vücut ısıları diğer gruplara kıyasla daha yüksek seyretmiştir. 2 adet kuyrukta kesi yapılan bölgelere yara enfeksiyonu görülmüştür. Alopesi mevcuttu. Exitus olan ratın kuyruğunda enfeksiyonu olup, sepsisten kaybedildiği düşünüldü.

Eritropoetin grubunda deneyin yürütüldüğü 10 rat ilk gün kemoterapi almışlar, hemen ardından 10 gün süresince eşit dozda günlük EPO uygulanmıştır. Günlük aktivitede azalma, enterit, alopesi, klinik izlemde fiziksel düşkünlük görülmüştür. 1 ratta hematüri oluşmuştur. Bütün bu değişiklikler kontrol grubuna oranla göreceli olarak daha iyi durumdadır, ancak GM-CSF -7 gün grubuna göre ise daha yetersizdir. EPO'nun myeloprotektif etkisinin GM-CSF'ye kıyasla daha az olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca 1 rat nedeni tespit edilemeden exitus olmuştur. Ratlardan birinde ilk günlerde sağ orta bacakta hematom gelişmiş, ancak çalışma sonunda düzelmiştir.

Grup 8 de ilk gün siklofosfamid, sonraki 10 gün kloramfenikol günde tek doz uygulanmıştır. Bu süreç içerisinde ratların hiç birinde lokal enfeksiyon izlenmemiş, fizik incelemede kontrol grubundan belirgin üstün olduğu görülmüştür. Hematüri 1 olguda görülmüştür. Ratlardan hiç birisi exitus olmamıştır. Enterit ve alopesi daha az oranda, Sepsis bulgusu hiç izlenmemiştir. Vücut ısı normal seyretmiş, besin ve sıvı tüketimi normal sınırlarda olmuş, kilo kaybı izlenmemiştir.

Grup 9 da ilk gün ve ikinci gün gamaglobulin ip verilmiş, 3.gün kemoterapi uygulanmıştır. Ratların fizik incelemesi seri olarak yapılmış, günlük aktivitelerde azalma, enterit, alopesi, besin ve su tüketiminde azalma belirgin olarak izlenmiştir. Ancak kontrol grubu kadar bariz olmayıp 2 ratta hematüri oluşmuştur. Hematürili 1 rat daha sonra miksiyon yapamamış ve ardından exitus olmuştur. Kilo kaybı yaklaşık %5 izlenmiştir.

## V- B PERİFERİK KAN ÖLÇÜMLERİ SONUÇLARI

### V-B1: Grup 1: Kontrol Grubu Sonuçları

Kontrol grubunun hematolojik parametrelerdeki değişiklikleri ve günler arasındaki istatistiksel kıyaslamaları tablo 1’de sunulmuştur.

Hb değerlendirmesinde; istatistiksel olarak 0.günle diğer çalışma günleri arasında yapılan kıyaslamada; 3, 6, 9, 12, 15, 18, 30.günlerde anlamlı azalma olduğu gösterilmiştir. ( $p=0,0117$ ,  $p=0,051$ ,  $p=0,0077$ ,  $p=0,0077$ ,  $p=0,0077$ ,  $p=0,0077$ ,  $p=0,0077$ ). Hb seri ölçümlerinde KT öncesi başlangıç ortalama değeri 13,95(12,6-15,3) gr/dL iken tedricen azalarak, çalışmanın 6.gününde 9,39(6,9 - 11) gr/dL ile en düşük değerine ulaştı. 9 ve 12.günlerde düşük seyrederken, ardından hafif bir artışla 30.günde 10,97gr/dL düzeyine yükseldi. Bu aneminin gelişiminde myelosupresif etkinin dışında, ancak çalışmadaki değerlendirmeleri sağlamak için alınan kan örneklerinde iatrojenik olarak aneminin oluşumuna katkıda bulunmuş olabileceği düşünüldü. Grafik 1’de Hb değişiklikleri ve diğer gruplarla kıyaslanması açık olarak izlenmektedir.

Htc değeri başlangıçta %39,53(36-42,1) değerinde iken düzenli bir azalma göstererek (grafik 2’de görüldüğü gibi) çalışma sonunda 30.günde %32 ile en düşük değerine ulaşmıştır. Htc değerindeki bu azalma ratların daha az su tükettiği ve cilt turgor ve tonüsünün azaldığı bir dönemde olması, göreceli olarak hemokonsatrasyonla beraber olması nedeniyle dahada anlamlı olarak aneminin düzeyi hakkında bilgi vermektedir.

MCV, tedavi öncesi sağlıklı ratlarda ortalama 59,5(56-63)fL iken; kemoterapi(KT) uygulaması sonrasında lineer bir artış gösterip tedavisinin 30.gününde 63,5(59,7-67,5) fL olması ile önemli bir değişiklik geliştiğini gösterdi. Yani KT ile birlikte eritrosit volümü artıyor ve makrositer eritrositler geliyordu. Bunun nedenleri olarak KI’den daha erken ve fazla eritrositin periferik verilmesi ihtiyacı dolayısıyla, erken retikülositlerin çekirdeklerini hemen kaybedip periferik veriliyor olması yanısıra, B12 ve folik asit fazla kullanımı dolayısıyla makrositik değişiklikler izlenmiş olabilir. Grafik 3’de bu değişiklikler sunulmaktadır.

**GRUB I: KONTROL GRUBU HEMATOLOJİK ÖLÇÜMLERİ VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRİLMESİ**

	0. gün	0 ile 3. Gün		0 ile 6. gün		0 ile 9. Gün		0 ile 12. gün		0 ile 15. gün		0 ile 18. gün		0 ile 30. gün	
		Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P
WBC	9640± 1223,04	960± 124,9	0,0051	570± 218,1	0,0051	577± 86,5	0,0077	1870± 899	0,0077	6844± 828,5	0,1235	13255± 206365	0,1731	13388 ± 3952,9	0,5147
Hb	13,95± 0,25	12,06± 0,54	0,0117	9,39± 0,46	0,0051	10,91± 0,25	0,0077	9,93± 0,29	0,0077	10,41± 0,24	0,0077	10,46± 0,51	0,0077	10,97 ± 0,31	0,0077
Htc	39,53± 0,60	35,23± 1,89	0,0469	25,83± 1,23	0,0051	33,38± 0,78	0,0109	32,27 ± 1,74	0,0152	33,74± 1,15	0,0117	32,61± 1,39	0,0117	32,44 ± 1,12	0,0077
RBC	7369000± 4674884	5639000± 31838987	0,0125	371888± 26885273	0,0077	364222± 156806,48	0,0077	378333± 288386,31	0,0077	479555± 335601,08	0,0077	506888± 252539,57	0,0077	1016000± 5864336,7	0,1386
MCV	59,58± 0,61	60,38± 0,81	0,4148	60,57± 0,86	0,2411	62,49± 1,02	0,0580	63,26± 0,90	0,0152	63,56± 0,81	0,0077	63,4± 0,23	0,0077	62,4 ± 0,68	0,0109
MCH	20,97± 0,23	20,74± 0,49	0,7213	21,35± 0,24	0,2135	21,14± 0,17	0,2135	20,91± 0,17	0,8886	20,99± 0,24	0,9326	20,58± 0,25	0,1925	20,11 ± 0,49	0,0580
MCHC	35,21± 0,29	34,44± 0,32	0,2411	35,43± 0,49	0,6356	34,22± 0,23	0,0284	34,06± 0,16	0,0152	33,32± 0,17	0,0117	32,92± 0,41	0,0077	31,31± 1,42	0,0077
RDW	1332± 0,68	14,17± 0,54	0,2845	12,32± 0,40	0,0926	12,59± 0,49	0,8590	14,9± 0,46	0,2604	21,52± 0,57	0,0077	21,73± 0,68	0,0077	20,1±0,79	0,0109
PLT	824000±69 180,92	406400 ± 7089933	0,0051	211800± 49907,2	0,0051	273777± 51723,0	0,0077	395777±3 8307	0,152	622444± 59951,16	0,1097	832222± 42672,78	0,2607	874444± 24942,22	0,2135
MPV	5,26± 0,04	5,59± 0,17	0,1097	5,56± 0,11	0,0144	8,27±	0,0077	6,18± 0,12	0,0077	5,51± 0,04	0,0077	5,56	0,0077	5,61±0,11	0,0423

Tablo I: Kontrol grubunun hematolojik parametrelerin ölçümleri ve bunların günler içindeki değişimlerinin başlangıç değeri Wilcoxon matched pairs testi ile kıyaslanmasının istatistiksel sonucu olan p değerleri sunulmaktadır.

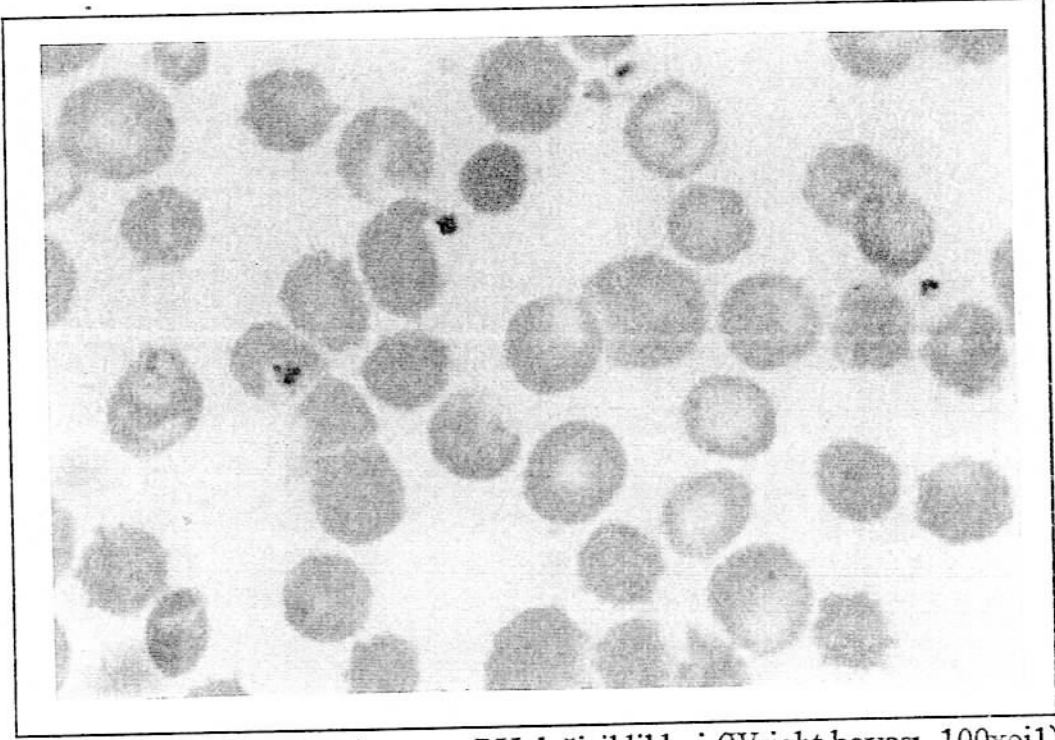
MCH, KT öncesinde 20,97(19,8-22,3)pg iken, 6.gününde en yüksek düzeyi olan 21,35 (19,9-22,4)pg ölçülmüştür. Ancak 30.gününde yani tedavi sonunda, bu değer 19,9(18-23) pg ile normal değerlerine tekrar dönmüşlerdi. MCH değerleri grup içinde 0.gün ile diğer çalışma günleri kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı değişiklik olmadığı görüldü ( $p>0,05$ ).

Bu çalışma süresince MCHC'deki değişiklikler, KT'den etkilenme oranı Tablo1'de gösterilmektedir. 0.günde 35,21(33,8-36,4)gr/dL ölçülmüş ve çalışma süresi içinde düzenli bir seyirle azalmıştır. 30.günde 31,31(20-33)gr/dL ölçülmüştür. Bu durum istatistiksel olarak değerlendirilmiş. 0.gün ile diğer çalışma günlerindeki değerler kıyaslandığında 3 ve 6.günde anlamsız değişiklikler, ( $p=0,2411$ ,  $p=0,6356$ ), 9.günden itibaren 12, 15, 18, 21, 30.günlerde istatistiksel olarak anlamlı azalma izlenmiştir. Bu azalışa intestinal mukosit nedeniyle demir absorpsiyonun azalmasının katkıda bulunmuş olabileceği yorumu yapılabilir. RBC değerlerindeki günler içindeki değişiklikler Grafik 4 de sunulmaktadır.

RDW ölçümündeki günler içindeki değişiklikler Tablo1'de sunulmuştur. 0.günde ortalama değeri %14,8(13,3-17,4) bulunmuştur. 3,6,9,12.gün ölçümlerinde hafif artış olmuş ancak bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. 15.günden itibaren 15, 18, 30.günlerde anlamlı bir artış görüldü (istatistiksel olarak). 15.günde  $p=0,0077$ , 18.günde  $p=0,0112$ , 21.günde  $p=0,109$ , 30.günde ise  $p=0,0063$ . Aynı dönemlerde yapılan PY'da ise belirgin anisositoz, polikilositoz, polikromozit izlenmiştir. Makrovolositler ve anulositler tabloya hakim görülmüştür. Yine retikülosit sayımında bol retikülosit izlenmiştir. RDW 15.günde %23 ve 30.günde ise %21,7 bulunmuştur. PY değişiklikler resim 1'de izlenmektedir.

PLT sayısı 0.gün ortalama(ort) 824000(253000-998000)/ $\mu$ L bulunmuştur. Bu normal sağlıklı ratlar için genel ortalamadır. Siklofosfamid sonrasında 3.günden başlayıp 6,9,12.günlerde dereceli olarak azalmış ve 6.günde ise en derin trombositopeni halini almıştır. Ortalama PLT sayımı 211800(157820- 453000)/ $\mu$ L ile tüm ratlarda kararlı olarak trombositopeni izlenmiştir. Daha sonra ise bu trombositopeni yerini reaktif trombositopeniye devretmiştir. Yani PLT sayımı belirgin

artmıştır. 30. günde PLT ortalama 874444/  $\mu$ L bulunmuştur. PLT sayımının 0. gün ile grup içindeki diğer gün ölçümleri karşılaştırıldığında 3. günde  $p=0,0051$ , 6. günde  $p=0,0051$ , 9. günde  $p=0,0077$ , 12. günde  $p=0,0152$  ile istatistiksel anlamlı olan bir azalma gözlenmiştir. (Grafik 5).

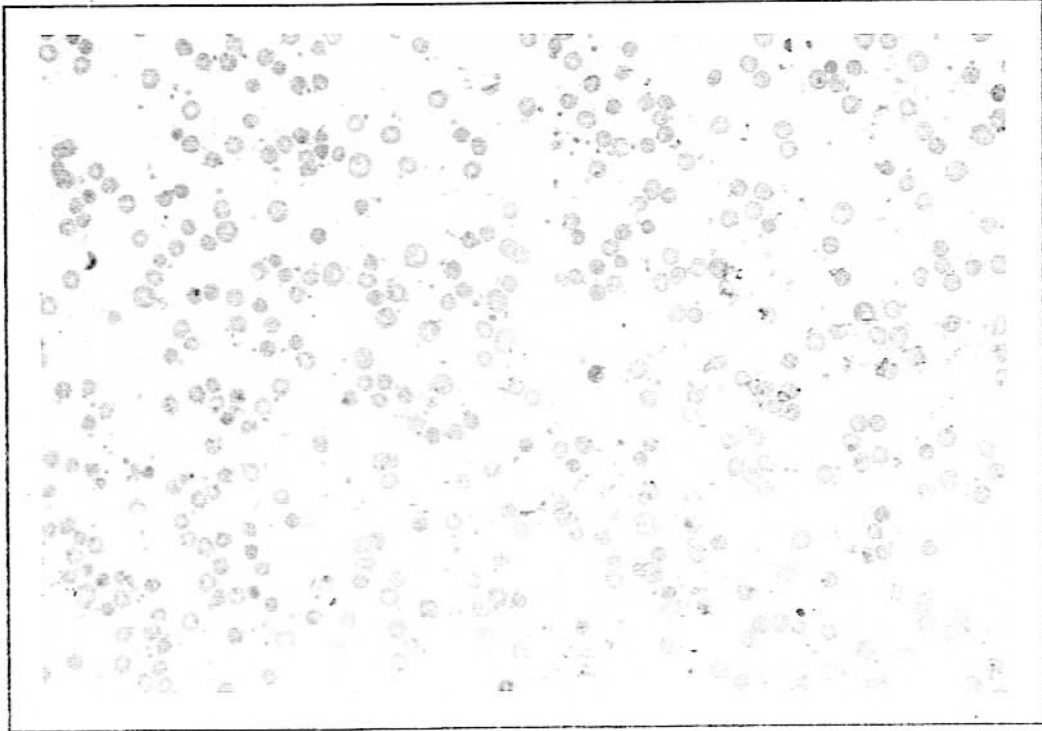


Resim 1. Kemoterapi sonrası PY değişiklikleri (Wright boyası, 100xoi1)

MPV değerlendirilmesinde; başlangıç değeri 5,26 (5,3-5,7)fL bulunmuştur. 3. günde kararlı seyretmiş, 6. günde MPV belirgin artmış ve ortalama değeri 5,56fL bulunmuştur, 0. günle kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olan bir artış ( $p=0,0144$ ) kaydedilmiştir. MPV değeri 9. günde ( $p=0,0077$ ), 12. günde ( $p=0,0077$ ), 15. günde ( $p=0,0077$ ), 18. günde ( $p=0,0077$ ), 30. günlerde ( $p=0,0423$ ) istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklikte seyretmiştir. Yani trombosit haciminde artış izlenmiştir. Ayrıca PY'de bu dev trombositler görülmüştür. MPV'nin maksimum artışı ise 9. günde bulunmuş ve ortalama MPV değeri 8,27(6,8-9,3)fL olduğu görülmüştür.

Çalışmamızın ana gayelerinde biri olan WBC ölçümleri ise kontrol grubunda kararlı bir myelosupresyon göstermesi dolayısıyla deneysel model kabul edilmiş ve bu model üzerinden ilaç deneme çalışmaları yürütülmüştür. Kontrol grubu yani

diğer anlamda deney modelimizde, en önemli parametre olduğunu düşündüğümüz ve tedavi etmeyi veya önlemeyi hedeflediğimiz nütropenin seyri Grafik 6'da sunulduğu gibi şu şekilde olmuştur. 0.günde WBC sayımı ortalama değeri 9640 (5700-19600)/ $\mu$ L olup siklofosfamid verildikten sonra 3,6,9,12.günlerde nütropenik seyretmiş, ardından 15.günden itibaren düzelmiştir. 3.günde WBC sayımı ortalama 960(300-1700)/ $\mu$ L olup 0.günle kıyaslandığında istatistiksel anlamlı olarak WBC sayısında azalma vardır ( $p=0,0051$ ). 6.günde en derin nütropeni oluşup, WBC sayısı ort 570(0-2400)/ $\mu$ L bulunmuş, Resim 2'de görüldüğü gibi ciddi nütropenik PY görülmektedir. 0.günle kıyasla istatistiksel anlamlı olarak azalmıştır ( $p=0,0051$ ). 9.günde nütropeni aynı derinlikte devam etmiştir ve ort WBC sayısı 577(300-900)/ $\mu$ L izlemiştir, buda istatistiksel anlamlı azalma oluşturmuştur ( $p=0,007$ ) 2.günde WBC sayısı ort 1877(200-8900)/ $\mu$ L olarak nütropenik şekilde devam etmiş, ancak iyileşme fazına girmiş kabul edilmiştir. 0.güne kıyaslamada anlamlı WBC sayısı düşüklüğü görülmüştür  $p=0,0077$ . 15.günden itibaren WBC sayısı normal sınırlarda seyretmeye başlamış ort 6844(3800-11000)/ $\mu$ L olduğu görülmüştür. Özetle 3 ve 15.günler arası nütropeni devam etmiş ve en derin nütropenik dönemde ort WBC sayısı 570 / $\mu$ L bulmuş ve bazı ratlarda WBC sayısı 0 olarak ölçülmüştür.



Resim 2: Kemoterapi sonrası PY'de nütropeni izlenmesi. (Wright, 20X)

#### V-A2: Grup 2: G-CSF +7 gün grubu sonuçları:

Bu grupta kontrol grubu ile eş uyumlu olarak Hb, MCH, MCHC, PLT, RBC, WBC değerlerinde azalma izlenirken, MCV, MPV, RDW değerlerinde artış izlenmiştir. Ancak bu artış ve azalışlar kontrol grubu ile kıyaslandığında daha kısa sürmesi, daha az derin olmaları yönüyle anlamlı farklılıklar oluşturulmuştur. Bu grubun ölçülebilen hematolojik parametreleri ve istatistiksel değerlendirmeleri Tablo 2’de sunulmuştur.

Hb değeri: GM-CSF +7gün grubunda 0.günde ölçüldüğünde ort değeri 13,68(11,3-14,9)gr/dl bulunmuştur. Hb 3.günde ort 11,25gr/dL bulunmuş ve 0.güne kıyaslandığında istatistiksel anlamlı azalma bulunmuştur (p=0,0051). 6.günde ortalama 9,45gr/dL bulunmuş ve bu azalma 0.güne kıyasla istatistiksel anlamlı olmuştur (p=0,0051). 9.günde 8,38(6,9-10)gr/dL bulunmuş ve p=0,0077 olacak şekilde anlamlı azalma izlendi, aynı zamanda en derin anemini oluşturdu 12.günde p=0,0077, 15.günde p=0,0077, 18.günde p=0,0077 bulunmuş ve 0.güne kıyasla anlamlı bir farklılık periyodu geçirilmiştir. 21.günden itibaren anemi düzelmiş ve normal sınırlara çıkmıştır. Son ölçümde Hb ortalama 13,37gr/dL bulunmuştur. Bütün değerlerin anlamı ise aneminin erken dönemde 3.günde başlayıp, 21 güne kadar devam ettiğiidir. Hb değişiklikleri Grafik 1’de sunulmaktadır.

Htc ölçümlerinde 0.günde ortalama %26(11-39) bulundu. 3.günde % 33(27 - 38 ) ile hemokonsantrasyon tespit edildi. Aynı dönemde enteritte mevcuttu, ratta su tüketimi daha az izleniyordu. 0.güne kıyasla p=0,0069 olup anlamlı artış vardı. 6.günde Htc %26 idi (21-29). 0.güne oranla artmıştı ve p= 0,0218hesaplanmıştır. 9.günde Htc %24 olup, p= 0,1097 ile istatistiksel anlamlı artış tespit edilmedi. Grafik 2’de bu artış ve azalışlar sunulmaktadır.

MCV’nin 0.gündeki ölçümü 53,51(50,90-57,60)fL bulunmuştur. Ardından MCV 3.günde 45,27fL ölçülmüş ve bu değerde istatistiksel azalma görülmemiştir (p=0,3743). Daha sonra 6.günde 55,54fL, 9.günde 60,11fL, 12.günde 58fL, 15.günde 62,37fL, 18.günde 59,58fL ve 30.günde 58fL (p= 0,0077) bulunmuş ve bu değerlerle başlangıca oranla istatistiksel anlamlı artışlar olarak kaydedilmiştir. Yani MCV kemoterapi sonrası 6.günden itibaren artmakta ve makrositöz PY’de

GRUB 2: G-CSF +7 GÜN GRUBU HEMATOLOJİK ÖLÇÜMLERİ VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRİLMESİ																
	0. gün		0 ile 3. gün		0 ile 6. gün		0 ile 9. Gün		0 ile 12. gün		0 ile 15. gün		0 ile 18. gün		0 ile 30. gün	
	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P
WBC	9840±	0.0051	1110±	0.0051	2590±	0.0051	20100±	0.0382	20000±1	0.0209	17688±	0.0506	18122±	0.663	12888±	0.0051
	2236,33		94,81		287,69		2340,82		779,51		121957		1841,78		1004,22	
Hb	13.68±	0.0051	11.25±	0.0051	9.45±	0.0051	8.38±	0.0077	9.32±0,41	0.0077	1420±	0.0077	11.58±	0.0077	13.37±	0.6627
	0,31		0,42		0,32		0,40				0,34		0,48		0,30	
Htc	16.28±	0.069	33.01±	0.069	26.87±	0.0218	24.26±	0.1097	28.66±	0.0284	31.57±	0.0109	36.97±	0.109	44.24±0,8	0.0077
	2,61		1,04		0,87		1,16		1,02		0,73		1,03		1	
RBC	7324000±	0.0051	5559000±	0.0051	4844000±	0.0051	3532222±	0.0077	4122222±	0.0077	5535555±	0.0109	5964444±	0.0077	6315555±2	0.0152
	157615,57		254782,91		161858,65		425407,58		28776,76		375588,84		256980,93		14217,64	
MCV	53.51±	0.3743	45.27±	0.3743	55.54±	0.0469	60.11±	0.0109	71.10±	0.0077	62.38±0,	0.0077	59.58±0,	0.0077	5874±	0.0077
	0,61		4,49		0,55		1,06		1,85		46		87		0,33	
MCH	18.67±	0.0109	19.51±	0.0109	19.52±	0.0367	21.24±	0.0109	23.36±	0.0077	20.98±0,	0.0077	19.88±	0.0109	19.17±	0.0178
	0,24		0,18		0,20		0,31		0,57		26		0,33		0,23	
MCHC	34.83±	0.3980	34.62±	0.3980	35.15±	0.2026	35.11±	0.5940	32.93±	0.0077	33.23±	0.0077	33.48±	0.0077	32.17±	0.0077
	0,16		0,16		0,16		0,26		0,39		0,26		0,19		0,15	
RDW	15.17±	0.0152	13.36±	0.0152	13.13±	0.0069	13.89±	0.0109	31.30±	0.0077	24.47±	0.0077	25.09±1,	0.0077	22.12±	0.0077
	0,26		0,27		0,36		0,29		1,99		0,57		47		0,86	
PLT	661100±	0.0109	470.222±	0.0109	262200±	0.475	368111±	0.0152	836222±	0.858	963000±	0.0077	95388±	0.0077	949666±	0.0077
	59108,08		43389,64		95597,05		82290,21		56760,65		14729		14699,25		22963,13	
											,98					
MPV	5.05±	0.0858	5.23±	0.0858	6.77±	0.0051	6.17±	0.0051	6.11±	0.0077	5.78±	0.0077	6.11±	0.0077	6.17±	0.0109
	0,07		0,06		0,17		0,08		0,10		0,03		0,10		0,14	

Tablo 2: G-CSF +7 gün grubunun hematolojik parametrelerin ölçümleri ve bunların günler içindeki değişimlerinin başlangıç değeri Wilcoxon matched pairs testi ile kıyaslanmasının istatistiksel sonucu olan p değerleri sunulmaktadır.

izlenmektedir. Ancak kontrol grubu ile kıyaslandığında MCV artışının yaklaşık olarak uyumlu olduğu izlenmiştir. MCV'nin günler içindeki seyri Grafik 3'de sunulmaktadır.

MCH başlangıç ölçümü 18,67(17,3-20,1)pg olarak değerlendirilmiştir. Daha sonra 3,6,9,12,18,30.gün ölçümlerde 0.günle kıyaslandığında istatistiksel anlamlı artış bulunmuştur. 3.günde 19,51 (p= 0.0109), 6.günde 19,52 (p= 0.0367), 9.günde 21,24(p=0.0109), 12.günde en yüksek değeri alan 23,36(p=0.0077), 15.günde 20,98(p=0.0077), 18.günde 19,88(p=0.0109) ve 30.günde 19,17(p=19,17) ölçülmüştür. Grafik 3'de bu değişimler gösterilmektedir. Anemi ile birlikte eritrositler hemoglobın konsantrasyonlarda artış izlenmektedir. Dahada önemli olan bu artışın eritrosit volümündeki (MCV) artış ile beraber olmasıdır. Bu nedenle, PY'da belirgin makrovolositler izlenmiştir.

MCHC başlangıçta 34,83 (33,9-35,6)gr/dL ölçülmüştür. 3,6,9.günlerde yaklaşık değerler bulunmuş ve istatistiksel anlamlı değişiklik saptanmamıştır (p=0,398, p=0,2026, p=0,5940). Ancak 12.günden itibaren MCHC ölçümleride 32,93(31,2-34,6)gr/dL azalma bulunmaya başlamıştır ve bu azalış istatistiksel anlamlıdır (p=0,077). MCHC değeri 15.günde 33,23 gr/dL (p= 0,0077) ölçülmüştür. 18.günde ise en hafif değerde 33,48 gr/dL ve p=0,0077 ile anlamlı azalış ispatlanmıştır. 30.günde de MCHC azalışı sabit devam etmiştir p=0,0077. PY'de poikilositoz, anisositoz ve hipokromik makrovolositler izlenmiştir. Yer yer anulositlerde vardı.

RBC çalışmanın ilk gününde, kemoterapi öncesinde 7369000(6040000-10000.000)/ $\mu$ L ölçülmüştür. Kemoterapi verilmesiyle birlikte ciddi bir azalma izlenmiş ve çalışmanın sonuna kadar 18.günde dahil istatistiksel olarak anlamlı olan bir RBC sayımı düşüklüğü saptanmıştır. Bu azalış günler içinde kademeli olarak olmuştur. 3.günde 5639000/ $\mu$ L (p=0,0125), 6.günde 3718000/ $\mu$ L (p=0,0077), 9.günde 3718000/ $\mu$ L (p=0,0077), 12.günde 3788000/ $\mu$ L (p=0,0152), 18.günde 5068000/ $\mu$ L (p=0,0077). 21.günde ise reaktif olarak artış saptanmıştır. Yani 10016000/ $\mu$ L (p = 0, 1386) bulunmuştur. Grafik 4.

RDW ölçümleri kontrol grubundaki kadar dramatik seyretmemiştir. Çalışma ilk günlerinde (0-12 gün arasında) RDW normal sınırlarda seyrederken, 15 ve 18 ve 30 gün ölçümlerinde istatistiksel olarak anlamlı yükseklik tespit edilmiştir. Başlangıçta RDW %13,32(12-15) iken, 15.günde %14,9 (p=0,0077), 18.günde %15,1 (p=0,0077) ve 30.günde %20,11 (p=0,0109) bulunmuştur. Bu eritrosit çaplarındaki farklılık 15. Günden itibaren çalışma sonuna kadar devam etmiştir. PY'da ise anisositoz ve polikilositoz belirgin izlenmiştir.

PLT sayımı çalışmanın başlangıcında kemoterapi öncesi PLT sayımı ort değeri 661100(235000 - 884000)/ $\mu$ L iken, KT sonrasında bu değer azalmaya başlamış, trombositopeni oluşmuştur. En derin trombositopeni 6.günde ve ort 262200/ $\mu$ L değer ile seyretmiştir. Ardından trombositler yükselmiş ve 12.günden itibaren normal, hatta daha yüksek değerlere ulaşmıştır. Kontrol grubu ile kıyasladığımızda trombositopeninin derinliği konusunda bir farklılık yoktur, ancak süresi aynı olmayıp kontrol grubunda daha uzun süre (3-15 gün arası) trombositopenik geçerken, G-CSF +7 gün grubunda bu süre 6.günde ve 3 gün süreyle sınırlı kalmıştır. PLT sayımı yönünden grup içindeki kıyaslamada 0.güne oranlanan diğer çalışma günlerinde bu trombosit azalması ve artması istatistiksel olarak Wilcoxon testi ile kıyaslanmıştır ve buna göre 3.günde p= 0,0109 ile anlamlı azalma, 6.günde p= 0,0475 ile anlamlı azalma, 9.günde p=0,0152 ile anlamlı azalma vardır. Ancak 12.günde p=0,088 ile istatistiksel farklılık izlenmedi. Daha sonraki günlerde ise 15.günde p=0,0077 ile anlamlı artış, 18.günde p=0,0077 ile anlamlı artış ve 30.günde p=0,0077 ile anlamlı artış bulunmuştur. Kısacası bu grupta kısa hafif düzeyde bir trombositopeni olmuştur. Grafik 5'de izlendiği gibi.

MPV değerlendirmesinde kontrol grubuyla paralel bulgular elde edilmiştir. 6.günden itibaren başlayan bir MPV artışı olmuş ve buda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. MPV başlangıçta 5,05(4,7-5,5)fL bulunmuş, 6.günde en yüksek değerine ulaşmış ve 6,77(6,2-8,2)fL ölçülmüştür p=0, 0051. Diğer günlerde kararlı hacimde devam etmiştir. 9.günde p= 0,0051, 12.günde p=0,0109 ile istatistiksel anlamlı büyük plateletler izlenmiştir. PY'da ise dev trombositler, trombosit kümeleri izlenmiştir.

WBC ölçümü bu gruptaki en önemli parametredir. G-CSF nütropeni önlemek için üretilen bir ilaç olduğu için değerlendirme hassas olarak yapılmıştır. Cihazdaki sayım değerleri PY ile desteklenmiştir. Bu durumda 0.gün siklofosfamid verilmiş ve 24 saat sonrada G-CSF sk başlamıştı ve ölçümler yapılmıştı. 0.günde WBC sayımı ortalama 9840(4400-29500)/ $\mu$ L bulundu. 3.günde en derin nütropeni oluşmuş ve WBC sayımı 1110(600-1600)/ $\mu$ L bulunmuştur. 0.güne kıyasla bu azalış istatistiksel olarak anlamlıdır  $p=0,0051$ . 6. Günde ise nütropeni düzelmiştir. WBC sayımı 2694 (700-6900)/ $\mu$ L bulunmuş ve bu azalışta istatistiksel anlamlı olup  $p=0,0051$  bulundu. Daha sonra ise WBC sayımı hızlı ve önemli bir artış gösterdi. Bu kez 0.güne kıyasla artış anlamlı olmuştur. 12.günde WBC 20.000(14000-30000)/ $\mu$ L bulundu ve  $p=0,0209$ 'du. Ancak bu yüksek WBC sayımı 30.güne kadar devam etti. 15.günde  $p=0,0500$ , 30.günde ise  $p=0,0051$  bulundu.

Bu grubun WBC değişimi kontrol grubu ile kıyaslandığında (Grafik 6'da sunulmuştur) nütropeni her iki grupta 3.günde oluşmuştur. Ancak kontrol grubunda nütropeni derin olarak 6,9,12.günlerde de devam etmiştir. Oysa G-CSF +7gün grubunda 6.günde düzelmiştir. Nütropenin derinliği içinse kıyaslama yapıldığında kontrol grubunda ort 500/ $\mu$ L'ye inen bir WBC sayımı var iken G-CSF +7 gün grubunda bu ortalama 1110/ $\mu$ L'de kalmıştır. Mann-Whitney U testi iki gruba 3.gün değerlerine uygulandığında gruplar arası ayrı gün kıyaslaması yapılmış ve G-CSF +7 günü grubunun kontrol grubuna kıyasla üstün olduğu görülmüştür. Bu üstünlük 3,6,9.günler içinde geçerlidir. ( $p<0,05$ ). Buna göre G-CSF nütropeni önlemede başarılı bir ilaçtır ve kontrol grubuna üstündür.

### **V-A3: Grup 3:G-CSF -7 gün grubu sonuçları:**

Bu gruptaki ratlara 0-7 gün arasında hergün G-CSF sk verilmiş ve 8.günde KT uygulanmış daha sonra izleme devam edilmiştir. Bu nedenle gerek grup içi, gerekse gruplar arasındaki kıyaslamalarda KT sonrasındaki günleri esas alınarak yapılmıştır. Bu grubun ölçülebilen hematolojik parametreleri ve istatistiksel değerlendirmeleri tablo 3'de ayrıntılı olarak sunulmuştur.

GRUB 3: G-CSF -7 GÜN GRUBU HEMATOLOJİK ÖLÇÜMLERİ VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRİLMESİ																
	0. gün		0 ile 3. gün		0 ile 6. gün		0 ile 9. Gün		0 ile 12. gün		0 ile 15. gün		0 ile 18. gün		0 ile 30. gün	
	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P
WBC	11540± 1501,35	0,0218	21000± 3083,22	0,0218	16970± 701,12	0,0367	5488± 2341,44	0,1097	1511± 244,63	0,0077	21844± 2456,74	0,0209	30833± 381703	0,0077	8133± 586,42	0,1097
Fib	13,62± 0,18	0,2213	13,26± 0,29	0,2213	12,53± 0,28	0,0144	10,52± 0,53	0,0077	8,36± 0,43	0,0077	7,79± 0,44	0,0077	10,46± 0,54	0,0077	13,73± 0,23	0,7794
Htc	38,93± 0,52	0,0284	36,76± 0,53	0,0284	34,62± 1,00	0,0051	29,36± 1,29	0,0077	4320± 16,93	0,1097	22,91± 1,12	0,0077	31,69± 1,29	0,0077	40,71± 0,69	0,0506
RBC	7099000± 114283,70	0,0367	6572000± 138794,81	0,0367	5317000± 270637,31	0,0051	6306666± ± 1,12	0,0284	3923333± 499674,89	0,0077	3588888± 252990,14	0,0077	5292222± 284310,95	0,0077	6522222± 462405,48	0,1097
MCV	5481± 0,48	0,7989	54,83± 0,57	0,7989	54,8± 0,59	0,7671	56,64± 1,12	0,2135	56,3± 0,57	0,1386	64,58± 1,48	0,0077	63,19± 0,91	0,0077	58,38± 0,57	0,0077
MCH	19,21± 0,18	0,0244	19,91± 0,24	0,0244	19,54± 0,26	0,3081	20,11± 0,31	0,0440	19,87± 0,333	0,1073	21,87± 0,37	0,0077	20,69± 0,20	0,0077	20,6± 0,15	0,0280
MCHC	35,01± 0,16	0,0284	36,24± 0,55	0,0284	15,70± 0,45	0,2026	35,76± 0,45	0,1186	35,08± 0,31	0,6726	33,90± 0,24	0,0117	33,11± 0,39	0,0077	33,44± 0,18	0,0077
RDW	14,85± 0,41	0,5751	15,01± 0,31	0,5751	15,07± 1,69	0,2845	17,42± 0,69	0,0663	12,11± 0,28	0,0109	13,83± 0,46	0,1097	24,18± 1,69	-	21,73± 0,74	0,0077
PLT	635500± 28542,85	0,0926	701100± 76042,89	0,0926	654100± 20702,36	0,5751	550888± 59802,09	0,3139	188222± 28991,27	0,0077	679666± 46934,35	0,3743	962333± 15622,28	0,0077	545444± 22923,25	0,0077
MPV	5,21± 0,08	0,0284	10,61± 4,8	0,0284	5,80± 0,16	0,0069	5,53± 0,21	0,2936	6,30± 0,14	0,0077	6,23± 0,10	0,0077	6,49± 0,09	0,0077	5,64± 0,12	0,0173

Tablo 3: G-CSF -7 gün grubunun hematolojik parametrelerin ölçümleri ve bunların günler içindeki değişimlerinin başlangıç değeri Wilcoxon matched pairs testi ile kıyaslanmasının istatistiksel sonucu olan p değerleri sunulmaktadır.

Hb ölçümünde başlangıç değeri ort 13,62(12,5-14,5)gr/dL olan bu grubun, 3.günde (p=0,12213) ile istatistiksel anlamlı farklılık görülmez iken, KT sonrasında 9. (p=0,0077), 12. (p=0,0077), 15. (p=0,0077) ve 18.günde. (p= 0,0077) istatistiksel anlamlı olarak anemi devam etmiştir. 30.günde ise bu anemi sonlanmıştır. En derin anemi KT sonrasında 8.günde, çalışma ise 15.gününde oluşmuş ve Hb ortalama değeri 7,79 gr/dl bulunmuştur. Grafik 1’de bu seyir kıyaslamalı olarak sunulmuştur.

Htc değerlendirmesinde 0.günde ort % 38,93 iken ilerleyen günlerde bu oran anemiyle uyumlu şekilde sürekli azalmış ve 12.gün ölçümü dışındaki günlerde istatistiksel anlamlı bir azalış gösterilmiştir (p<0,05). Grafik 2’de görüldüğü gibi.

MCV ölçümünde KT sonrasında 8.günde dolayısıyla çalışmanın 15.gününden itibaren istatistiksel anlamlı olan bir artış göstermiştir. Yani başlangıçta MCV 54,81 (53,2-57,3)fL iken, 15.günde 64,58fL (p=0,0077) bulunmuştur bu en yüksek değerdir. Daha sonraki 18.gün ve 30.gün ölçümlerinde eritrosit volümünün yüksek olduğu gözlenmiştir (p=0,0077). Grafik 3’de açık olarak bu değişiklikler gösterilmektedir. Bu sonuçlar kontrol grubu ve 2.grup ilede uyumlu değişikliklerdir. PY’da makrositlerin hakim olduğu izlenmiştir.

MCH ölçümü kararsız bir durum sergilemiş, 3 ve 9.günde başlangıca kıyasla önemli bir artma gözlenirken, 15.ve 18.günde (p= 0,0077), 30.günde (p= 0, 0280) bu artış kararlı olarak sürmüştür. 0.günde 19,21(18,3-20)pg ölçümü ile çalışmaya başlamış ve 30.günde ise 20,06(19,6 - 21)pg ile çalışma sonlandırılmıştır.

MCHC 15.güne kadar stabil seyretmektedir. KT’nin 8.günden itibaren, çalışma sonuna kadar ise 0.gün MCHC 35,01(35-35,7)gr/dL iken, 15.günde 33,9 gr/dL, 30.günde ise 33,4gr/dL bulundu. Bu azalış istatistiksel anlamlı idi (p=0,117, p= 0,0077).

RBC izleminde 0.gün ölçümü 7099000(6290000-7800000)/ $\mu$ L bulunup, daha sonraki tüm ölçümlerde 30.gün dışında, istatistiksel anlamlı azalma tespit edilmiştir. KT sonrasında ise bu azalış daha belirgin olmuştur. En derin azalma ise 15.günde olmuş ve RBC sayımı ort 3588888/ $\mu$ L bulmuştur. 30.günde ise anlamlı olmayan ama kolay izlenebilen bir artış bulmuştur. Bütün bu ölçümlerde (p<0,05) görüldü. Grafik 4’de sunulmaktadır.

RDW değerlendirmesinde ise 12.günde ( $p=0,0109$ ) ile belirgin artış izlenirken, 15.günde bu düzelmiş ( $p=0,1097$ ), 18 ve 30.gün ölçümlerinde ise yeniden artışla kendini göstermiştir ( $p=0,0077$ ). PY'da ise anisositoz, poikilositoz ve makrositoz hakimiyeti izlenmiştir. RDW'de başlangıç ölçümü %14,85 iken, 18.günde en yüksek değerine ulaşmış ve % 27,18 bulunmuştur.

PLT sayımı ve MPV değişiklikleride kısmen 2.grup ile paralel seyrederken kontrol grubuna kıyasla daha makul sınırlarda seyretmiştir. PLT çalışma başlangıcında  $635500(492000-753000)/\mu\text{L}$  bulunmuş 12.güne kadar (KT sonrası 5.gün) kararlı bir düzeyde devam etmiş ve başlangıca oranla farklılık göstermemiştir. 12.gününde en derin trombositopenik dönemi oluşmuş ve  $188222/\mu\text{L}$  bulunmuştur,  $p=0,0077$  ile istatistiksel anlamlı azalma gösterilmiştir. 15.günde başlangıç değerine yakın sonuçlar alınırken 18. ve 21.gün ölçümlerinde belirgin trombositoz görülmüş ve ortalama değeri  $900000/\mu\text{L}$  üstünde seyrederek ve başlangıca oranla istatistiksel anlamlı artışı içeren reaktif trombositoz gözlenmiştir. ( $p=0,0077$  ve  $p=0,0077$ ). Grafik 5'de bu farklılıklar açık olarak sunulmuştur.

MPV çalışmanın ilk günlerinde  $5,21(4,9-5,6)\text{fL}$  ölçülürken G-CSF verilirken KT olmadığı halde MPV değeri maximum düzeye ulaşmış ve  $10,61\text{fL}$  bulunmuştur. Diğer günlerde hafif artışlar olmuştur. KT sonrası ise bu artış belirginleşmiş, 30.günde ise halen dev trombositlerle seyreden bir PY tablosu oluşmuştur. Anlamlı p değerleri ile MPV'deki artış tüm günlerde gösterilmiştir (Tablo 3)

WBC değerlendirmesi bu grup çalışmanın en önemli amacıydı. Çünkü G-CSF bu amaçla üretilen bir hemopoetik growth faktördü. 0.günde WBC değerlemesi  $11540(6700-23500)/\mu\text{L}$  bulunmuştur. KT almadan önce geçirilen 7 gün içinde G-CSF'nin doğal etkisi ile WBC sayısında istatistiksel olarakta gösterilen anlamlı bir artış olmuştur. 3.günde  $21000/\mu\text{L}$  ( $p=0,0218$ ), 6.günde  $16970/\mu\text{L}$  ( $p=0,0367$ ) bulunmuştur. 8.günde KT uygulandıktan sonraki ilk ölçümde 9.günde WBC sayımı 3ve6.güne kıyasla azalmış ancak başlangıç değerine kıyasla değişmemiştir ( $p=0,1097$ ). Daha sonra ise bu azalış devam etmiş KT'nin 6.gününde, çalışmanın ise 12.gününde en derin nötropeni oluşmuş ve ort WBC sayısı hızla yükselmiş ve  $21844/\mu\text{L}$  ölçülmüş yani başlangıca kıyasla anlamlı yüksek değere ulaşmıştır

( $p=0,0209$ ), 18.gündede yüksek WBC sayısı  $30833/\mu\text{L}$  ile  $p= 0,0077$  olacak şekilde yüksek bulundu. 30.günde çalışma sonunda ise normal WBC sayısına indi ve ort  $8133/\mu\text{L}$  ile kararlı seyirini sürdürmüştür ( $p= 0,1097$ ).

Bütün bunların anlamı ise G-CSF ile KT öncesi WBC sayı artışı sağlamış, KT sonrasında 3 gün süren kısa bir nötropeni süresi geçirilmiş, daha sonra ise WBC sayı artış yaşanmış, 30.günde kararlı, başlangıç değerine ulaşılmıştır (grafik6).

Kontrol grubu ile kıyaslandığında bütün ölçümlerde (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 30) WBC sayısı kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Yani yararlı bir etki sağlamıştır. Nötropeni daha hafif olarak WBC ortalama değeri olan (510'na kıyasla 1511 ile) geçirilmiş hemde nötropeni süresi çok kısa sürmüştür. (9 güne kıyasla 3 gün). Bütün bunlar G-CSF'nın gerekliliğini göstermektedir. Ancak çalışmanın esas noktasını oluşturan KT öncesi verilmesi ile KT sonrası verildiğindeki etkisi kıyaslanınca; 3.grubun (yani KT önce verilmesi), KT sonrası verilerek (2.grup) üstünlüğü izlenmiştir. Bu üstünlük nötropeni süresinde olmayıp her iki grupta da 3 gün sürmüştür. Üstünlük nötropeni derinliğindedir. +7 gün grubunda WBC en derin nötropeni döneminde ort  $1110/\mu\text{L}$  ölçülürken, -7 gün grubunda (3.grupta)  $1510/\mu\text{L}$  ölçülmüş ve bunlar Mann Whitney U testi kıyaslandığında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur ( $p= 0, 0001$ ).

#### **V-A4: Grup 4: GM-CSF +7 Gün Grubu sonuçları:**

Bu çalışma grubunun ölçülebilen hematolojik parametrelerindeki değişiklikler ve istatistiksel değerlendirmeleri tablo 4'de sunulmuştur.

Hb izlamında başlangıçta  $14,2(13,4-15,1)\text{gr/dL}$  olan ölçümler; KT verilmesi, ardından 7 gün süreyle GM-CSF uygulamasına rağmen anemi gelişimi devam etmiştir. Giderek Hb değeri düşmüş ve 9.günde  $8,41\text{gr/dL}$  değeri ile en derin anemi oluşmuştur. Ardından yükselmeye başlar ve 30.günde yani çalışmanın sonunda normal başlangıç değerlerine ulaşılmıştır (Grafik 1). Hb ölçümlerinde 0.güne kıyasla diğer çalışma günlerinden 3,6,12,15,18.günler istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu gösterilmiştir ( $p= 0,0077$ ). Sadece 30.günde iyileşme tam olarak sağlanmış ve  $p=1,0000$  bulunmuştur. PY'da hipokromik eritrositler izlenmiştir.

**GRUB 4: GM - CSF +7 GÜN GRUBU HEMATOLOJİK ÖLÇÜMLERİ VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRİLMESİ**

	0. gün		0 ile 3. gün		0 ile 6. gün		0 ile 9. Gün		0 ile 12. gün		0 ile 15. gün		0 ile 18. gün		0 ile 30. gün	
	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P
WBC	14850 ±	0,0051	1922 ±	0,0077	18400 ±	0,0858	21788 ±	0,077	23466 ±	0,2607	18000 ±	0,1386	6611 ±	0,0109		
	1341,74	161,55	276,27		896,60		1441,69		5551,80		1335,62		1312,80			
Hb	14,20 ±	0,051	8,84 ±	0,0077	8,41 ±	0,0077	10,13 ±	0,0077	11,46 ±	0,0077	12,51 ±	0,0077	14,16 ±	1,0000		
	0,15	0,22	0,98		0,63		0,46		0,52		0,20		0,14			
Htc	40,42 ±	0,0051	25,63 ±	0,0077	23,72 ±	0,0077	29,74 ±	0,0077	33,8 ±	0,0077	37,23 ±	0,0077	44,18 ±	0,0077		
	0,45	0,76	2,36		1,86		1,55		1,52		0,64		0,54			
RBC	7458000 ±	0,0051	4648888 ±	0,0077	3731222 ±	0,0077	4187777 ±	0,0077	5042222 ±	0,0077	5785555 ±	0,0077	6055555 ±	0,0077		
	123358,56	153906,54	397724,24		542215,20		251162,73		306099,01		192390,74		169378,86			
MCV	54,18 ±	0,6784	55,18 ±	0,3433	59,57 ±	0,0077	67,71 ±	0,0077	63,61 ±	0,0077	61,71 ±	0,0077	59,24 ±	0,0077		
	0,46	0,61	0,61		0,59		1,34		0,59		0,46		0,30			
MCH	19,05 ±	0,2845	20,22 ±	0,0077	21,06 ±	0,0077	21,69 ±	0,0077	21,52 ±	0,0077	21,01 ±	0,0077	20,14 ±	0,0077		
	0,14	0,39	0,26		0,15		0,37		0,21		0,16		0,14			
MCHC	35,14 ±	0,0593	35,37 ±	0,9528	35,17 ±	0,9528	32,83 ±	0,0077	33,67 ±	0,0109	33,88 ±	0,0330	33,43 ±	0,0077		
	0,23	0,67	0,50		0,29		0,21		0,21		0,16		0,17			
RDW	15,07 ±	0,0284	13,20 ±	0,0173	13,56 ±	0,0109	27,60 ±	0,0077	26,26 ±	0,0077	21,99 ±	0,0077	-	0,0077		
	0,23	0,16	0,46		0,22		1,98		1,25		0,64		0,48			
PLT	603600 ±	0,0093	240888 ±	0,0109	647111 ±	0,5147	833888 ±	0,0077	881777 ±	0,0109	1880777 ±	0,0077	878666 ±	0,0109		
	36593,62	41889,55	29675,30		71884,83		36572,40		34227,90		959059,40		49179,38			
MPV	5,36 ±	0,8336	5,72 ±	0,3139	6,40 ±	0,0077	5,74 ±	0,1097	6,058 ±	0,0077	6,16 ±	0,0117	6,11 ±	0,0663		
	0,10	0,08	0,30		0,13		0,60		0,08		0,15		0,52			

Tablo 4: GM-CSF +7 gün grubunun hematolojik parametrelerin ölçümleri ve bunların günler içindeki değişimlerinin başlangıç değeri Wilcoxon matched pairs testi ile kıyaslanmasının istatistiksel sonucu olan p değerleri sunulmaktadır.

Htc değerlendirmesi Hb ölçümlerine paralel seyretmiştir. Htc ölçümlerinde başlangıçta %40,42 (38,5-42,7) bulunurken, 9.günde en az değerine ulaşmıştır (% 23,72). 3, 6, 9, 12, 15, 18.gün ölçümleri 0.güne kıyasla anlamlı istatistiksel azalma gösterirken 30.günde tamamen düzelmiş hatta daha yüksek sınırlara ulaşmış (% 44,18) ve bu yükselişte istatistiksel anlamlı bulunmuştur (p=0,0077). Grafik 2’de günler içindeki değişiklik görülmektedir.

MCH çalışma başlangıcında 19,05(18,3-19,8) pg ölçülmüş, sonraki günlerde düzenli bir artış göstermiştir, daha sonra kararlı durum gösterip 30.günde halen başlangıca oranla yüksek olarak 20,14 pg olarak devam etmiştir. 0.güne kıyasla 6.günden itibaren tüm ölçümlerde aynı p değeri ile (p= 0,0077) istatistiksel anlamlı yükseklik bulunmuştur. Ancak bu grupların kendi aralarındaki kıyaslamalar anlamlı farklılık içermemiştir.

MCHC değerlendirmesinde değişiklikler 12.günden itibaren başlamıştır. 0.günde 35,14(34,1-36) gr/dL olan MCHC değeri; en önemli azalışını 12.günde 32,8gr/dL değeri ile oluşturmuştur (p=0,0077). 15.günde p=0,0109, 18.günde p=0,0330 ve 30.günde p=0,0077 ile bu anlamlı düşük ölçüm devam etmiştir. PY’de ise makrositlerin ve normal eritrositlerin olduğu, hipokrominin izlendiği teyit edilmiştir.

MCV, KT uygulanımından sonraki 9.günden itibaren belirgin bir artış göstermiş ve bu artış istatistiksel olarak aynı p değeri ile (p= 0,0077) 30.güne kadar devam etmiştir. Başlangıçta 54,18(51,9-56,6)fL olan MCV değeri 12.günde en yüksek sınırına ulaşmış ve 67,71fL bulunmuştur. Bu PY’ya belirgin makrositoz olarak yansımıştır. Grafik 3’de MCV değeri değişiklikleri sunulmaktadır.

RBC değişimi önce sunulan 3 grupta aynı şekilde olup, ilk günden sonraki bütün ölçümlerde azalış devam etmiştir. (Grafik 4) İlk gün RBC ölçümü 7458000 (6910000-8220000/ $\mu$ L bulunmuş ve daha sonra en düşük seviyesine 9.günde 3731222 değeriyle ulaşmıştı. Bu değer kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı yüksekliği (p=0,0106). Yani GM-CSF RBC sayımı (anemi) üzerinde olumlu olarak önleyici etkisi söz konusuydu. Ancak grup 2 ve 3 ile kıyaslandığında anlamlı

farklılık yoktu. 0.güne kıyasla 3.günde  $p=0,0051$  ile 6, 9, 12, 15, 18, 30.günlerde ise  $p= 0,0077$  ile istatistiksel farklılık göstermiştir.

RDW değerlendirme daha önceki 3 grupta olduğu gibi seyretmiştir. KT sonrasında RDW oranı azalmıştır. 0.günle 3,6,9.gün ölçümleri kıyaslandığında istatistiksel anlamlı olarak RDW azalma çıkmıştır. Başlangıçta; RDW %15,07 iken, 6 ve 9.günde %13,2 bulunmuştur. Ardından 12,15,18,30.günlerde RDW oranı belirgin yüksek çıkmıştır. Özellikle 12.günde en yüksek değeri alan %27,6'ya ( $p= 0, 0077$ ) ulaşmıştır. 30.günde ise hâlâ %21 olarak seyretmiştir ( $p= 0,0077$ ). PY'de anisositoz, poikilositoz belirgin izlenmiştir.

Trombositopeni ve trombopoez üzerinde GM-CSF etkisi ise yine PLT sayımı değerlendirilmesinde açık olarak görülmüştür. KT öncesinde ortalama PLT sayısı 603600 (3414000-717000)/ $\mu$ L olarak ölçülmüştür( $p=0,0109$ ). 9 günde normal sınırlara ulaşmış ( $p=0,5147$ ), ardından da başlangıç değerinden daha yüksek PLT sayılarına çıkmıştır. Yani KT ve GM-CSF sonrası erken dönemde trombositoz oluşmuştur. 12.günden itibaren oluşan trombositoz hali istatistiksel olarakta, anlamlı bulunmuştur ( $p=0,0077$ ). 15.günde  $p=0,0109$ , 18.günde  $p=0,0077$ , 30.günde ise  $p=0,0109$  bulundu. Trombositopeni kontrol grubu ile kıyaslanması daha kısa süreli ve daha hafif seyirlidir. PLT sayısı kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olarak seyretmiştir. Grafik 5'de görüldüğü gibi. GM-CSF PLT iyileşmesinde, trombositopeniden korunmada da etkilidir.

MPV ölçümleri kararsız bir durum sergilemiştir. MPV'de diğer gruplarda olduğu gibi KT sonrası artış olmuştur. Bu artış 9.günde belirgin olup  $p=0,0077$  ve 18.günde  $p=0,0117$  yine yüksek değerlerde seyretti. Ancak 30.günde başlangıç sınırlarındaydı. MPV ilk gün 5,36(5-5,9)fL ölçülmüş, en yüksek değere 9.günde ulaşmış ve MPV 6,40fL bulunmuştur.

GM-CSF, hematopoezi yönlendiren Kİ'ndeki mikroçevrede granülositer seri üzerindeki en önemli growth faktördür. Bu nedenle en önemli etkisini WBC üzerindeki değişimde gösterir. WBC'in 0.gündeki KT öncesi ölçümü ortalaması 14850(9700-24000)/ $\mu$ L bulunmuştur. Daha sonra 7 gün süresinde GM-CSF verilmeye devam edilmiştir. Bu süre içinde 3.günde 1010/ $\mu$ L WBC değeri ile en

derin n6tropeni d6nemi oluşmuştur ( $p= 0,0051$ ). 6.g6nde bu n6tropeni 1922 / $\mu$ L ile devam etmiştir ( $p= 0,0077$ ). Daha sonra ise WBC sayısı tamamen normale d6nm6ř ve istatistiksel olarakta farklılık g6sterilemeyen normal sınırlarda WBC sayımı yapılmıştır. Bu grupta n6tropeni kontrol grubuna kıyasla belirgin olarak y6ksek WBC sayımı ile seyretmiş olup, GM-CSF n6tropeniye 6nlemede etkin olarak rol almıştır ( $p= 0,0010$ ). GM-CSF +7 g6n grubu kontrol grubundan 6st6nd6r, ancak G-CSF +7 g6n grubu ile kıyaslandığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı olan bir farklılık g6r6lememiştir ( $p=0,1342$ ). Grafik 10'da da a4ık olarak g6r6ld6đđ gibi. N6tropeni s6resi kontrol grubuna kıyasla GM-CSF +7 g6n olan grupta belirgin olarak daha kısa s6rm6řt6r (3 g6ne karşın 9 g6n). (grafik 6)

#### V-A5: GM-CSF -7 g6n grubu sonu4ları:

Bu 4alışma grubunun hemotolojik parametreleri ve istatistiksel değerlendirilmeleri Tablo 5'de sunulmuştur.

4alışmamın ilk g6n6nden itibaren 7 g6n s6resince s.k. GM-CSF verilen ratlara 8.g6n siklofosfamid ile KT uygulanmıştır. Değerlendirmede başlangı4 Hb değer 13,74 gr/dL 6l46lm6ř 3 ve 6.g6nde bu değer stabil seyretmiş istatistiksel farklılık izlenmemiştir ( $p=0,9057$ ,  $p=0, 4148$ ). 9.g6nde ise  $p= 0,0069$  ile anlamlı azalma başlamıştır. 15.g6nde en derin anemi gelişmiş, 30.g6nde ise anemi d6zelmiştir ( $p=0,1141$ ). Hb izleminin 3.grup ile korele olduğu g6r6lmektedir. Anemi kontrol grubuna kıyasla daha kısa s6rm6ř ve daha hafif olarak ge4irilmiştir. En derin anemi 8,34gr/dL Hb 6l46m6yle seyrederken, kontrol grubunda bu orana yakın seyretmiştir (Grafik 1).

Htc değerleride 9.g6nden itibaren azalmış, 30.g6nde ise normale d6nm6řt6r. Başlangı4ta %39,4 olan Htc 15.g6nde %23 ile en azalmış d6zeyi ge4irmiştir. 9.g6nde  $p= 0,0093$ , 12.g6nde  $p= 0,0051$ , 15.g6nde  $p=0,0077$ , 18.g6nde  $p= 0, 0109$  bulunmuştur. Bu azalma ve iyileşme d6nemleri Hb değer 6le paraleldir. Ayrıca G-CSF -7 g6n grubu ile (3.grup) paralel seyretmiştir. Kontrol grubuna 6st6nl6đđ net olarak g6zlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Grafik 2 g6nl6k seyiri sunulmaktadır

GRUB 5: GM - CSF - 7 GÜN GRUBU HEMATOLOJİK ÖLÇÜMLERİ VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRİLMESİ

	0. gün		0 ile 3. gün		0 ile 6. gün		0 ile 9. Gün		0 ile 12. gün		0 ile 15. gün		0 ile 18. gün		0 ile 30. gün	
	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P
WBC	8990 ±	0,0051	23,640 ±	0,0051	18220 ±	0,0051	2750 ±	0,0051	1520 ±	0,0051	18500 ±	0,0051	20,850 ±	0,0051	6866 ±	0,0663
Hb	55,07	0,9057	1542,74	0,4148	1072,67	0,0069	36705	0,0069	113,33	0,0051	2249,69	0,0051	1856,42	0,0051	667,50	0,1141
Hic	13,74 ±	0,9057	13,38 ±	0,4148	13,38 ±	0,0069	11,49 ±	0,0069	9,92 ±	0,0051	8,34 ±	0,0051	10,29 ±	0,0051	13,30 ±	0,1141
	0,26	0,9057	0,19	0,4148	0,26	0,0069	0,33	0,0069	0,36	0,0051	0,32	0,0051	0,33	0,0051	0,28	0,1141
	39,44 ±	0,0469	37,07 ±	0,0469	38,24 ±	0,3590	33,122 ±	0,0093	28,15 ±	0,0051	23,83 ±	0,0077	31,27 ±	0,0109	38,88 ±	0,2863
	0,78	0,0469	0,57	0,0469	0,71	0,0093	0,73	0,0093	0,91	0,0051	0,99	0,0077	0,96	0,0109	0,82	0,2863
RBC	7248000 ±	0,1141	6649000 ±	0,1141	6121000 ±	0,0745	5775000 ±	0,0093	5073000 ±	0,0051	4113333 ±	0,0077	4985555 ±	0,0077	6146666 ±	0,0152
	161119,69	0,7989	268404,55	0,7989	691842,07	0,0415	182045,48	0,0415	165214,0	0,1731	196129,21	0,1731	173822,32	0,1731	258548,30	0,0382
MCV	54,41 ±	0,7989	54,20 ±	0,7989	55,90 ±	0,0415	55,75 ±	0,1141	55,68 ±	0,1731	50,59 ±	0,1731	63,92 ±	0,0077	58,02 ±	0,0382
	0,56	0,7989	0,38	0,7989	0,43	0,0415	0,48	0,1141	0,59	0,1731	6,28	0,1731	1,27	0,0077	1,08	0,0382
MCH	18,99 ±	0,0745	19,99 ±	0,0745	20,06 ±	0,0077	19,94 ±	0,0249	19,64 ±	0,0469	20,51 ±	0,0117	20,9 ±	0,0209	19,50 ±	0,2604
	0,26	0,0745	0,27	0,0745	0,28	0,0077	0,20	0,0249	0,25	0,0469	0,25	0,0117	0,48	0,0209	0,35	0,2604
MCHC	34,83 ±	0,0051	36,84 ±	0,0051	35,18 ±	0,3329	35,73 ±	0,0831	35,26 ±	0,1731	34,40 ±	0,2604	32,18 ±	0,0077	33,12 ±	0,0382
	0,30	0,0051	0,34	0,0051	0,15	0,3329	0,12	0,0831	0,20	0,1731	0,17	0,2604	0,33	0,0077	0,37	0,0382
RDW	14,83 ±	0,0687	16,06 ±	0,0687	17,73 ±	0,0077	13,52 ±	0,0125	12,433 ±	0,0051	14,03 ±	8,0858	28,43 ±	0,0077	23,74 ±	0,0077
	0,40	0,0687	0,29	0,0687	0,54	0,0077	0,09	0,0125	0,20	0,0051	0,22	8,0858	1,62	0,0077	2,19	0,0077
PLT	624000 ±	0,5076	666000 ±	0,5076	641834 ±	0,3139	643400 ±	0,8785	156100 ±	0,0069	605222 ±	0,5940	961111 ±	0,0077	795888 ±	0,0077
	51245,16	0,5076	40306,33	0,5076	81594,39	0,3139	19692,75	0,8785	30197,66	0,0069	50455,09	0,5940	17234,05	0,0077	64439,34	0,0077
MPV	4,97 ±	0,0108	5,29 ±	0,0108	5,55 ±	0,1117	5,47 ±	0,0077	5,85 ±	0,0051	6,47 ±	0,0051	6,37 ±	0,0051	5,62 ±	0,0077
	0,06	0,0108	0,007	0,0108	0,14	0,1117	0,08	0,0077	0,15	0,0051	0,13	0,0051	0,08	0,0051	0,08	0,0077

Tablo 5: GM-CSF - 7 gün grubunun hematolojik parametrelerin ölçümleri ve bunların günler içindeki değişimlerinin başlangıç değeri Wilcoxon matched pairs testi ile kıyaslanmasının istatistiksel sonucu olan p değerleri sunulmaktadır.

MCH ölçümlerindeki değişiklik 0.güne kıyasla 3,6,12,15,18.günlerde anlamlı farklılıklar göstermiştir. 0.günde 18,9(17,7-20,6)pg ölçülen MCH değeri, kararlı olarak daha sonraki tüm günlerde yüksek seyretmiştir. En yüksek değerine 20,9pg ile 18.günde ulaşmıştır (p=0,0209). Diğer günlerdeki farklılıkları ve p değerleri tablo 5’de izlenmektedir.

MCHC kararsız bir izlem göstermiştir. 0.günde 34,83(33,1-35,9)gr/dL değerinde iken 3.günde 36,84 gr/dL yükselmiş (p=0,0051), 18.günde ise 32,83 gr/dL azalmış, p=0,0077 bulunmuştur. Diğer günlerde ise istatistiksel anlamlı farklılık görülmemiştir.

MCV ölçümleride başlangıçta 0-15 günler arasında kararlı bir durum sergilemiştir. 0.günde 54,41(52,4-57,4)fL ölçülmüştür. KT’dan 10 gün sonra, çalışmamızı ise 18.gününde en yüksek değerine 63,92fL’ye ulaşmış, 30.gündede MCV yüksekliği devam etmiştir (p=0,0077 ve p=0,0382). Grafik 3’de bu değişiklikler sunulmaktadır. PY’da makrositöz 18.günden itibaren görülmüştür.

RDW 0.günde %14,83(13,1-16,6) iken, 6.günde %17,73 ile başlangıca oranla anlamlı istatistiksel yüksekliğe ulaşmıştır (p=0,0077). En yüksek RDW değeri ise 18.günde %28 ile ulaşılmıştır (p=0,0077). Diğer günlerde de bu kararlı yükseklik devam etmiştir (Grafik 4). PY bulgularında bu değerlendirmeleri destekler niteliktedir.

PLT sayımı ve trombositogenez izlemi GM-CSF grubu için WBC sayımı kadar önemlidir. Granülositler seri için etkin growth faktör olan GM-CSF, PLT iyileşmesi veya trombositopeninin önlenmesi karşısında G-CSF’de daha etkin olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca KT öncesi verilmeside farklılık doğurabilirdi. Bu nedenle dikkatlice yapılan ölçümlerde; PLT 0.günde ortalama 624000 (201000 - 763000)/ $\mu$ L ölçülmüştür. 3,6,9.günlerde kararlı bir seyir gösterip istatistiksel anlamlı farklılık görülmemiştir. KT sonrasında 6.günde PLT sayımı 156100/ $\mu$ L ölçülmüş ve en ciddi trombositopenik dönemi olmuştur (p=0,0069). Daha sonra PLT sayımı hemen yükselmiş 15.günde normal sınırlara ulaşmıştır. 18.gün ve 30.gün ölçümlerinde ise reaktif bir trombositöz gözlemi istatistiksel anlamlı

yükseklik saptanmıştır ( $p=0,0077$ ). Grafik 5'de PLT seyri, diğer gruplarla kıyaslamalı olarak izlenmektedir.

MPV 0.günde  $4,97(4,7-5,2)$ fL ölçülmüş daha sonraki günlerin 3, 6, 9, 12, 15, 18, 30.günlerde hep başlangıca kıyasla yüksek seyretmiştir. Bu yüksek seyretme istatistiksel olarakta anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Tablo 5). Ayrıca en yüksek değeri 15.günde ve  $6,49$ fL olarak ölçülmüştür. PY'da dev trombositler ve trombosit kümeleri görülmüştür.

WBC değişimi bu grubun çalışılmasındaki esas amaçtır. Çünkü GM-CSF'nin en önemli etkisi periferik kana akan nötrofil sayısı üzerindedir. Yani Kİ'den uyarılan ve olgunlaştırılması hızlandırılarak nötrofillerin periferik dolaşıma çıkması sağlandı. Bu amaçlarda KT öncesinde 7 gün uygulanan GM-CSF'nin bu olgunlaşma sürecini hızlandırdığı ve daha etkin olarak nötropeniye önleyebileceği düşünüldü ve bu istatistiksel olarakta gösterildi. Bu durumdaki WBC değişim şu şekilde seyretmiştir: 0.günde WBC ort değeri  $8990(6500-2400)/\mu\text{L}$ , 3.günde WBC ort değeri  $23640/\mu\text{L}$  çıkararak istatistiksel olarakta anlamlı olan bir yükselme sağlamıştır,  $p= 0,0051$ . Aynı yükseliş  $18220/\mu\text{L}$  değeri ile 6.gündede olmuştur ( $p=0,0051$ ). KT 8.günde verilmiş ve 9.günde  $2750/\mu\text{L}$  değeri ile istatistiksel anlamlı düşüş ile nötropeni oluşmuştur,  $p= 0,0051$ . Daha sonra 12.günde en derin nötropeni  $1520(900-200) /\mu\text{L}$  ile oluşmuş ve p değeri yine  $0,0051$  olarak hesaplanmıştır. Bu en derin nötropeni dönemi KT sonrası 5.günde oluşmuş ve 3 gün sürerek yeniden normal sınırlara, 15.gündeki ölçümlerde döndüğü, hatta nötrofili olduğu ( $18500/\mu\text{L}$ ) görüldü ve bu yükselişte istatistiksel anlamlıydı  $p= 0,0051$ . Ardından 18 gün yine nötrofili tespit edildi ve bu istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p=0,0051$ ). 30.günde ise normal sınırlara dönmüştür,  $p= 0, 0663$ .

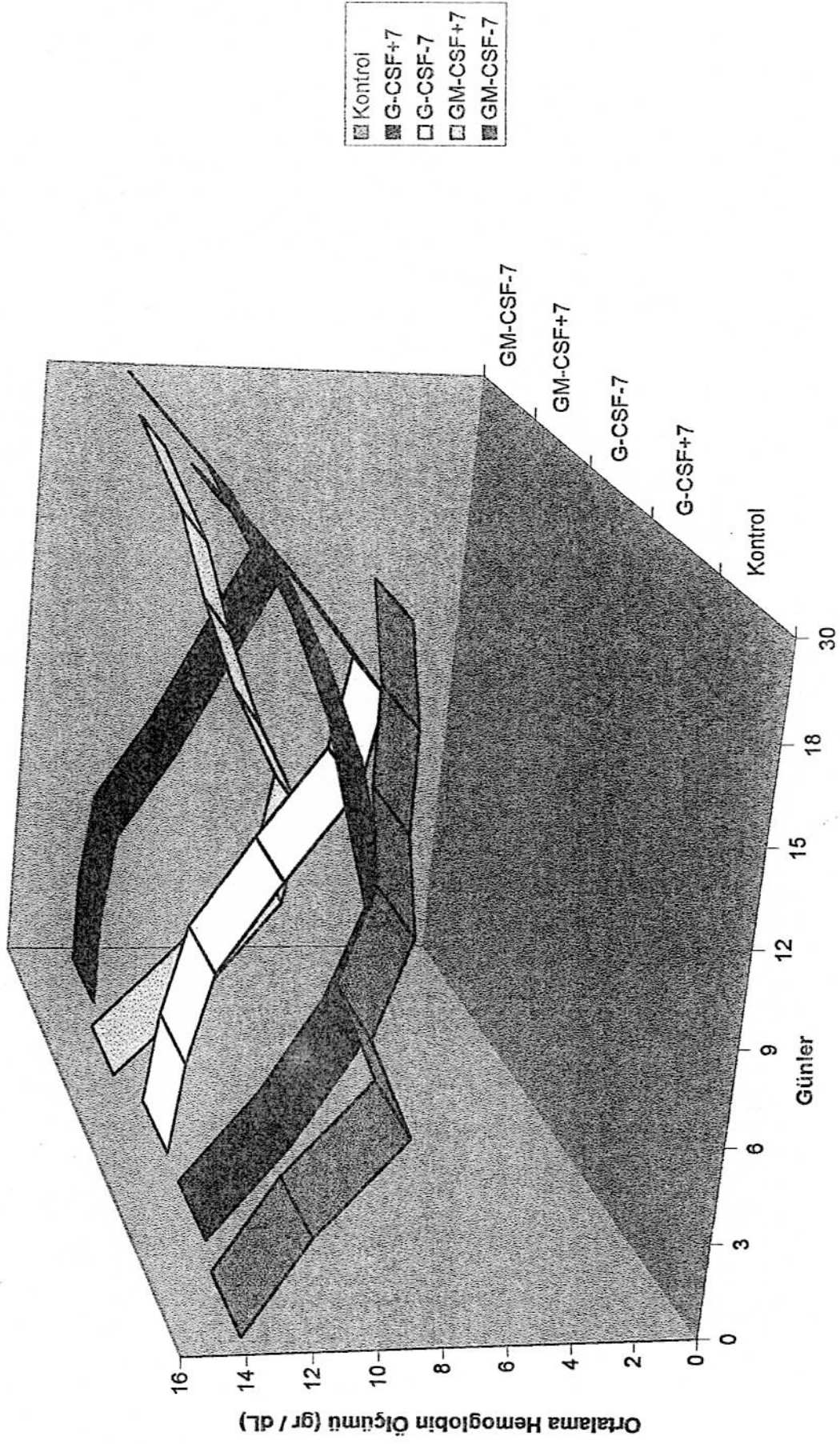
En önemli kıyaslamayı ise GM-CSF +7 gün alan 4.grup ile GM-CSF -7 gün olan 5.grup arasında en derin nötropeni dönemindeki yapılan karşılaştırma oluşturuyordu. 4.grupta en derin nötropeni dönemindeki WBC sayısı ortalama  $1010/\mu\text{L}$  ölçülmüştü, aynı dönemde 5.grubun WBC sayısı ise  $1520/\mu\text{L}$  idi. İki değer Mann Whitney U testi ile kıyaslandığında  $p=0,0232$  ile istatistiksel anlamlı farklılık oluştu. Bunun anlamı, GM-CSF KT öncesinde -7 gün uygulaması, KT sonrası +7

gün uygulamasından daha etkin olarak nütropeniye önüyor ve denekler mutlak nütropeniye girmiyordu. En iyi ve etkin uygulama KT öncesinde growth faktör verilmesi ile oluşmaktadır. Bu kural G-CSF -7 gün ve +7 gün kıyaslamasında da bulunmuştur. Bu ifadeler Grafik 6'da görsel olarak sunulmuştur.

Sonuç olarak GM-CSF -7 ve +7 gün grupları, G-CSF -7 ve +7 gün grupları kontrol grubunda üstün olarak nütropeniye önlemektedir. Ancak GM-CSF -7 gün, +7 gün grubunda, G-CSF -7 gün grubu, +7 gün grubunda daha etkin olarak nütropeniye önlemektedir.

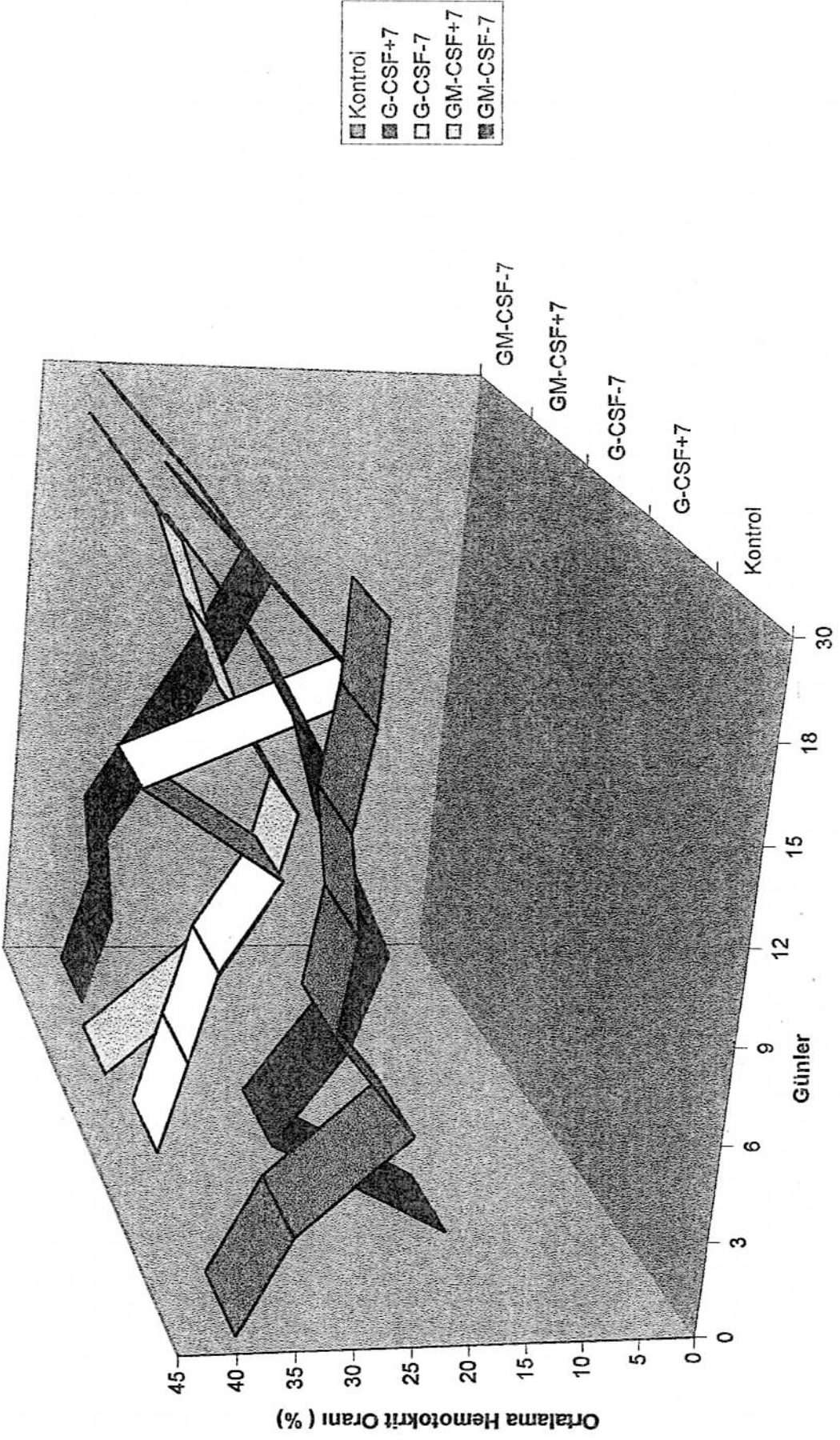
**Grafik 1:**

**Grup 1-2-3-4-5 Hemoglobin Değerleri İzlemi**



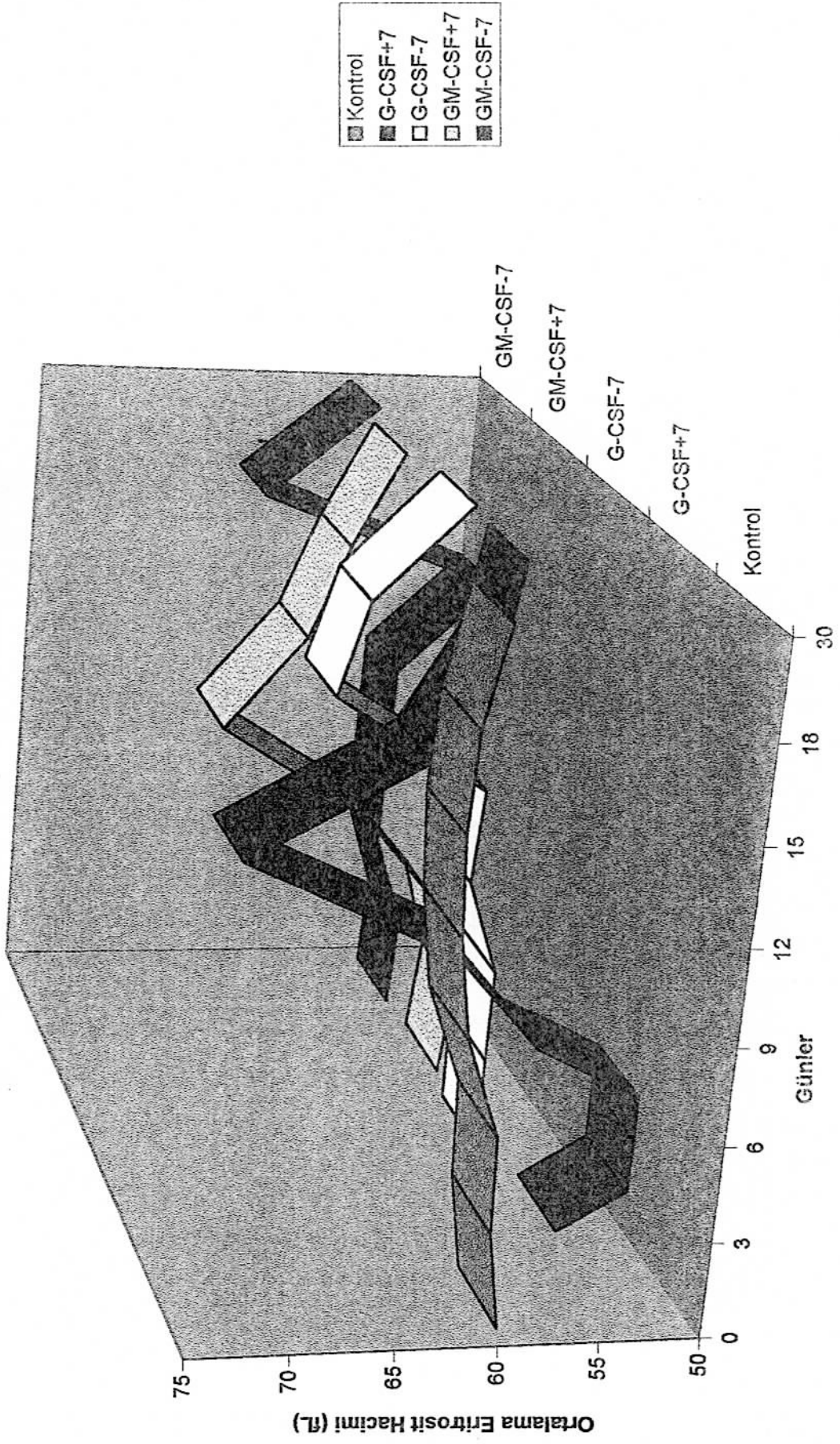
**Grafik 2:**

**Grup 1-2-3-4-5 Hemotokrit Değerleri İzlemi**



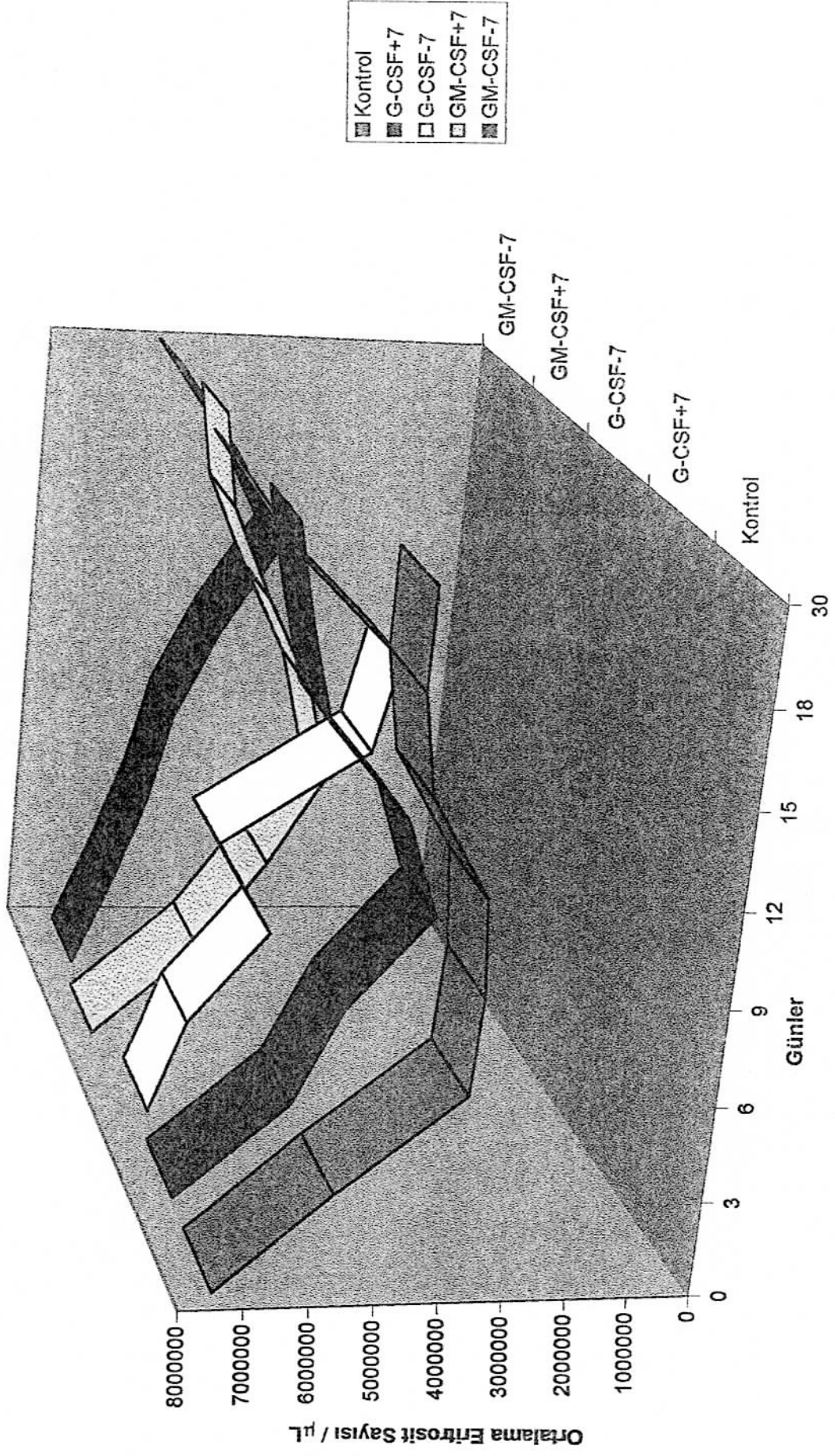
**Grafik 3:**

**Grup 1-2-3-4-5 Ortalama Eritrosit Hacimi (MCV) İzlemi**



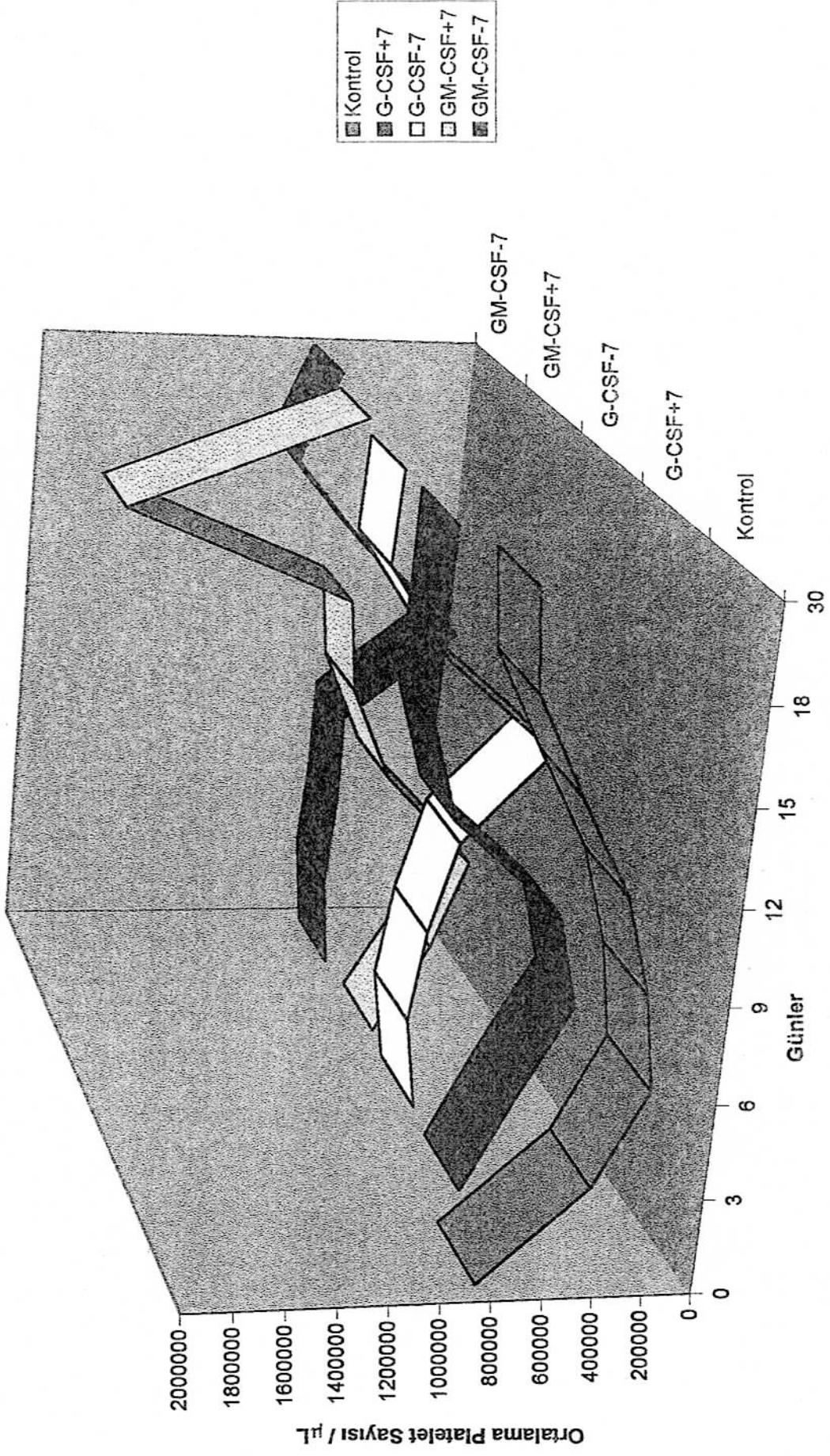
**Grafik 4:**

**Grup 1-2-3-4-5 Eritrosit Sayısı (RBC) İzlemi**



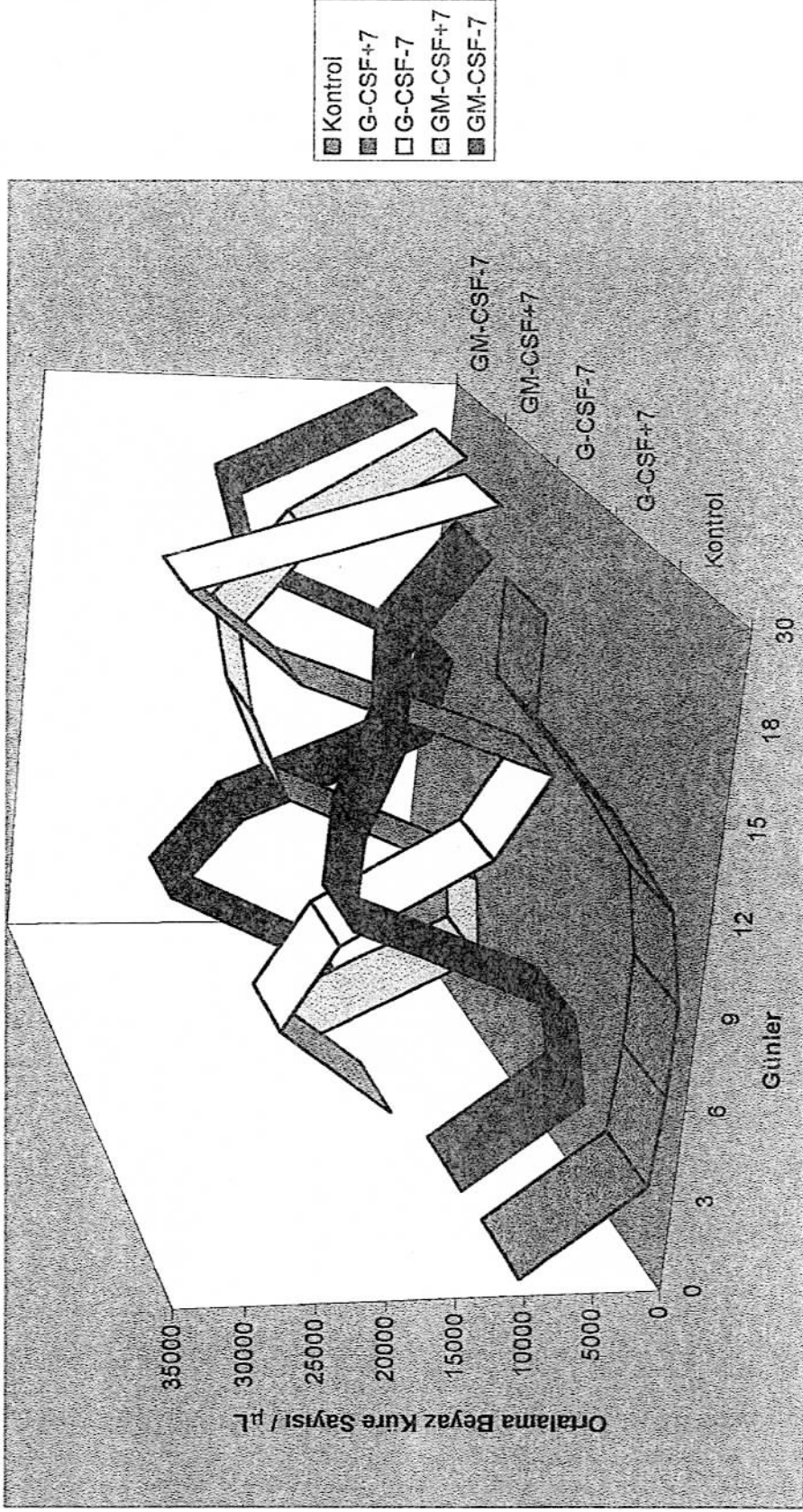
**Grafik 5:**

Grup 1-2-3-4-5 Platelet Sayımı İzlemi



## Grafik 6:

### Grup 1-2-3-4-5 Beyaz Küre Sayımı (WBC) İzlemi



#### V-A6: Grup 6: İnterferon alfa 2a grubu sonuçları:

İnterferon grubun ölçülebilen hematolojik parametrelerin değerleri ve istatistiksel analizleri tablo 6'da sunulmuştur.

Bu grupta ilk gün siklofosfamid KT olarak verildi, daha sonraki her gün sk interferon Alfa 2a 10 gün süreyle uygulandı. Bu uygulama sırasında ölçümlere devam edildi. Hb ilk gün 14(12,6-15) gr/dl bulundu, 6.günde anemi başladı 10,38 gr/dL ölçüldü ve  $p=0,0077$  idi. Anemi çalışmanın sonuna kadar devam etti. En derin anemi dönemi 9,22gr/dl ile 9.günde ölçümde bulundu ( $p=0,0077$ ). Anemi fazla derinleşmemiş ve oldukça uzun sürmüştür. Grafik 7'de gösterilmektedir.

Htc ölçümlerinde ise 0.günde %38.93 olan değer, 6.günden itibaren istatistiksel anlamlı olarak azalmış, bu azalma 30.güne kadar devam etmiştir. 9.günde en belirgin azalma olmuş %27,5 ile  $p=0,0117$  bulunmuştur. Htc değerleri Hb değerleri ile paraleldi, 6.günde azalma başlamış ve çalışmanın sonuna kadarda devam etmiştir. Bu değişimler Grafik 8'de sunulmaktadır.

MCH çalışma başlangıcında 20,77(20,2-21,2)pg ölçülmüş ve çalışmanın ilk 15 gününü stabil bir sayım göstermiş ve farklılaşmamıştır. Ancak 15.gün ölçümünde 22,30 pg ile istatistiksel anlamlı artış izlemiştir  $p=0,0077$ . Daha sonra istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olmuştur.18.günde 20 pg ve 30.günde 19,89pg ölçülmüştür. Bunun anlamı ise MCH değeri oldukça kararsız bir değişkenlik göstermektedir.

MCHC değeri 0.güne kıyasla ölçüm yapılan diğer tüm günlerde 3,6,9,12,15, 30.günlerde istatistiksel olarakta anlamlı olan bir artış göstermiştir. Çalışmada KT öncesi 57,68(56,6-59,4)fL olan MCV değeri, 12.günde 64,8fL ( $p=0,0117$ ), 15.günde en yüksek değerine 69,85fL'ye ( $p=0,0117$ )ulaşmıştır. Bu MCV büyüklüğü 18.günde de devam etmiş ( $p=0,0117$ ), ancak 30.gün ölçümlerinde düzelmiş olarak bulunmuştur.

RDW ölçümleri diğer ilk 5 grupta olduğu gibi seyretmiştir. Çalışmanın ilk 12.gününde kararlı ve normal bir seyir göstermiş, daha sonra ise çalışmanın sonuna kadar yüksek ölçülmüştür. 18.günde %24,64 ile en yüksek ölçümü yapılmıştır

GRUB 6: İNTERFERON - ALFA 2A GRUBU HEMATOLOJİK ÖLÇÜMLERİ VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLERİNİN İZLENİMİ																	
	0. gün		0 ile 3. gün		0 ile 6. gün		0 ile 9. Gün		0 ile 12. gün		0 ile 15. gün		0 ile 18. gün		0 ile 30. gün		
	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	
WBC	11622 ±	0,0077	1200 ±	0,0077	977,78 ±	0,0077	5055 ±	0,0109	6712 ±	0,0117	7462 ±	0,0630	16187 ±	0,1073	9312 ±	1,1202	
	1415,83		135,4		118,76		751,87		532,33		794,61		254,93		973,66		
Fib	141 ±	0,0929	12,46 ±	0,0077	10,38 ±	0,0077	9,22 ±	0,0077	9,87 ±	0,0077	9,60 ±	0,0117	9,81 ±	0,0117	12,83 ±	0,0357	
	0,27		0,57		0,30		0,56		0,29		0,29		0,34		0,27		
Htc	38,98 ±	0,1386	35,87 ±	0,0077	27,93 ±	0,0077	27,58 ±	0,0117	30,25 ±	0,0117	31,80 ±	0,0117	36,01 ±	0,0500	41,51 ±	0,0173	
	0,79		1,54		0,97		1,16		0,90		1,19		1,47		0,89		
RBC	6618888 ±	0,0209	5820000 ±	0,0077	4914444 ±	0,0077	4720000 ±	0,0077	4430000 ±	0,0117	8543750 ±	0,1614	4178250 ±	0,0117	5227500 ±	0,0117	
	97645,11		199374,02		158141,21		307602,74		145896,24		4416399,6		517278,79		206913,97		
MCV	5768 ±	0,109	59,69 ±	0,1097	56,86 ±	0,1097	59,88 ±	0,9528	64,88 ±	0,0117	69,85 ±	0,0117	63,56 ±	0,0117	58 ±	0,5754	
	0,34		0,36		0,31		2,69		1,63		1,22		0,62		0,46		
MCH	20,77 ±	0,0506	20,34 ±	0,1731	20,64 ±	0,1731	20,34 ±	0,0687	21,10 ±	0,1925	22,30 ±	0,0077	20,07 ±	0,0173	19,89 ±	0,0152	
	0,10		0,14		0,13		0,16		0,22		0,25		0,20		0,21		
MCHC	36,03 ±	0,0077	34,08 ±	0,0858	36,36 ±	0,0858	35,46 ±	0,0209	34,69 ±	0,0117	32,14 ±	0,0117	31,09 ±	0,0117	30,95 ±	0,0117	
	0,11		0,14		0,16		0,17		0,15		0,45		0,25		0,09		
RDW	13,68 ±	0,5940	13,32 ±	0,3743	13,23 ±	0,3743	13,16 ±	0,6744	23,13 ±	0,0117	33,84 ±	0,0117	24,64 ±	-	22,00 ±	0,0117	
	0,36		0,37		0,30		0,47		0,91		1,09		1,20		1,05		
PLT	734777 ±	0,0077	351888 ±	0,0077	90000 ±	0,0077	246444 ±	0,0152	397555 ±	0,0209	617222 ±	0,1097	933000 ±	0,0077	890222 ±	0,0284	
	36243,31		37874,22		25165,01		84725,72		66150,32		56246,18		39630,24		25546,68		
MPV	5,29 ±	0,7263	5,31 ±	0,5147	5,52 ±	0,5147	7,11 ±	0,0077	7,33 ±	0,0077	6,38 ±	0,0077	6,68 ±	0,0077	5,33 ±	0,7353	
	0,07		0,09		0,24		0,33		0,22		0,14		0,14		0,12		

Tablo 6: Interferon -Alfa 2A grubunun hematolojik parametrelerin ölçümleri ve bunların günler içindeki değişimlerinin başlangıç değeri Wilcoxon matched pairs testi ile kıyaslanmasının istatistiksel sonucu olan p değerleri sunulmaktadır.

(p=0,0117). Oysa başlangıçta bu değer %13,68(12,4-16) bulunmuştur. PY'de anisositoz ve poikolositoz görülmüştür. RBC değerlendirmesinde; 0.gün 6618888(6160000-6990000)/ $\mu$ L ort değeri saptanan grubun daha sonraki ölçümlerinde; çalışmanın 12.gününde anemi ile uyumlu olarak azalmış izlendi. Bu azalış istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0,05). Ayrıca en önemli azalış 18.günde 4178250/ $\mu$ L ölçümü ile olmuştur p=0,0117. Diğer değerler tablo 6'da ve günler içinde seyri ise Grafik 9'da sunulmuştur.

Şu ana kadarki yapılan anemi parametreleri değerlendirilmesinde anlaşılacağı üzere, ilk 5 gruba kıyasla interferon  $\alpha$ 2a grubunda anemi hafif olarak geçirilmiştir, yani interferon  $\alpha$ 2a KT sonrası myelosupresyona bağlı olarak oluşan aneminin önlenmesinde etkin bir ajan olduğu gösterilmektedir. Yani anemiden korunmuştur. MCV'deki değişiklikler ise Grafik 10'de ve Tablo 6'da açık olarak sunulmaktadır.

PLT sayımı üzerine etkisi yani trombositopeninin önlenişindeki başarısı analizi yapıldığında ise: 0.günde KT öncesi PLT ortalama değeri 734777(640000-946000)/ $\mu$ L ölçüldü, daha sonraki ilk 12 günde hafif bir azalma görüldü, en önemli azalma 3.günde ve 351888/ $\mu$ L değeri ileydi (p=0,0077). Ancak bu azalma kontrol grubuna kıyasla çok önemli oranda farklıydı. Çünkü trombositopeni derinliği daha azdı, interferon  $\alpha$ 2a trombositopeni üzerinde iyileştirici veya önleyici etkisi vardı. 15.günde normal sınırlarda seyreden PLT sayımı, daha sonraki iki ölçümde 18. (p=0,0117) ve 21.günde (p=0,0117) trombositozla yani başlangıca kıyasla yüksek PLT sayım ile seyretmiştir (Grafik 12).

MPV ölçümünde diğer 5 grupta olduğu gibi seyretmiştir. 0.günde 5,29(5-5,7)fL olan ölçüm, 12.gününde maximum değerine ulaşmış ve 7,33fL ölçülmüştür (p=0,0077). 3 ve 6.gün normal seyretmiştir. 9.günde itibarense çalışma sonuna kadar MPV yüksek bulunmuştur. PY'de dev trombositler izlenmiştir.

WBC değerlendirmesi üzerine interferon  $\alpha$ 2a'nın net etkisi şu ana kadarki hiç bir çalışmada açık olarak bildirilmemiştir. Sadece nötropeni yapabileceği vurgulanmaktadır. Ancak bunun gerçeklik boyutunu bu çalışmada açık olarak görmekteyiz. WBC 0.gün ölçümünde ortalaması 11611(6000-19900)/ $\mu$ L bulundu.

3.gün 1200/ $\mu$ L ( $p=0,0077$ ), 6.gün 977/ $\mu$ L( $p=0,0077$ ) ve 9.gün 5055/ $\mu$ L( $p=0,0109$ ) ölçümü ile KT sonrasında nötropeninin oluştuğunu, ancak bu nötropeninin kontrol grubuna kıyasla daha iyi durumda olduğu görülmüştür. Yani en derin nötropeni döneminde kontrol grubu ile interferon grubu kıyaslanmasında istatistiksel olarak gösterilebilen anlamlı bir yararlılık vardı ( $p= 0,0159$ ). Bunun anlamı sanıldığına aksine interferon  $\alpha$ 2a KT uygulanan hastalarda nötropeniyi derileştirmeyip, nötropeniden koruyucu yani önleyici etki gösterdi. Bu etki kontrol grubuna üstünlüğü ile açıkça gözler önüne serilmektedir. Ancak etkisi GM-CSF ve G-CSF ile kıyaslandığında onlar kadarda etkin olmadığı görüldü. Daha sonraki günlerde 9,12,15,18,30.günlerdeki ölçümlerde kararlı ve normal WBC sayımı ile çalışma sonlanmıştır. Grafik 12’de bu farklılaşma açık olarak sunulmaktadır.

#### **V-A7: Grup 7: Eritropoetin Grubu sonuçları:**

EPO eritropoez üzerinde bilinen en fazla etkisi olan bir büyüme faktörüdür. Eritropoezin başlatılması, hızlandırılması ve periferik dolaşıma çıkan eritrosit miktarının belirlenmesinde esas faktördür. Bütün vücut değişikliklerindende etkilenir. Bu nedenle bir KT’nin baskıladığı eritrositler serinin tedavisinde hatta eritropoezdeki baskılanmasının önlenmesinde etkin olabileceğini düşündüğümüz için, KT ile birlikte kullanılmak istenildi. Tablo 6’ da sunulmuştur.

Hb ölçümü ilk gün, KT öncesinde yapıldığında 13,62(12,1-15,1)gr/dL bulunmuştur. Aynı gün KT uygulanmış ve seri ölçümler başlatılmıştır. 3.günde Hb ortalaması 12,08gr/dL ( $p=0,0469$ ), 6.günde 10,46gr/dL ( $p=0,0077$ ) 9.günde 10,30 gr/dL ( $p= 0,0077$ ), 12.günde 10,92gr/dL(0,0077), 15.günde 11,52gr/dL(P=0,0077), 18.günde 11,99gr/dL( $p= 0,0152$ ) bulundu. Bunlar istatistiksel olarak anlamlı azalmayı göstermektedir. 30.günde ise Hb 14,01gr/dL( $p= 0,2076$ ) ile izlenmiştir. Çalışma günlerindeki Hb seyri Grafik 7’de sunulmaktadır. İstatistiksel olarak Hb değerinde bir azalma izlenmişse de, bu azalış daha önceki tüm gruplarla (Grup 2, 3, 4, 5, 6) kıyaslandığı daha hafif bir azalma olduğu ve bu gruplardan daha üstün olarak anemi oluşumunu önlediği görülmektedir ( $p< 0,05$ ).

**GRUB 7: ERİTROPOETİN GRUBU HEMATOLOJİK ÖLÇÜMLERİ VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRİLMESİ**

	0. gün		0 ile 3. gün		0 ile 6. gün		0 ile 9. Gün		0 ile 12. Gün		0 ile 15. gün		0 ile 18. gün		0 ile 30. gün	
	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P
WBC	11030 ±	0,0125	2130 ±	0,0051	2388 ±	0,0077	5066 ±	0,0109	8311 ±	0,1731	10966 ±	0,6784	9596 ±	0,4413		
	1407,60		961,14	67,99	607,24		738,24		1364,56		1248,55		708,48			
Hb	13,62 ±	0,0469	12,08 ±	0,0077	10,30 ±	0,0077	10,92 ±	0,0077	11,52 ±	0,0077	11,99 ±	0,0152	14,01 ±	0,2076		
	0,28		0,37	0,25	0,40		0,26		0,42		0,27		0,14			
Htc	32,28 ±	0,0166	33,88 ±	0,0077	30,54 ±	0,0069	35,22 ±	0,0166	36,68 ±	0,1731	38,63 ±	0,9057	43,17 ±	0,0284		
	0,82		1,32	1,16	1,19		0,50		1,20		1,03		1,02			
RBC	6282000 ±	0,2411	6011000	5212000 ±	5051111 ±	0,0077	1588222 ±	0,5147	5693333 ±	0,0506	5848888 ±	0,0209	5927777 ±	0,0129		
	100673,29		±	143067,97	199147,10		6969579,7		265706,61		101303,24		99871,83			
MCV	57,53 ±	0,0166	60,56 ±	0,1235	58,65 ±	0,1394	61,93 ±	0,0069	64,53 ±	0,0051	62,62 ±	0,0051	58,10 ±	0,4755		
	0,32		1,02	0,59	0,52		0,83		0,89		0,41		0,38			
MCH	20,63 ±	0,3590	20,84 ±	0,9188	20,40 ±	0,0926	20,73 ±	0,6465	21,03 ±	0,3081	21,04 ±	0,4148	20,69 ±	0,8658		
	0,18		0,20	0,18	0,16		0,19		0,31		0,96		0,37			
MCHC	35,70 ±	0,0125	34,46 ±	0,2135	34,76 ±	0,0330	33,62 ±	0,0077	32,12 ±	0,0077	31,01 ±	0,0077	31,21 ±	0,0117		
	0,14		0,24	0,26	0,28		0,30		0,57		0,30		0,25			
RDW	14,23 ±	0,7598	13,93 ±	0,2604	13,94 ±	0,6744	18,89 ±	0,0152	24,68 ±	0,0077	24,57 ±	0,0077	21,11 ±	0,0077		
	0,45		0,47	0,37	0,44		1,23		1,05		0,79		0,82			
PLT	620900 ±	0,0367	300,500 ±	0,0051	246200 ±	0,0125	264,700 ±	0,0125	474900 ±	0,0093	596500 ±	0,5751	776666 ±	0,0109		
	5152873		65130,68	32405,35	50701,92		4001,40		39528,46		41065,87		29812,38			
MPV	5,59 ±	0,0440	5,22 ±	0,3433	7,36 ±	0,0051	7,67 ±	0,0051	6,38 ±	0,0109	6,44 ±	0,0051	5,57 ±	0,8886		
	0,14		0,10	0,18	0,16		0,15		0,17		0,09		0,08			

Tablo 7: Eritropoetin grubunun hematolojik parametrelerin ölçümleri ve bunların günler içindeki değişimlerinin başlangıç değeri Wilcoxon matched pairs testi ile kıyaslanmasının istatistiksel sonucu olan p değerleri sunulmaktadır.

Kontrol grubu ile kıyaslandığında ise anemi derinliği konusunda Mann Whitney U testi ile en derin anemik dönemler kıyaslandığında üstünlüğü açık olarak görülmektedir ( $p=0,0213$ ). Bu gelişen aneminin nedeni olarak, mutlak KT yan etkisi düşünülmesi gerekmektedir. Ayrıca bu ratlardan 3 gün aralarla tüm vücut periferik kanı hacminin yaklaşık 1/15 oranında alındığı düşünülürse oluşan durum iatrojenik bir anemi olduğuda kabul edilebilir.

Htc 0.günde %38,28(33,3-42,6) iken ilerleyen çalışma günlerinde 3,6,9,12. gün ölçümlerinde hafif bir azalma görülmüş ve bu azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (tablo 7). Ancak 15.günden itibaren kararlı ve normal sınırlarda bir sayım izlenmiştir, Grafik 8'de belirtilmiştir.

MCH değerlendirmesi daha önceki 6 grupta ifade edilen aksine hiç bir değişiklik göstermedi ve kararlı bir değerde seyretti. Başlangıç ölçümü ortalama 20,63(20-21,9)pg bulunmuş ve bu kararlı durumda tüm çalışma süresince devam etmiştir.

MCHC, 0.günde 35,7(34,8-36,4)gr/dL bulunmuş ve daha sonraki izlenimde 30.güne kadar ki tüm ölçümlerde 0.güne kıyasla bir azalma görülmüştür, bu azalış istatistiksel olarakta anlamlı bulunmuştur. Ancak p değerleri tablo 7'de sunulmuştur.

RBC değeri belkide bu gruptaki en önemli parametreydi. Çünkü EPO direk olarak eritrosit sayısını etkilemektedir. RBC ölçümünde sanılan aksine kararsız bir durum izlenmiştir. 0.günde RBC sayısı ort 6282000(5710000-6710.000)/ $\mu$ L bulunmuştur. 3.günde normal sınırlarda ( $p=0,2411$ ), 6.günde hafif azalma ile 5212000/ $\mu$ L ( $p=0,0069$ ), 9.günde 5051111/ $\mu$ L ile( $p=0,0077$ ) en derin azalış görüldü. Ardından 12.günde normal sınırlarda  $p=0,5147$  bulundu. 15,18 ve 21. günlerde ise hafif sınırlarda bir RBC sayı azalışı görüldü ( $p=0,0506$ ,  $p=0,0209$ ,  $p=0,0129$ ). RBC sayımın en az olduğu dönemde dahi ölçümlerden hiç birinde RBC ort 5000000/ $\mu$ L altına düşmedi. Grafik 9'da açık olarak görülmektedir. Bu daha önceki 5 çalışma ve 1 kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı olarak üstün olduğunu göstermektedir ( $p<0,05$ ). Bu nedenle EPO, RBC sayısı izlemi gereğince myelosupresyonun anemi ayağını etkin olarak önlemiştir sözü söylenebilir. Yani KT

uygulanarakda anemiden korunmak isteniyorsa önleyici ve tedavi edici olarak EPO'nun kullanılabileceği düşünülmektedir.

RDW değerlendirilmesinde 12.güne kadar farklılık olmamış iken, 12.günde başlayan ve çalışma sonuna kadar devam eden bir yükselme izlemiştir. Başlangıçta %14,23(13,1-17,8) ölçülen değer, en yüksek düzeye 18.günde %24,57 rakamıyla ulaşmıştır. RDW'nin bu değişimi diğer tüm gruplar ile uyumludur.

EPO'nun trombopoez üzerindeki etkisi şu ana kadar net olarak değerlendirilmemiştir. Hemopoetik mikroçevrede etkin bir growth faktör olan Epo, eritropoez gibi granülopoezi ve dolayısıyla trombopezide etkileyebilirdi. Bu nedenle yapılan PLT sayımı değerlendirilmesinde; 0.günde PLT ort 620900(359000-862 000)/ $\mu$ L ölçüldü. Daha sonra trompositopeni oluştu ve 18.güne kadar devam etti. Çalışma sonunda ise normal sınırlarda seyrediyordu. En önemli PLT sayımı azalması 12.günde 264700/ $\mu$ L ile olmuştur  $p=0,0125$ . Bu değer kontrol grubuyla kıyaslandığında trombositopeniyi önlemede farklılık izlenmedi ( $p>0,05$ ). EPO trombositopeniyi önlemede etkin değildi. Grafik 11'de sunulmuştur.

MPV 0.günde 5,59(4,6-6,3)fL bulundu, 9.günde itibaren yüksek değerlere ulaştı. 12.günde maximum yüksek ölçümü yapıldı, 7,67fL idi ( $p=0,0051$ ). 30.günde ise yeniden normal sınırlarda seyretti. MPV büyüklüğü yani trombositlerin dev izlendiği periyot 9 ile 18.gün arasındaki dönemdedir.

EPO'nun granülopozdeki growth etkisi için yine WBC değerlendirmesi yapıldı. WBC sayımı ortalaması KT öncesinde 11030(3600-18800)/ $\mu$ L bulundu. KT verildikten sonra, EPO günlük uygulamalarına devam edildi. 3.günde nötropeni oluştu 2130/ $\mu$ L ( $p=0,0125$ ), 6.günde ort WBC değeri 820/ $\mu$ L ( $p= 0, 0051$ ) ölçüldü, 9.gündede 2988/ $\mu$ L ( $p= 0,0077$ ) ölçümü ile nötropeni devam etti. En derin nötropeni dönemi kontrol grubuyla kıyaslanınca Epo grubundan daha yüksek sınırlarda WBC sayımı oluştu, bu farklılık istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p= 0,0361$ ). Bu değişiklikler Grafik 12'de gösterilmektedir. Bunun anlamı Epo nötropeniyi önleyebilir ancak GM-CSF ve G-CSF'ye göre daha az önlenmektedir. Yani GM-CSF ve G-CSF EPO'dan nötropeni önlemede üstündür. EPO'da kontrol grubundan üstün olarak daha az nötropeni oluşturmuştur. Ayrıca nötropeni süresi kontrol grubuna

göre kısa, GM-CSF ve G-CSF grubuna kıyasla uzun sürmüştür. Sonuç olarak: EPO nötropeni önlemede kullanımı GM-CSF ve G-CSF var iken düşünülmebilir, ancak yararlı etki sağlamaktadır.

#### **V-A8: Grup 8: Kloramfenikol grubu sonuçları:**

Daha öncede belirtildiği gibi Kloramfenikolün nötropeni yapma etkisi fazlasıyla gündemde tutulmuş ve tabulaştırılmıştır. Ancak vaka raporu olarak sunulan bir olguda kronik nötropeninin kloramfenikol kullanılarak tedavi edildiği bildirilmiştir. Bu düşünceden hareketle KI'deki hemopoetik mikroçevrede önemli etkiler yaptığı ve sitokin değişkenliğini uyardığını kabul etmek gerekir. Bu nedenle kloramfenikol nötropeni üzerinde KT sonrasında olumlu etki oluşturabileceği hatta antibiyotik etkisinden yararlanabileceği düşünüldü. Bu amaçlada bu çalışma grubu oluşturuldu.

Kloramfenikol hematolojik parametreler üzerindeki etkinliği sunulacaktır, ancak daha önce bu gruptaki ratlarda lokal enfeksiyonun hiç görülmediği, hayvanların günlük aktivitelerinin daha iyi olduğunu vurgulamak gerekmektedir. Grup 8'in hematolojik değerleri ve istatistiksel analizleri tablo 8'de sunulmuştur.

Hb ölçümlerinde 0.gün değeri ort 12,58(8,8-14)gr/dL bulundu. 6.günden itibaren hafif bir anemi gelişti ve 18.güne kadar sürdü. 18. ve 30.gün ölçümlerinde normal sınırlarda bulundu. En derin anemi 6.günde ve 9,54gr/dL sınırında ölçüldü (p=0,0108). Ancak kontrol grubu ile kıyaslanınca anemi derinliği daha makul sınırlarda seyretmiş ve ratların hiç biri derin anemiye girmemiş ve hafif anemik olarak seyretmiştir. Htc 0.gün, KT öncesinde %35,21(24,5-39,5) ölçülmüştür, 3.günde yaklaşık aynı düzeyde seyrederken, tüm çalışmanın sadece 6. ve 9.gün ölçümlerinde istatistiksel anlamlı azalma izlenmiş ve en ciddi azalma %26,48 ile 6.günde olmuştur (p=0,0108, p=0,0166). 12.günden itibaren ise çalışma sonuna kadar normal seyretmiştir (Grafik 7).RBC ölçümlerinde 6,9,12,15,18,30.günde, başlangıç 0.gün ölçümüne kıyasla belirgin azalma istatistiksel olarakta gösterilmiştir (Tablo 8). 0.gün ortalama RBC ort 6049000/ $\mu$ L bulunmuştur. Daha sonra azalma en fazla 12.günde görüldü ve ort RBC sayısı 4365000/ $\mu$ L idi (Grafik 9).

GRUB 8: KLORAMFENİKOL GRUBU HEMATOLOJİK ÖLÇÜMLERİN İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRİLMESİ																	
	0. gün		0 ile 3. gün		0 ile 6. gün		0 ile 9. Gün		0 ile 12. gün		0 ile 15. gün		0 ile 18. gün		0 ile 30. Gün		
	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	
WBC	11610 ±	0,0051	1530 ±	0,0051	1210 ±	0,0051	4420 ±	0,0051	9620 ±	0,2411	20410 ±	0,1141	16160 ±	0,0367	14611 ±	0,1097	
	784,21		231,92		110,00		679,02		1350,05		4289,56		1108,17		1740,65		
Hb	12,58 ±	1,0000	12,72 ±	0,0108	9,54 ±	0,0108	9,79 ±	0,0093	10,71 ±	0,0209	11,72 ±	0,0469	11,74 ±	0,2026	12,51 ±	0,3590	
	0,46		0,21		0,53		0,50		0,52		0,43		0,42		0,22		
Htc	35,21 ±	0,2622	36,92 ±	0,0108	26,48 ±	0,0108	27,85 ±	0,0166	32,89 ±	0,1097	35,58 ±	0,8785	35,08 ±	0,6784	39,85 ±	0,0284	
	1,39		0,47		1,49		1,44		1,64		0,96		1,10		0,90		
RBC	6049000 ±	0,5076	6219000 ±	0,0166	4657000 ±	0,0166	473700 ±	0,0069	436500 ±	0,0051	5402222 ±	0,0077	5197777 ±	0,0109	4727777 ±	0,0109	
	24502,85		92261,10		254296,63		265074,62		134728,12		222072,17		319742,86		55054,99		
MCV	58,37 ±	0,2026	59,45 ±	0,0745	57,17 ±	0,0745	57,79 ±	0,5076	64,80 ±	0,0051	66,42 ±	0,0077	65,41 ±	0,0077	58,70 ±	0,5536	
	0,48		0,68		0,61		0,74		0,61		0,96		0,38		0,47		
MCH	20,50 ±	0,2622	20,91 ±	0,8385	40,44 ±	0,8385	20,27 ±	0,6835	18,80 ±	0,7671	21,35 ±	0,0528	21,15 ±	0,0663	20,20 ±	0,2076	
	0,27		0,18		19,99		0,20		1,98		0,16		0,26		0,15		
MCHC	35,93 ±	0,0191	34,35 ±	0,2411	35,79 ±	0,2411	35,11 ±	0,0218	34,10 ±	0,0051	32,27 ±	0,0051	32,25 ±	0,0051	32,27 ±	0,0051	
	0,17		0,44		0,10		0,17		0,23		0,37		0,37		0,16		
RDW	14,62 ±	0,7989	14,43 ±	0,1688	14,01 ±	0,1688	14,10 ±	0,7213	17,20 ±	0,0858	24,16 ±	0,0069	28,11 ±	0,0082	21,56 ±	0,0382	
	1,28		1,30		1,39		1,10		0,69		0,97		1,83		0,90		
PLT	707700 ±	0,0069	390400 ±	0,0051	146900 ±	0,0051	478500 ±	0,0926	631100 ±	0,2845	879200 ±	0,0593	77700 ±	0,4446	894000 ±	0,0209	
	53154,29		32355,04		16631,30		86460,54		44120,40		43816,99		45274,96		24469,26		
MIRV	5,31 ±	0,0972	5,058 ±	0,1731	5,13 ±	0,1731	7,63 ±	0,0051	8,04 ±	0,0051	5,82 ±	0,0077	6,22 ±	0,0051	5,42 ±	0,4008	
	0,07		0,10		0,10		0,38		0,16		0,07		0,20		0,09		

Tablo 8: Kloramfenikol grubunun hematolojik parametrelerin ölçümleri ve bunların günler içindeki değişimlerinin başlangıç değeri Wilcoxon matched pairs testi ile kıyaslanmasının istatistiksel sonucu olan p değerleri sunulmaktadır.

Burada açıkça görüldüğü gibi Kloramfenikol EPO kadar eritrosit iyileşmesi ve eritrosit üretimini stimüle edebilmektedir. Kontrol grubunda RBC sayım yönünden belirgin üstünlük gösterirken, Eritropoetin ile kıyaslandığında anlamlı farklılık görülmemekte ve eritropoetinin etkisine paralel etki göstermektedir. Yani epo grubu ve Kloramfenikol grubunda RBC sayım aynı KT ve ilaç uygulamaları ile aynı sınırlarda devam etmiştir. Kloramfenikol grubunda RBC sayısı hafifçe azalmıştır. KT'ye bağlı derin anemi hali oluşmamıştır.

MCH ölçümleri ve istatistiksel değerlendirilmesinde Tablo 8'de açık olarak sunulmaktadır. KT ile beraber MCH stabil seyretmiş, çalışmadaki bütün ölçümlerde istatistiksel anlamlı yükseklik veya azalma saptanmamıştır ( $p>0,05$ ). MCH genel olarak ort 20,5(19,1-21,7)pg civarında seyretmiştir.

MCHC 12.güne kadar ki ölçümleri stabil seyrederken, 12.gün ölçümünde anlamlı azalma tespit edilmiştir. 12,15,18,30.gün ölçümlerinde aynı p değeri ile ( $p=0,0051$ ) kararlı bir azalış göstermişlerdir. 0.günde MCHC ortalama 35,93gr/dL iken, 12.günden itibaren 34,1gr/dL ölçülmüştür. PY'de ise hafif hipokromik eritrositde izlenmiştir, anisositoz poikilositoz hakimdir.

MCV diğer çalışma gruplarında olduğu gibi çalışmanın ilk günlerinde değişmemiş, 12.gün, 15.gün ve 18.gün ölçümlerinde belirgin yüksek bulunmuştur ( $p= 0,0051$ ,  $p= 0,0051$ ,  $p= 0,0077$ ). Bazal değeri 58,37(55,7-60,6)fL olan MCV ölçümü en yüksek değere 18.günde ve 65,41fL rakamı ile ulaşmıştır. Grafik 10'da görülmektedir. Bu dönemde makrositik eritrositler PY'da daha belirgin izlenmiştir.

RDW 12.günden itibaren istatistiksel anlamlı yüksek bulunmuştur. Tablo 8'de de gösterildiği gibi bazal değeri %14,62(12,7-26,1) iken bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p<0,05$ ).

Kloramfenikolün PLT sayımı üzerindeki etkisi aynı zamanda trombopoez etkisinin göstergesidir. PLT 0.günde ortalama 707700(369,000-928,000)/ $\mu$ L ölçülmüştür. Daha sonra PLT değerinde 3.ve 6.gün ölçümlerinde azalma tespit edildi. En önemli trombositopeni 6.günde ve ortalama 146900/ $\mu$ L değeri ile bulundu ( $p=0,0051$ ). Daha sonra PLT normal sınırlarda seyretti. Hatta 30.gün ölçümünde 894000/ $\mu$ L ile istatistiksel anlamlı bir trombositoz tespit edildi ( $p=0,0209$ ). Buradan

anlaşıldığı gibi Kloramfenikol trombositopeniyi etkin olarak önlenememiştir, ancak kendisinin trombositopeni oluşumuna katkısında olmamıştır. Grafik 11’de görüldüğü gibi, Kontrol grubu ile aralarında anlamlı farklılık olmamıştır.

MPV diğer gruplardakilerle aynı seyri göstermiş, 9.ve18.günler arası ölçümlerde yükseklik tespit edilmiş yani dev trombositler oluşmuş, ortalama trombosit hacmi artmıştır. 30.günde ise normal sınırlara dönmüştür. Tablo 8’de değerler ve istatistiksel anlamlılık açık olarak sunulmaktadır.

WBC değerleri kloramfenikolden direk olarak etkilenmiştir. 0.günde ort WBC 11610(8500-16800)/ $\mu$ L bulundu. 3.günde ortalama WBC sayısını 1530/ $\mu$ L idi ve bu azalma 0.günle kıyaslanınca istatistiksel anlamlı farklılık vardı (p= 0,0051). 6.günde en derin nötropeni dönemi ve ort WBC 1210(700-1800)/ $\mu$ L ölçüldü, (p= 0,0051). Bu azalma 0.güne kıyasla istatistiksel anlamlıydı. Ancak bu nötropenik dönem kontrol grubuyla kıyaslanınca anlamlı bir üstünlük vardı (p=0,0077). Ayrıca kloramfenikol en az GM-CSF +7 gün ve G-CSF +7 gün grupları kadar (Grup 2 ve 4) etkin şekilde KT’nin nötropeni oluşturmasını önlemiş ve ratların hiç birisi mutlak nötropeniye girmemiştir. Nötropenin en alt sınırı ortalama 1210/ $\mu$ L olmuş ve kısa süre devam etmişti (6.gün). Bunun anlamı kloramfenikol nötropeni yapmamış, KT’nin nötropeni oluşturma etkisini artırmamış, tam tersine nötropenin daha hafif ve kısa süreli geçirmesini sağlanmış, mutlak nötropeniye ise önlemiştir. Grafik 12’de bu değerlendirmenin seyri kıyaslamalı olarak sunulmuştur.

Hatta, Growth faktörler kadar (GM-CSF ve G-CSF) etkin olmuştur. Daha sonraki 9,12,15,30.gün ölçümlerinde WBC sayısı normal sınırlarda seyretmiş, istatistiksel farklılık gözlenmemiştir. 18.günde ise 16160/ $\mu$ L ortalama ölçümü ile başlangıca kıyasla artmış bir WBC ölçümü istatistiksel olarakta gösterilmiştir (p= 0,0367).

#### **V-A 9: Grup 9: Gamaglobulin grubu sonuçları:**

Gamaglobulin özellikle ITP ve immün trombositopeninin tedavisinde kullanılan bir ajandır. Periferik yıkımı önleme, trombositlerin periferik kanda yüksek sınırlarda bulunmasını temin edebilir. Bu nedenle mevcut trombositlerin yıkımının önlenmesi ve trombosit kaynaklarının kullanılmasının önlenmesi ile KT

GRUB 9: GAMAGLOBULIN GRUBU HEMATOLOJİK ÖLÇÜMLERİ VE İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRİLMESİ																	
	0. gün		0 ile 3. gün		0 ile 6. gün		0 ile 9. Gün		0 ile 12. Gün		0 ile 15. gün		0 ile 18. gün		0 ile 30. Gün		
	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	Ort	P	
WBC	31540 ±	0,0051	7840 ±	0,0077	2833 ±	0,0077	1460 ±	0,0051	8288 ±	0,0209	19088 ±	0,6784	21044 ±	0,5147	16712 ±	0,7794	
	2144,57		758,1		344		385,63		2023,69		4390,41		2151,11		2501,89		
Hb	13,36 ±	0,4755	13,30 ±	0,0051	9,93 ±	0,0051	10,48 ±	0,0051	10,61 ±	0,0109	10,50 ±	0,0077	9,83 ±	0,0109	12,42 ±	0,0663	
	0,34		0,24		0,56		0,30		0,31		0,39		0,63		0,16		
Htc	37,69 ±	0,0077	32,6 ±	0,0069	28 ±	0,0069	30,68 ±	0,0051	30,42 ±	0,0109	32,3 ±	0,0152	31,43 ±	0,0506	36,09 ±	0,2076	
	1,05		0,74		1,65		1,10		1,15		0,94		1,88		0,56		
RBC	6005000 ±	0,5940	6052222 ±	0,0152	4037444 ±	0,0152	4635555 ±	0,0663	4416666 ±	0,0209	4888888 ±	0,1235	4702222 ±	0,0382	546333 ±	0,2604	
	390749,28		277407,53		486254,25		306191,26		201377,30		257937,37		257297,81		145850,0		
MCV	56,30 ±	0,0173	55,3 ±	0,8385	56,12 ±	0,8385	57,31 ±	0,2135	65,9 ±	0,0051	65,74 ±	0,0051	63,42 ±	0,0051	57,9 ±	0,209	
	0,52		0,40		0,51		0,46		0,46		1,33		0,76		0,31		
MCH	19,71 ±	0,0249	20,42 ±	0,0745	20,16 ±	0,0745	19,41 ±	0,2026	20,21 ±	0,0367	20,77 ±	0,0166	20,52 ±	0,1029	20,12 ±	0,2135	
	0,12		0,22		0,27		0,14		0,15		0,25		0,43		0,25		
MCHC	35,5 ±	0,6784	35,69 ±	0,0284	34,50 ±	0,0284	33,76 ±	0,0051	32,33 ±	0,0051	31,75 ±	0,0051	32 ±	0,0051	31,50 ±	0,0077	
	0,25		0,22		0,22		0,14		0,29		0,51		0,37		0,18		
RDW	13,91 ±	0,3590	13,6 ±	0,0284	13,17 ±	0,0284	12,32 ±	0,0382	15,1 ±	0,3590	24,16 ±	0,051	22,04 ±	0,0051	19,4 ±	0,0051	
	0,29		0,52		0,27		0,31		0,77		1,44		0,85		0,65		
PLT	761888 ±	0,0077	974000 ±	0,0284	564100 ±	0,0284	531400 ±	0,1097	595300 ±	0,0506	356300 ±	0,0077	707200 ±	0,5940	939000 ±	0,0077	
	29863,79		12840,91		44379,29		122184,2		38250,36		17129,6		72547,58		14997,04		
MPV	5,43 ±	0,1073	5,26 ±	0,7389	5,43 ±	0,7389	5,32 ±	0,1834	8,49 ±	0,0051	5,89 ±	0,0218	5,82 ±	0,0218	5,23 ±	0,1235	
	0,07		0,07		0,10		0,08		0,23		0,13		0,13		0,07		

Tablo 9: Gamaglobulin grubunun hematolojik parametrelerin ölçümleri ve bunların günler içindeki değişimlerinin başlangıç değeri Wilcoxon matched pairs testi ile kıyaslanmasının istatistiksel sonucu olan p değerleri sunulmaktadır.

sonrası trombositopeni oluşumunun engellenebileceği düşencesiyle; KT öncesi ratlara birer gün orayla 1. ve 2. günlerde Gamaglobulin ip verildi, 3.gün KT (siklofosfamid) uygulandı ve trombosit değişimi izlendi. Tablo 9'da hematolojik parametrelerdeki tüm değişimler, kıyaslamalar, istatistiksel değerlendirmelerle sunulmaktadır.

PLT sayımı 0.günde KT ve Gamaglobulin tedavisi öncesinde ölçüldüğünde ortalama 761888 (587000-887.000)/ $\mu$ L bulunmuştur. Bu sırada 2 gün Gamaglobulin verilip, KT uygulandıktan sonra, 3.gün ölçümünde PLT sayısı 974000/ $\mu$ L bulunmuş buda istatistiksel olarak anlamlı bir PLT artışını göstermiştir ( $p=0,0077$ ). 6.günde PLT ölçüldüğünde ise 564100/ $\mu$ L bulunmuş, buda istatistiksel azalmayı göstermiştir ( $p=0,0284$ ). 9.günde normal sınırlarda ( $p=0,1097$ ), 12.günde normal sınırlarda ( $p=0,0506$ ), 15.günde ciddi bir PLT artışı 956300 / $\mu$ L ile ( $p=0,0077$ ) rastlanmıştır. 18.gün ve 30.gün ölçümlerinde de bu yüksek PLT sayımı devam etmiştir. Görüldüğü gibi Gamaglobulin KT'nin trombositopeni etkisini önemli ölçüde önlenmiştir. PLT sayımında ciddi azalma ve trombositopeni sınırına ulaşma olmamıştır. Grafik 11'de açık olarak görülmektedir.

MPV değerlendirmesinde, ilk ölçüm 5,43(5,2-5,9)fL bulurken 3,6,9.gün ölçümleri normal sınırlarda seyretmiştir. 12.günde ( $p=0,0051$ ), 15.günde ( $p=0,0218$ ) ve 18.günde ( $p=0,0218$ ) ile artmış bir ortalama trombosit hacmi bulunmuştur. En belirgin artış ise yine 12.günde olmuştur ve 8,49fL ölçülmüştür. Bu değişiklikler daha önceki tüm gruplarının MPV değişimleri ile uyumludur.

WBC ölçümleri bu grupta son derece ilginç sonuçlar vermiştir. Çünkü KT uygulandıktan sonra kısa süreli ve fazla derin olmayan bir nütropeni periyodu geçirmişlerdir. 0.günde WBC ölçümü 31,540/ $\mu$ L olduğu görüldü. 3.günde anlamlı azalma ( $p=0,0051$ ) ile 7840/ $\mu$ L'ye indi. 6.günde 2833/ $\mu$ L ( $p= 0,0077$ ) ve 9.günde en derin nütropeni görüldü. 12.günde nütropeni düzeldi ve daha sonrada normal sınırlarda seyretti. Grafik 12'de sunulmuştur. Dikkat ettiğimizde, WBC sayısı en derin nütropenide 1460 / $\mu$ L gibi makul bir sınırdaki seyretmiştir. Buda gamaglobulin nütrofil gelişimi üzerinde etkin bir sitokin olduğunu düşündürmektedir. Bu

değerlendirme diğer parametrelerde PY ile desteklemiş ve doğruluğu ortaya konmuştur.

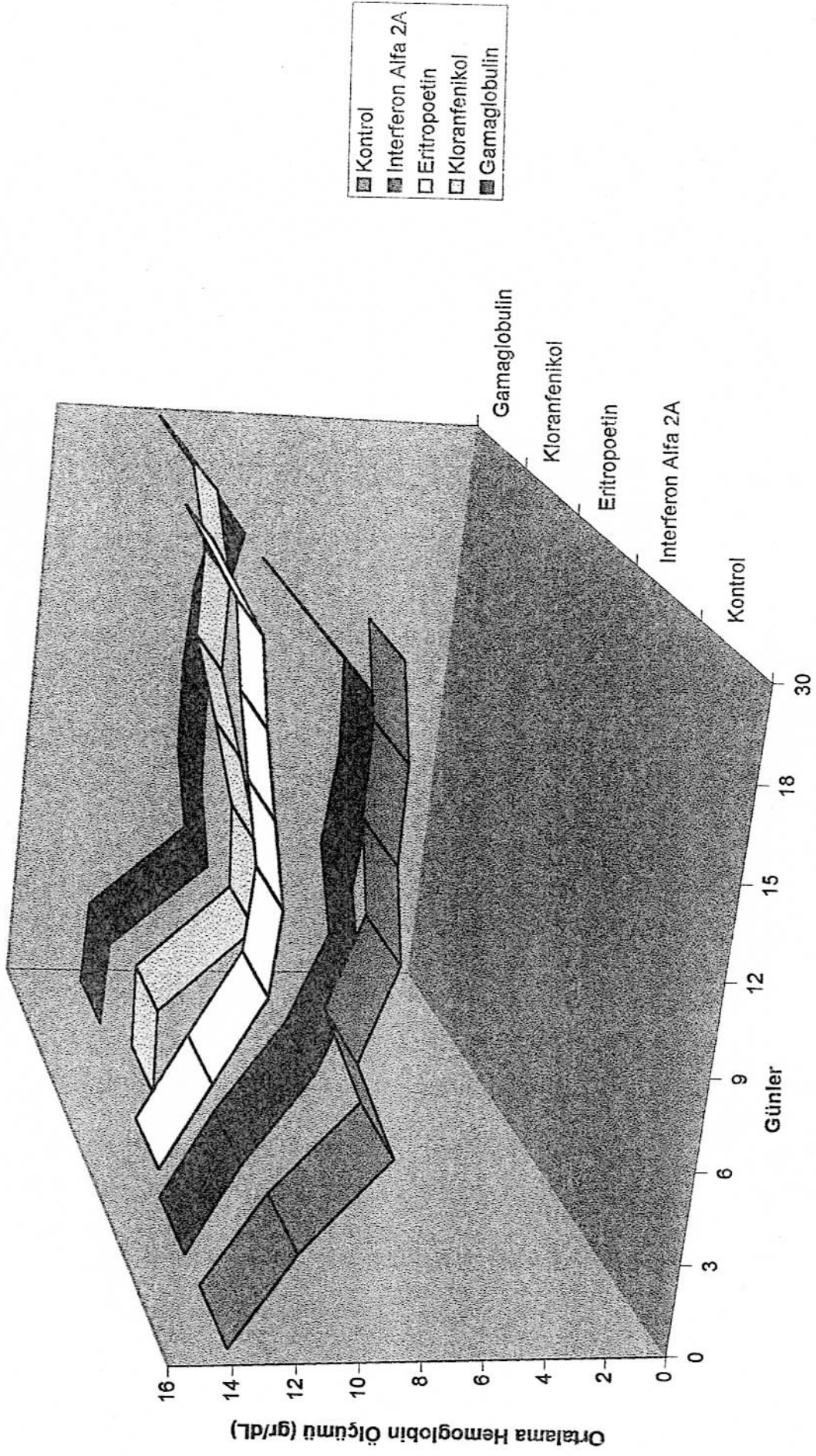
Hb izleminde diğer tüm gruplarda olduğu gibi çalışmanın ilerleyen günlerinde azalma olmuştur. 6.günde anemi başlamış ve 30.güne kadarda devam etmiştir. En derin anemi dönemi 12.günde ve 8,49gr/dl ölçümü ile olmuştur ( $p=0,0109$ ). Diğer günlerin ortalama Hb değerleri 0.gün ile kıyaslandığında istatistiksel anlamlı p değerleri Tablo 9'da sunuldu. Htc izlemide, Hb ve diğer grupların Htc izlemleri ile paraleldi. Azalma 3.günde %30 ( $p=0,0109$ ) ile olmuştur (Grafik 7).

MCH oranı anlamlı değişim göstermemiştir. 12. ve 15.gün ölçümlerde hafif bir azalma olmuştur ( $p=0,0166$ ,  $p=0,0367$ ). MCHC 9.günden itibaren başlayan ve 30.günde dahi devam eden bir azalma göstermiştir. Bu ölçümlerdeki azalışlar istatistiksel olarak  $p=0,0051$  ile anlamlılığı gösterilmiştir.

RDW, oranında, yine diğer gruplarda olduğu gibi 15,18ve30.günlerde anlamlı artışlar olmuştur (Tablo 9). RBC değişimide kontrol grubuna kıyasla çok farklı olmayıp, bazal değerlendirmede ancak 9, 12, 18, 30.günlerde anlamlı azalma saptanmıştır ( $p<0,05$ ). RBC ölçümlerinde kontrol grubuna anlamlı bir üstünlük görülmemiştir. Grafik 9'da sunulmaktadır.

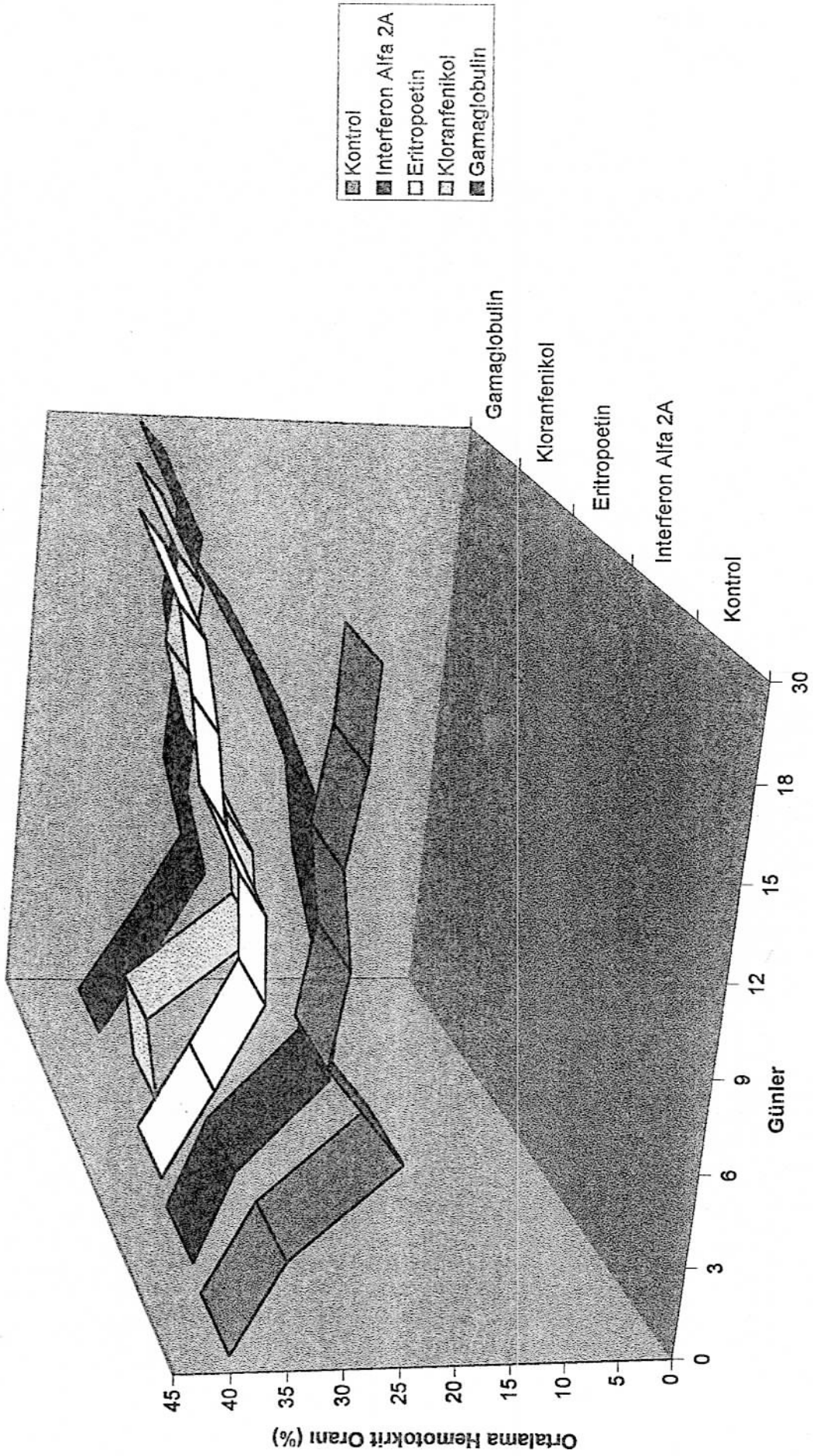
**Grafik 7:**

**Grup 1-6-7-8-9 Hemoglobin Değerleri İzlemi**



**Grafik 8:**

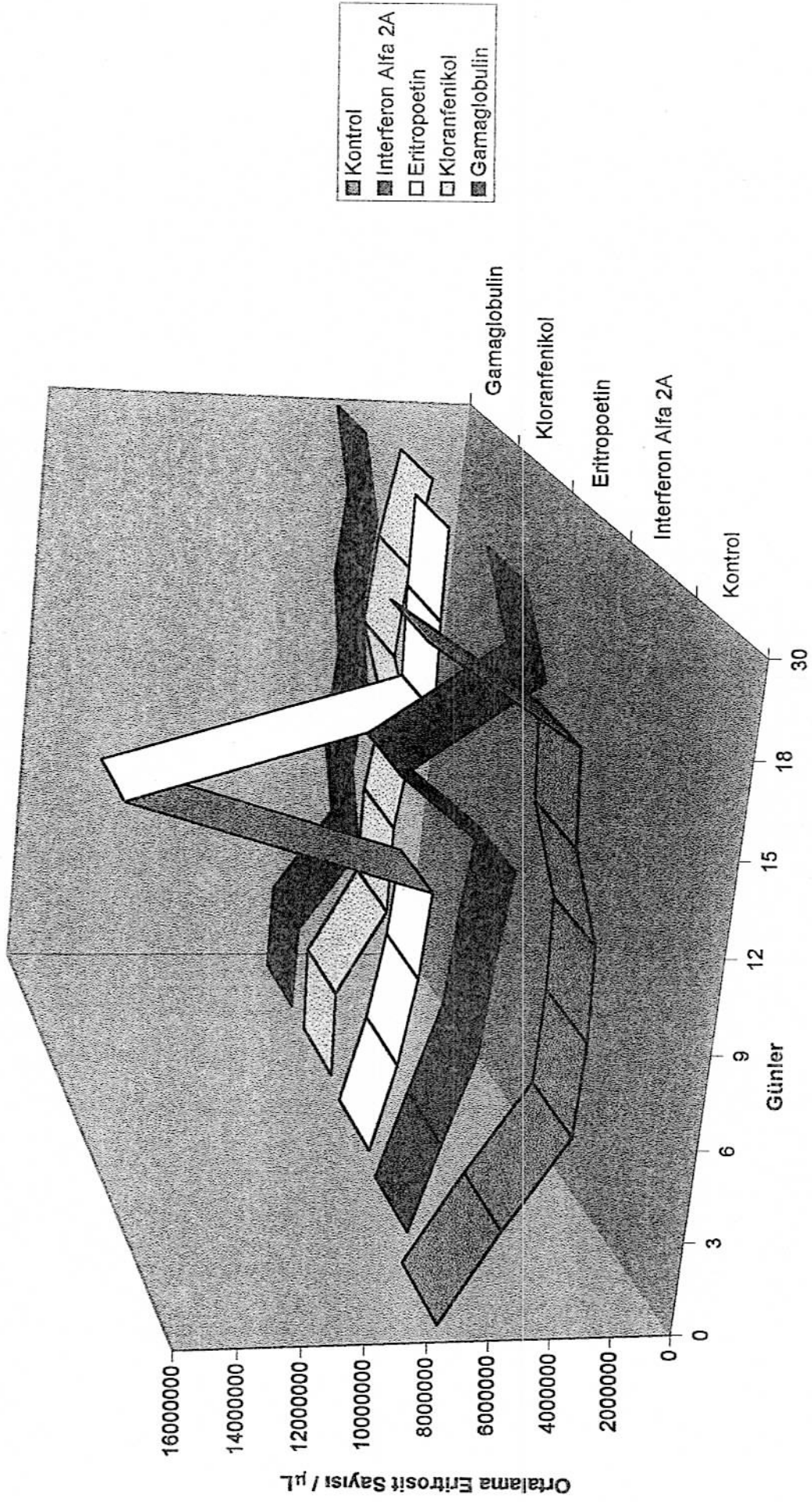
**Grup 1-6-7-8-9 Hemotokrit Değerleri İzlemi**



İstanbul Kültür Enstitüsü

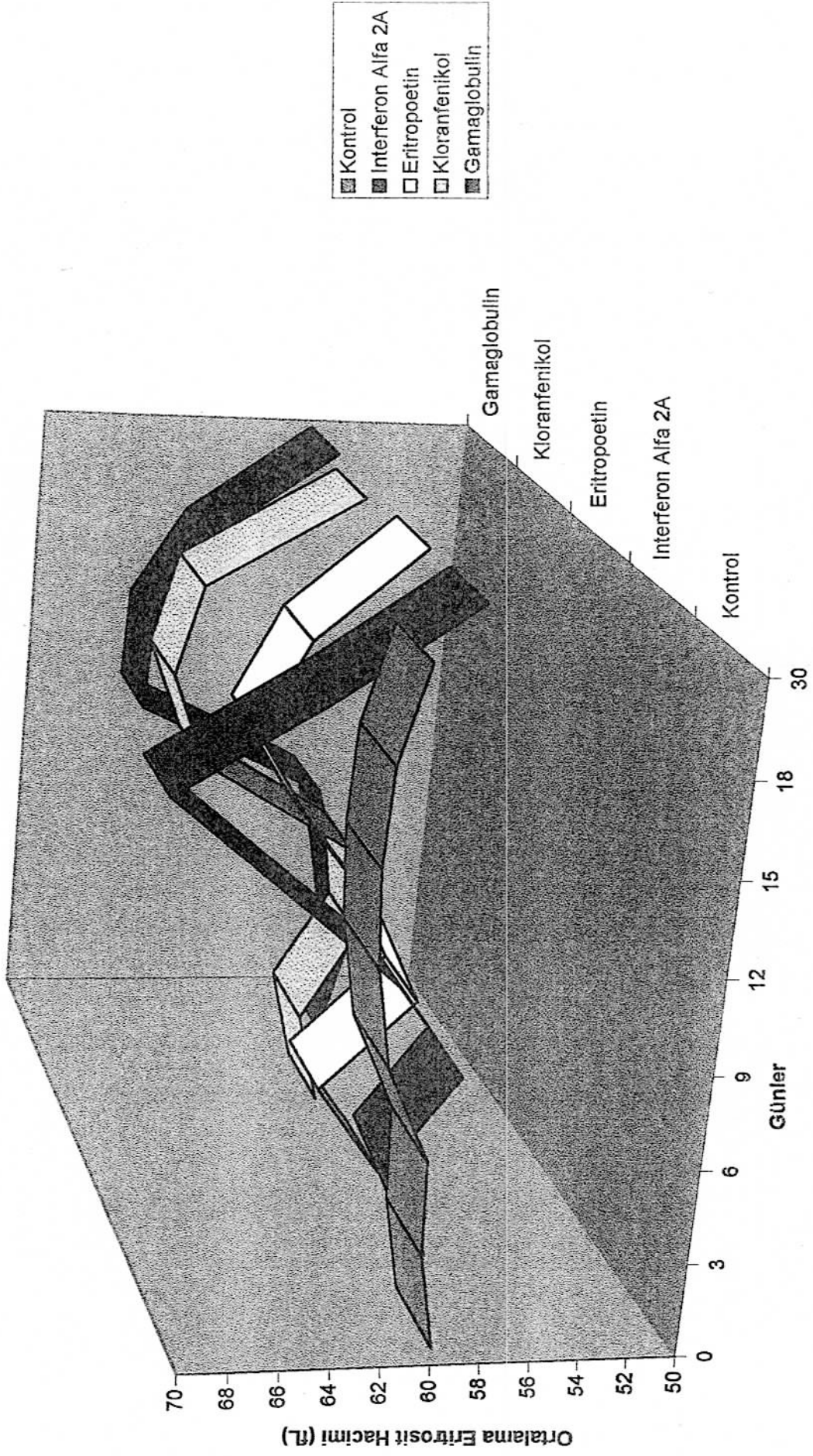
**Grafik 9:**

**Grup 1-6-7-8-9 Eritrosit Sayısı (RBC) İzlemi**



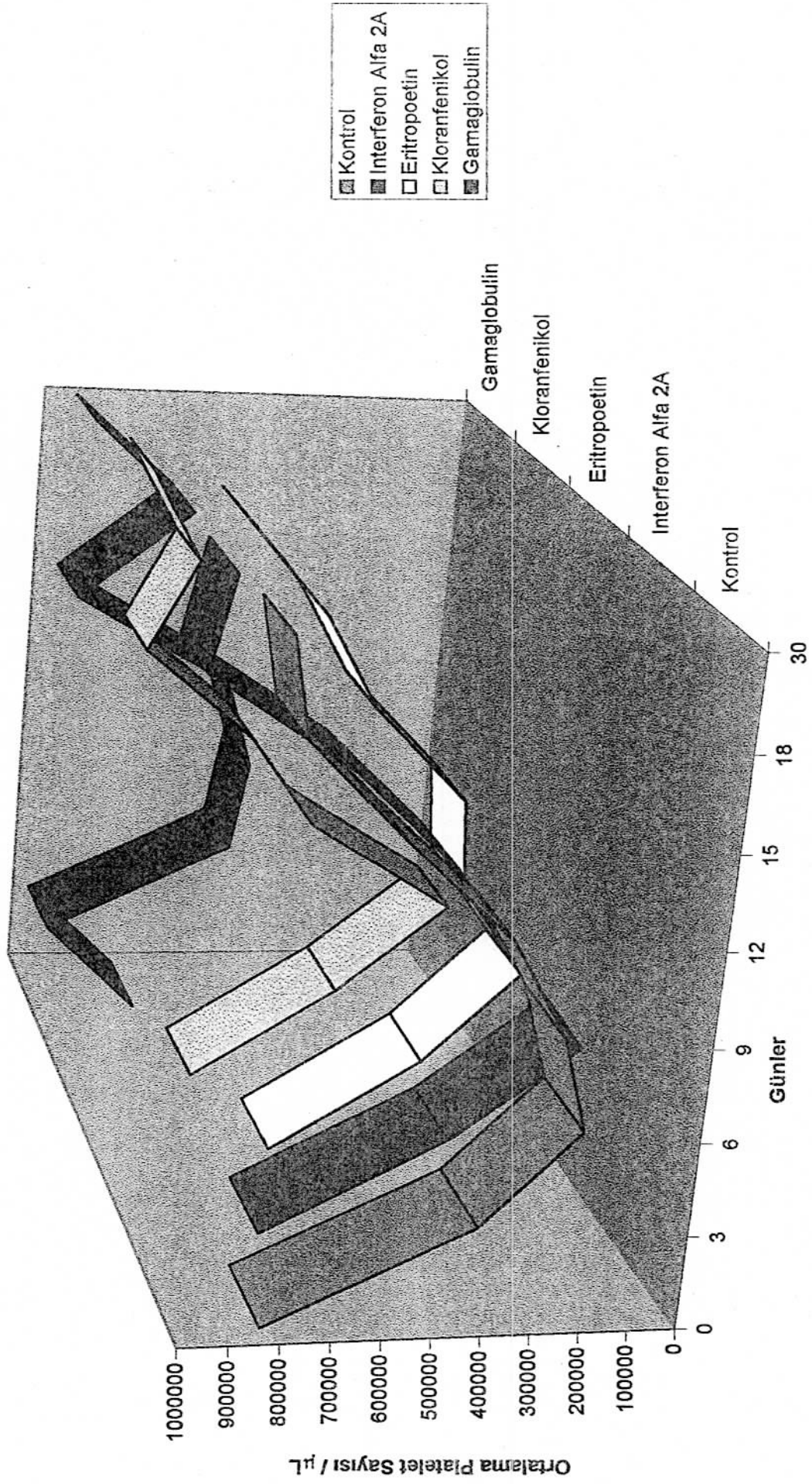
**Grafik 10:**

Grup 1-6-7-8-9 Ortalama Eritrosit Hacimi (MCV) İzlemi



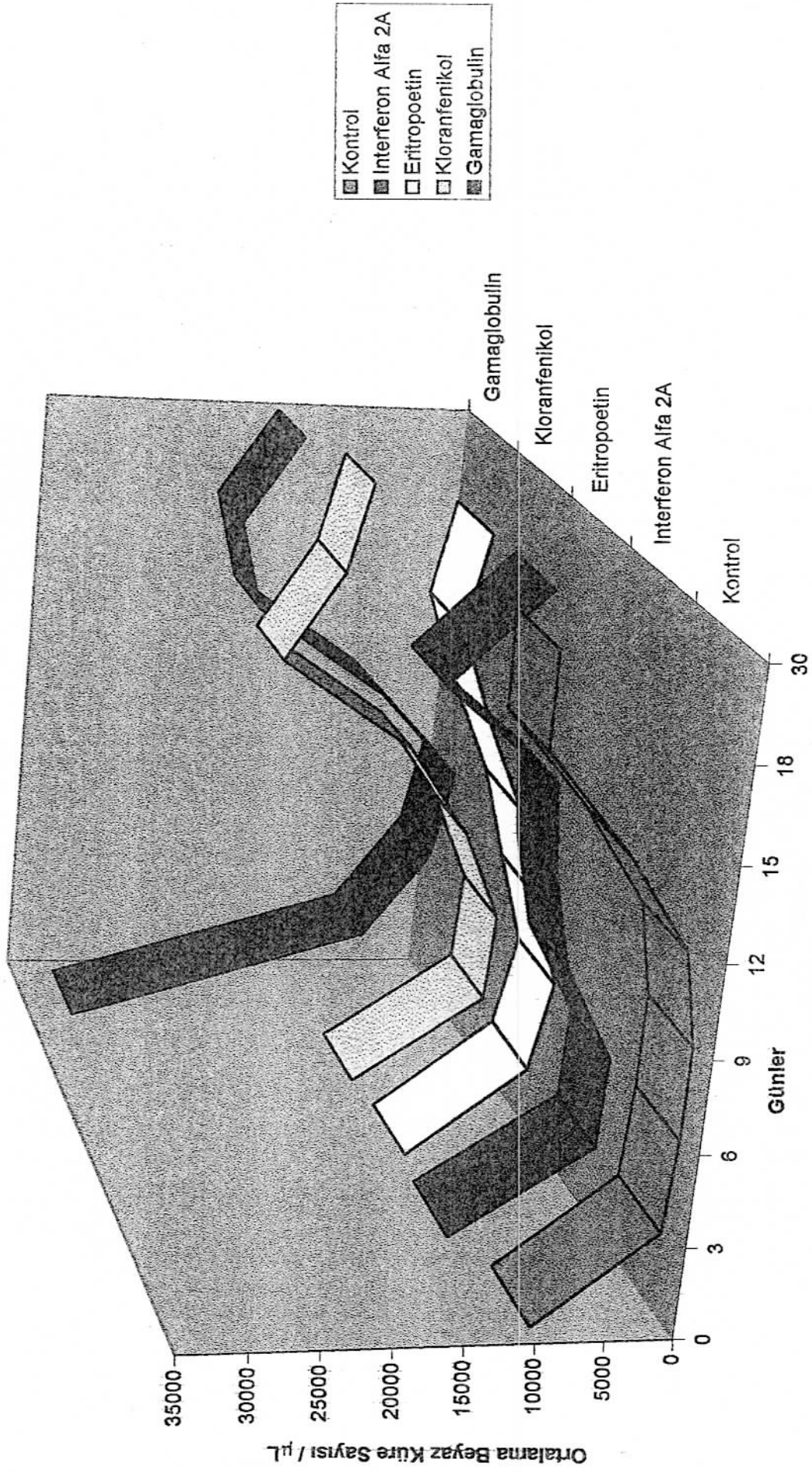
**Grafik 11:**

**Grup 1-6-7-8-9 Platelet Sayımı İzlemi**



**Grafik 12:**

**Grup 1-6-7-8-9 Beyaz Küre Sayımı (WBC) İzlemi**

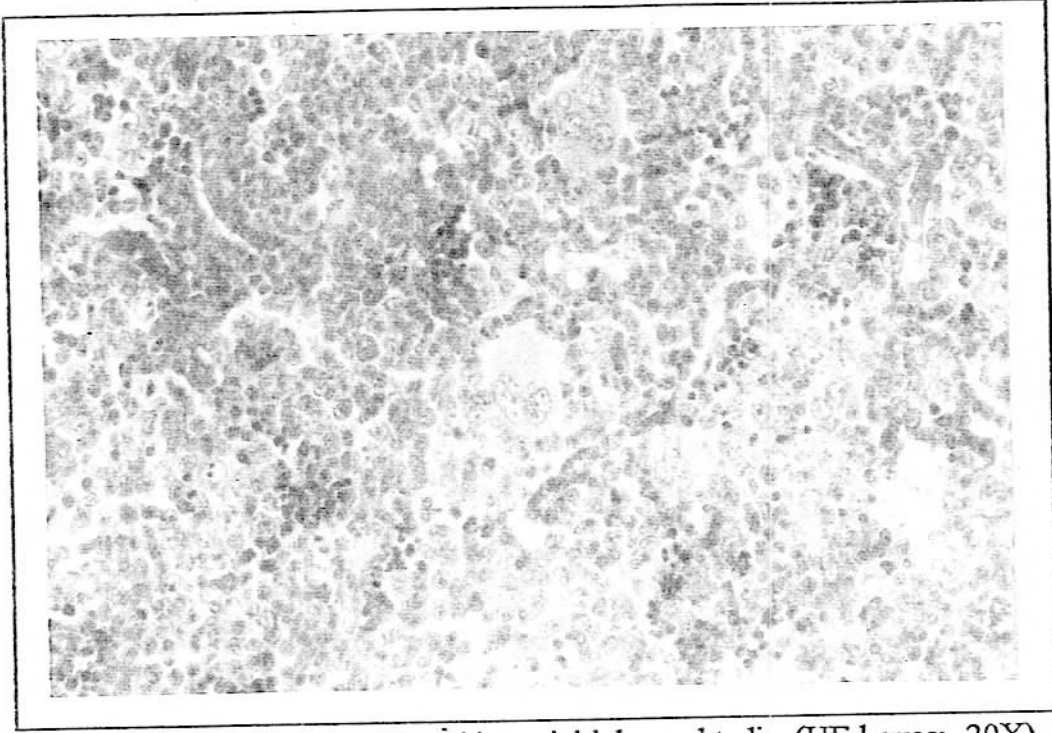


## V-B: KEMİK İLİĞİ DEĞERLENDİRİLMESİ

Toplam 9 gruptaki ratların, çalışmanın son gününde (30.günde) sternumları çıkarıldı. Bu sternumdan önce aspirasyon ve imprint yapıldı. Ardından sternum parçası %10 nötralize formaldehit solüsyona bırakıldı ve kemik iliği biyopsisi boyamaları yapılmak üzere patoloji laboratuvarına götürüldü. Tüm ratların Kİ aspirasyon ve imprint preparatları May-Graunwald-Giemsa ve Wright boyası ile, tüm Kİ biyopsileri Hemotoxilen Eozin(HE) boyası ve retikülin boyası ile boyanarak mikroskopik incelemeye alındı. Bu inceleme öncesinde hiç bir sitostatik veya diğer gruplardan ilaç alınmamış, 200gr ağırlığında 12 haftalık normal sağlıklı bir wistar rattan sternum aynı şekilde çıkarıldı ve aynı aspirasyon, imprint ve biyopsileri alındı ve aynı boyalar yapıldı. Daha sonra sağlıklı rat bazal değerlendirmeyi oluşturdu ve değişiklikler bu model üzerinden yorumlandı.

Bazal ratın Kİ'nin İmprint, aspirasyon ve biyopsilerinde selülerite, partikül mevcudiyeti, megakaryositlerin izlenme oranı, eritroid-myeloid seri oranlarını belirleme (Resim 3) ve retikülin lif oranı değerlendirme (Resim 4) yapıldı. İnsanda farklı olan durum selüleritenin fazlalığı ve yağ dokusunun biyopside çok az oranda izleniyor olmasıydı (%90 hücresel olan + % 10 yağ dokusu). Ayrıca halka şeklinde nuklus içeren hemopoetik öncü hücreler vardı (Resim 5).

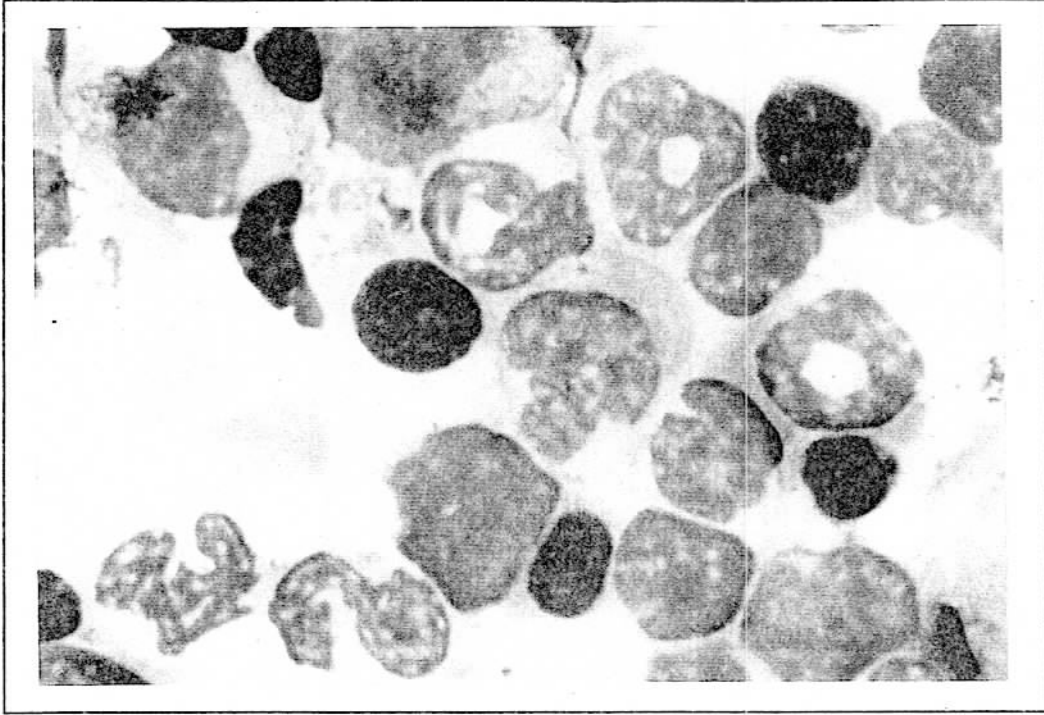
Kontrol grubu değerlendirmesi: Aspirasyonda; selüler, eritroid /myeloid (E/M) oranı doğal, her seri hücreden zengin az oranda blast içeren hücre grubu 100Xoil büyütme ve may-Graunwald-giemsa boyamasında izlendi. Myelositik seride hipersegmentasyon vardı. Megakaryositlerin nuklusları küçülmüş ve sayıları azalmıştı. Hematoxilen eozinle biyopsi boyaması 20X büyütmede değerlendirildi. Yağlanma hafif artmış ve %30 oranında görülmekteydi (Resim 6). Megakaryositler azalmıştı. Retikülin boyasında biyopsi 20X büyütmede değerlendirildi, bazı sahalarda yer yer retikülin lif artışı vardı. Bu alanlarda yağ dokusunda fazlaydı.



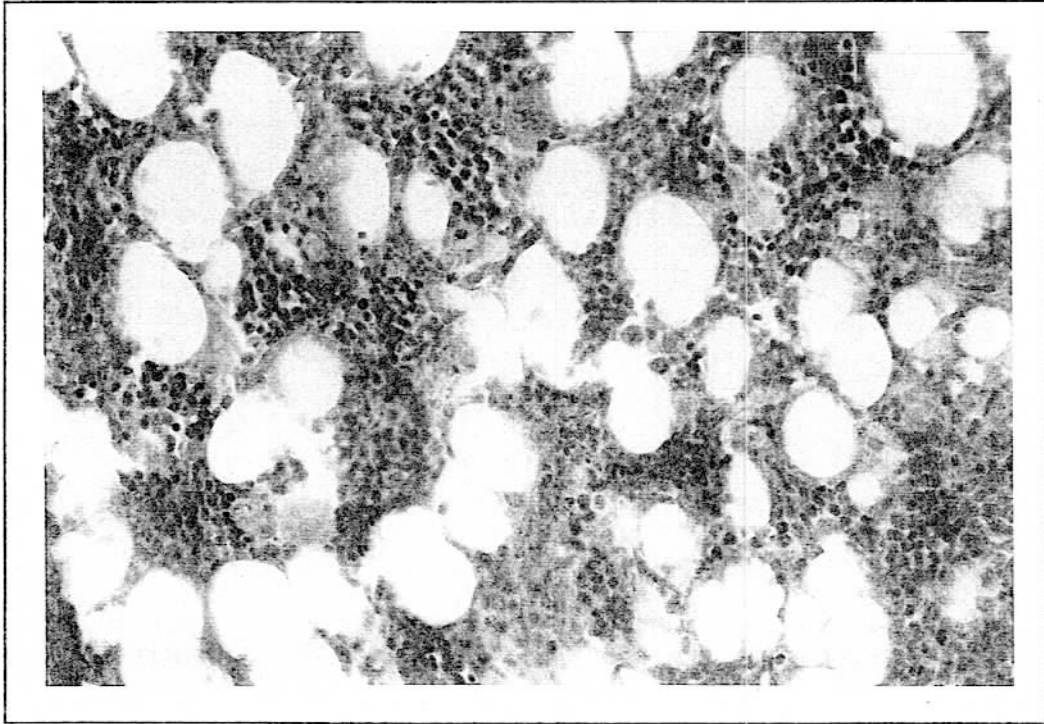
Resim 3: Sağlıklı rattaki KI biyopsisi izlenmektedir. (HE boyası, 20X)



Resim 4: Sağlıklı rattaki KI biyopsisi retikülin oranı (Retikülin boyası, 20X).



**Resim 5:** Rat Kİ de hemopoetik öncü hücreler (HE boyası, 100xOil )



**Resim 6:** Kontrol grubu Kİ biyopsisi yağlanma oranı ( HE boyası, 100xOil)

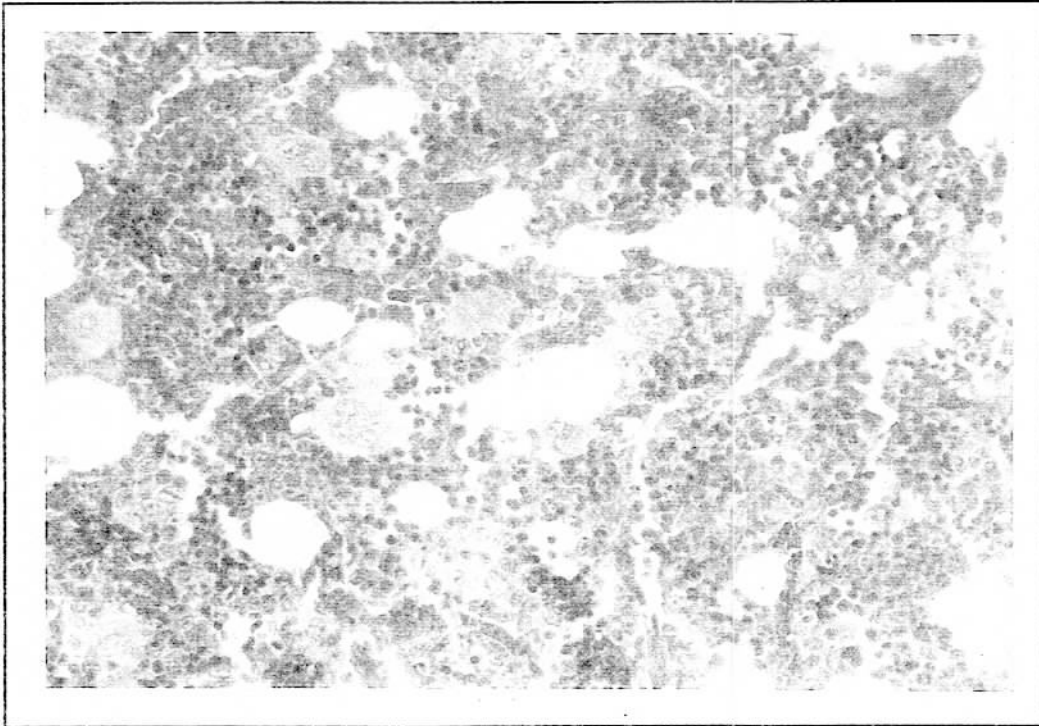
G-CSF +7 gün kemik iliği değerlendirmesi: Aspirasyon ve imprint incelemesinde eritroid seride artış ve myeloid seride hafif baskılanma izlendi. E/M oranı eritroid seri lehine bozulmuştur. Biyopside; yağ dokusu hafif artmış (%30),

buna bağlı olarakta selüerite bazale kıyasla hafif azalmıştı. Megakaryositler artmış izlendi. Biyopsi retikülin boyasında; normal retikülin lifleri izlendi. Ancak yağ dokusu etrafındaki lif artışı hafifçe izleniyordu.

G-CSF -7 gün kemik iliği değerlendirmesi: Aspirasyon ve imprint eritroid seride belirgin artış, hiperaktivite izlendi. Biyopside yağ dokusu artış ve %50 oranındaydı. Megakaryositlerde artmıştı. Retikülin liflerinde artışta izleniyordu.

GM-CSF +7 gün kemik iliği değerlendirmesi: Aspirasyonda; imprintte lenfoid hücrelerde belirgin artış izlendi. Eritroid seride canlıydı. Biyopside; yağ dokusu hafif artmış, megakaryositler çok zengindi ve belirgin bir retikülin lif artışı izlemişti, her sahada bol miktarda ve ağlar oluşturuyordu.

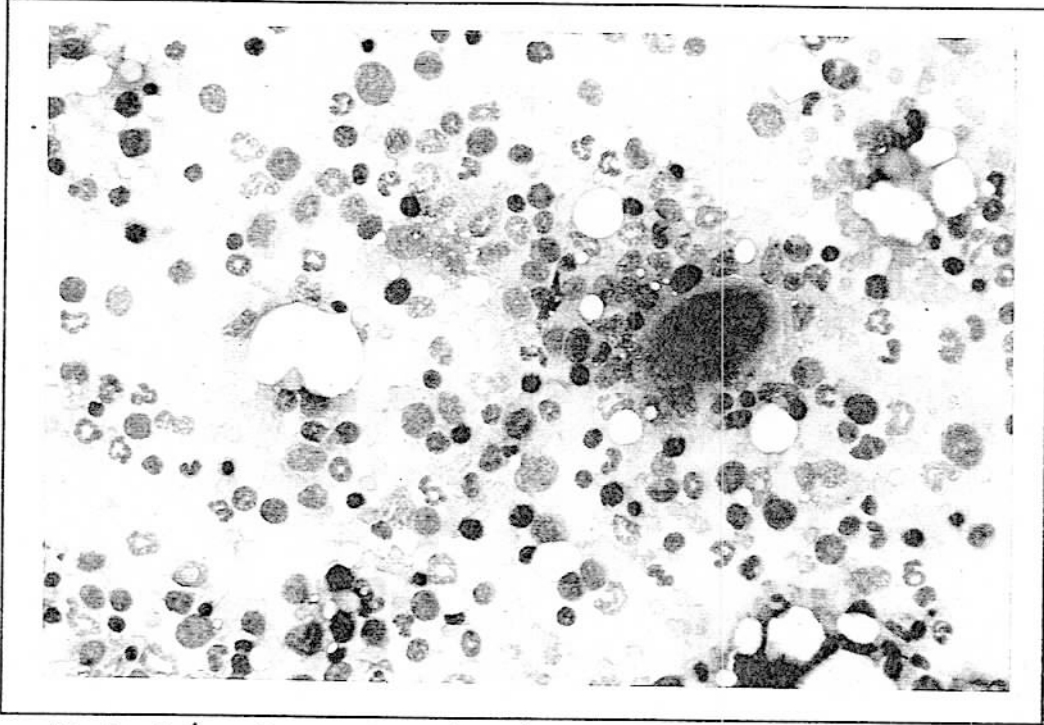
GM-CSF -7 gün kemik iliği değerlendirmesi: aspirasyon ve imprint; eritroid seride canlılık, lenfoid ve myeloid seride aktivite izlendi, ancak E/M oranı bozulmamıştı. Megakaryositler artmıştı. Biyopside yağ dokusu artışı vardı ve %50 oranında izleniyordu. Selüerite buna bağlı olarak daha az izleniyordu. Retikülin lifleri normal, hatta azalmış izlendi (Resim 7).



Resim 7: Grubu 5 Kİ yağlanma oranındaki artış.( HE boyası, 100xoil )

İnterferon  $\alpha$  2a kemik iliği değerlendirmesi : Normal sınırdaki izlenen aspirasyon ve imprint bulguları vardı, E/M oranı normaldi, hücreler normal yapıda

ve miktardaydı. Biyopside; yağ oranı ve megakaryositler normal sınırdıydı. Retikülin liflerinde ise lokalize artışlar vardı (Resim 8).

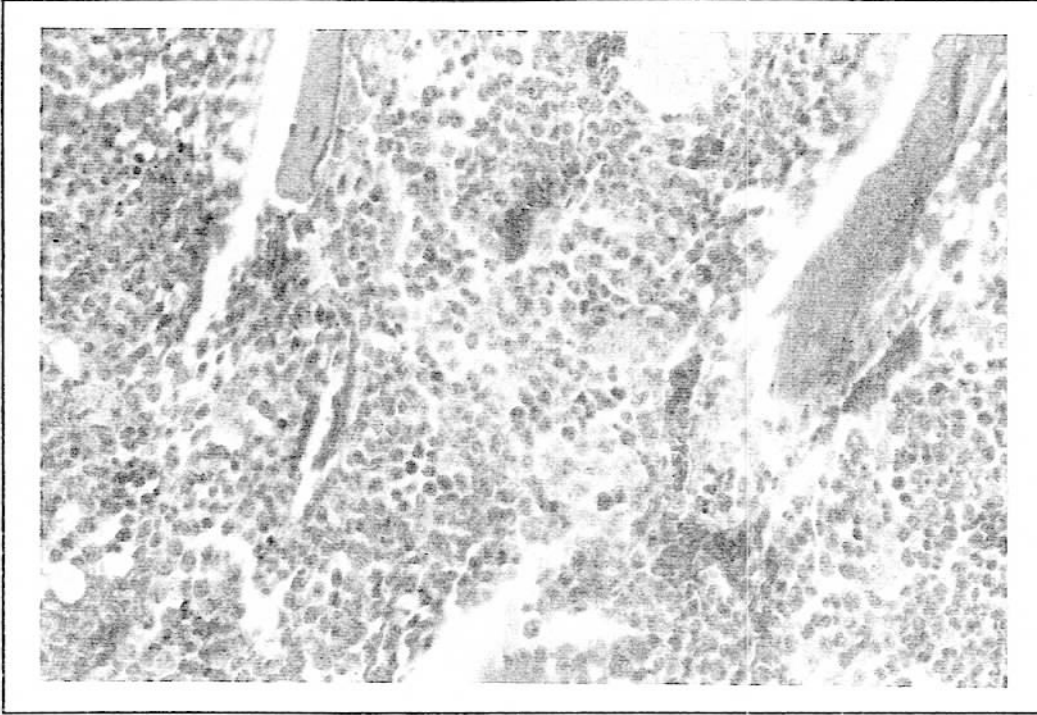


Resim 8: İnterferon  $\alpha$  2a grubu Kİ aspirasyonu (Giemsa, 40X )

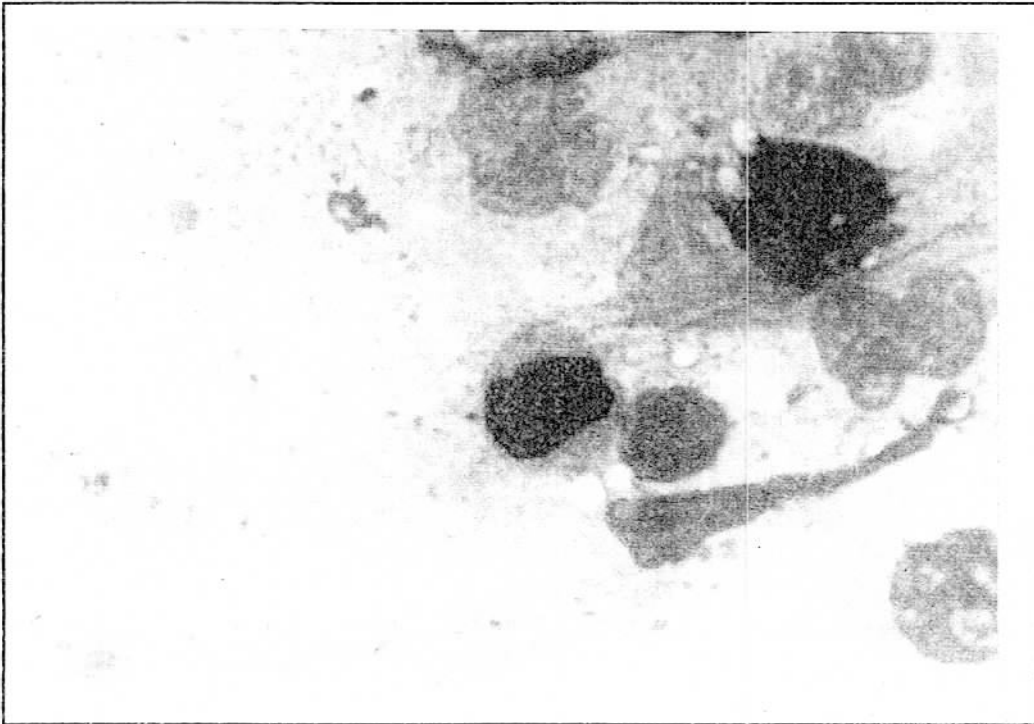
Eritropoetin kemik iliği değerlendirmesi: Kİ biyopsisinde hafif yağlanma mevcuttu %30. Eritroid seri hiperaktif izleniyordu, megakaryositler artmıştır. Retikülin lifleri artmış ancak kalınlaşmada mevcuttu, kalın bantlar şeklinde izleniyordu. İmpirint ise eritroid odacıkları ve eritroid seride hiper aktivite vardı.

Kloramfenikol kemik iliği değerlendirmesi: Yağ dokusu %30-40 oranda artmıştır. Eritroid seri aktif olarak izlendi. Megakaryositlerde artmıştı. E/M oranı eritroid seri lehine bozulmuştur. Blast oranı doğaldı (Resim 9). Retikülin lifleri normal sınırdıydı.

Gamaglobulin kemik iliği değerlendirmesi: Yağ dokusu normaldi. Megakaryositlerde hafif artış mevcuttu. Eritroid seri hafif baskılanmıştı ve E/M oranı myeloid seri lehine dönmüştü. Normoblastlarda nükleusta şekil bozukluğu mevcuttu, lobule nükleus vardı (Diseritropoez) (Resim 10). Retikülin liflerinde ise belirgin artış izlendi.



Resim 9: Kloramfenikol grubu Kİ biyopsisi (HE, 20X ).



Resim 10: Gamaglobulin grubunda Kİ aspirasyonunda lobule nükleuslu normablastlar izlenmektedir (May-Graunwald Giemsa, 100xoil).

## V- C: BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME SONUÇLARI

Gerek siklofosfamid, gerekse uygulanan diğer ilaçlar (G-CSF, GM-CSF, İnterferon  $\alpha$  2a, Eritropoetin, Kloramfenikol, Gamaglobulin) oluşturabilecekleri; hepatotoksiteleri, nefrotoksitelerini değerlendirme ve bu değişikliklerin çalışmayı etkileyerek yanlış sonuçlara ulaşmamızı engellemek amacıyla; Kreatinin, ürik asit, AST, ALT, LDH, ALP, glukoz parametreleri biyokimya laboratuvarında çalışıldı. Bu çalışma için ilki ilaç öncesi, ikincisi ilaçtan 5 gün sonra ve üçüncü çalışmanın 10.gününde olmak üzere 3 kez ölçüm yapıldı. Bu ölçülen parametreler kendi aralarında kıyaslandılar.

Grup 2'de G-CSF +7gün grubunda kreatinin düzeyi her üç ölçümde de normal sınırlarda seyretti ve her üç ölçüm kendi aralarında kıyaslandığında istatistiksel anlamlı bir farklılık bulunamadı ( $p>0,05$ ). Ortalama kreatinin düzeyi ilk ölçümde 0,9 mg/dl idi . Ürik asit düzeyi 1.ölçümde ort 1,8 mg/dL iken, ikinci ölçümde bu oran hafifçe azalmış 1,2 mg/dL olmuş ve buda istatistiksel bir farklılık yaratmamıştır, ancak 3.ölçümde 4,6 mg/dL ort değeri ile istatistiksel anlamlı bir artış göstermiştir ( $p=0,0069$ ). Yalnızca 2 ratın ürik asit düzeyi normal kalırken, diğer 8 ratta ürik asit belirgin yüksek bulunmuştur. AST'nin başlangıç ölçümünde ort  $417\pm 17,76$  U/L bulunmuştur. 5.gün ölçümünde bu değer  $216\pm 2,58$  U/L ölçüldü. Bu KT sonrasındaki istatistiksel anlamlı azalmasını gösteriyordu ( $p<0,05$ ). 10.günde ise AST değerlendirmesinde ort değer  $524,67\pm 79,59$  U/L bulundu ve bu hem başlangıç, hemde 2.ölçüm için istatistiksel anlamlı yükselmeydi ( $p<0,05$ ). ALT ölçümlerinde başlangıç ort  $97,6\pm 3,33$  U/L, 2.ölçümde  $68,38\pm 7,07$  U/L ve son ölçümdede  $91\pm 8,87$  U/L bulundu. İlk ölçümle ikinci ölçüm arasında ve ikinci ölçüm ile üçüncü ölçüm arasında istatistiksel anlamlı farklılık vardı ( $p<0,05$ ) ancak ilk ölçümde üçüncü ölçüm arasında böyle bir fark görülmedi ( $p<0,05$ ). Yani ALT önce azaldı, sonra normal sınırlarda seyretti. ALP değerleride başlangıca kıyasla 5.gün ve 10.gün ölçümünde azalma izlendi. Başlangıçta ort  $357\pm 81,47$  U/L iken, 5.günde  $209\pm 28$  U/L ve 10.günde  $186\pm 26$  U/L bulundu, bu değişiklikte istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0,05$ ). LDH 1.günde ortalama  $8620\pm 205$  U/L, 5.günde ortalama  $2694\pm 756$  mg/dL ile ciddi azalma ( $p=0,0001$ ) ve 10.günde ortalama  $6234\pm 933$

mg/dl ile iyileşme dönemi gösterilmiştir. Glikoz ölçümleri kararlı bir tutumla ort değeri  $12\pm 4,8$  olarak seyretmiştir.

Grup 3: G-CSF -7gün grubunun biyokimyasal değerleri irdelendiğinde ise; kreatinin ölçümlerinin kararlı bir durum gösterdiği 1.güne ort  $1,01\pm 0,18$  mg/dL bulunan değer 5.gün ve 10.günde yaklaşık aynı değerde seyrettiği görüldü. Ürik asit düzeyi ise başlangıç ve 5.günde normal sınırlarda seyrederken ( $2,09\pm 0,17$  mg/dL'ye karşın  $1,96\pm 0,20$  mg/dL idi), 10.gün ölçümünde önemli bir ürik asit düzeyinde azalma izlendi ve ort  $0,55\pm 0,108$  mg/dL bulundu. Bu azalış istatistiksel anlamlıydı ( $p=0,0106$ ). AST ölçümlerinde 0 ve 5.günde kararlı bir durum izlenip normal düzeyde seyrettiler. Oysa 10.günde belirgin azalmış olduğu görüldü ( $p<0,05$ ). 1.günde ort  $3,92\pm 30$  U/L, 5.günde ort  $407\pm 18$  U/L, 10.günde  $177\pm 21$  U/L bulundu. ALT; KT ile beraber kararlı bir azalış gösterdi. 0.günde  $138\pm 31$  U/L olan düzeyi, 5.günde  $96\pm 0,17$  U/L, 10.günde  $62\pm 5,97$  U/L bulundu ( $p=0,0078$ ) ALP'da ALT'ye benzer bir sayım göstermiştir. 1.ölçümden sonra tedricen azalmıştır. 1.günde  $96\pm 6$  U/L düzeyine inmiştir. LDH düzeyide aynı süreci göstermiştir. KT öncesinde ort değeri  $8987\pm 196$  U/L olan düzeyi 5.günde  $5519\pm 2255$  U/L ve 10.günde  $2572\pm 349$  U/L bulunarak ne kadar anlamlı bir azalış gösterdiği görüldü ( $p<0,005$ ). Bunlardan çıkarılan sonuç ise bu grupta tedavi ile renal fonksiyonlar bozulmamış, ancak KC enzimlerinde belirgin azalma izlenmiştir. Glukoz ölçümü değişkenlik göstermemiştir.

Grup 4: GM-CSF +7 gün grubu kimyasal analizinde; Kreatinin düzeyi her üç ölçümlerde de yaklaşık aynı ort değerlerle, normal sınırlarda kararlı bir düzey sergilemiş, yani renal fonksiyon bozukluğu tespit edilmemiştir. Ürik asit düzeyi 1 ve 2.ölçümlerde normal sınırlarda iken, 3.ölçümde 2 katı bir artış gösterdi. Başlangıçta ort  $2,07\pm 0,31$  mg/dL, 2.ölçümde  $0,98\pm 0,13$  mg/dL, 3.ölçümde ise  $4,86\pm 1,21$  mg/dL olduğu tespit edildi, bu farklılaşmalar ise istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0,05$ ). AST ölçümleri 2.gruptaki sonuçlara benzerdi, başlangıçta ort  $4,11\pm 15$  U/L iken, 5.günde  $216\pm 40$  U/L ile azalma, 10.günde ise  $631\pm 121$  U/L ile önemli bir artış göstermiştir. Bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p< 0,05$ ). ALT düzeyi başlangıca kıyasla 5.günde azalma, 10.günde ise normal sınırlara dönme şeklinde

seyretmiştir. Ort değerleri;  $98\pm5$  U/L,  $73\pm8$  U/L ve  $106\pm13$  U/L hesaplamıştır. ALP başlangıçta  $277\pm 20$  mg/dL ortalamadan, 5.gün ve 10.günde  $160\pm29$  U/L ve  $106\pm13$  U/L düzeylerine kararlı bir azalış gösterdi ( $p<0,05$ ). LDH düzeyi ise başlangıçtaki  $8575\pm527$  mg/dL değerinde 5.günde önemli bir alçalma gösterdi ve  $5220\pm2057$  U/L ortalama değer bulundu. Bütün bu farklılıklar kendi aralarında kıyaslandığında anlamlıydı ( $p< 0,05$ ). Glukoz değerlerinde farklılık izlendi.

Grup5:GM-CSF-7 gün grubu biyokimyasal parametreleri değerlendirmesinde gördüklerimiz ise, kreatinin düzeyi ölçümlerde normal seyretmiş ve ürik asit düzeyi yine kararlı bir durumla azalmıştır. AST ve ALT benzer bir seyir gösterip, 1 ve 2.ölçümde normal 10.günde yarısı kadar azalmıştır. ALP 1.günden itibaren azalış gösterdi. 5.gün ve 10.günde istatistiksel anlamlı olarak azaldı ( $p<0,05$ ). Ort değerleri 382, 246, 109 U/L bulundu. LDH, ALP ile aynı süreci gösterdi. Başlangıçtan itibaren tetricen azaldı. Bu azalış günler arasında kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaydı ( $p<0,05$ ). (8694, 5693, 2107 U/L ort değerleri ile). Bütün bunların anlamı hepatik ve renal fonksiyon bozukluğu izlenmediği ve hematolojik parametrelerde göreceli bir etkilenme olmadığının açıklanmasıdır. Glukoz ölçümleri kararlı bir seyirle normal sınırlarda bulundu.

Grup 6: İnterferon  $\alpha$  2a grubu biyokimya sonuçları; En yüksek ölçümlerinin yapıldığı 5.gün değerleri kreatin düzeyi  $1,18\pm0,6$  mg/dL ort düzeyi ile, ürik asitte  $2,01\pm0,3$  mg/dL ortalama değeri ile normal sınırlarda seyretmiştir. AST değeri 362 mg/dL başlangıç, 341U/L 5.gün ve 298 mg/dL 10.gün ölçümleriyle stabil bir seyir göstermiş ve farklılık tespit edilememiştir. ALT değeri ise 5.günde azalma, 10.günde ise normal sınıra dönmesi ile diğer gruplarla aynı seyri izlemiştir. ALP düzeyi 0.günden itibaren kararlı bir azalış gösterdi. LDH düzeyide aynı ALP gibi 0.günden sonra 5. ve 10.günlerde istatistiksel anlamlı olan bir azalma gösterdi ( $p<0,05$ ).

Grup 7: Eritropoetin grubu biyokimyasal incelemesindeki bulgular: Kreatin düzeyi ve ürik asit düzeyi her üç ölçümdede normal sınırlarda seyretti, anlamlı farklılık bulunamadı. Başlangıç ölçümlerinde kreatin ortalama değeri;  $1,17\pm0,5$  mg/dL, ürikasit ortalama değeri;  $1,82\pm0,6$  mg/dL bulundu. AST ölçümü başlangıç ve 5.günde normal sınırlarda ortalama  $3,48\pm13,5$  U/L de seyrederken 10.günde hafif

azalma kaydedildi, ancak bu azalış anlamlı değildi ( $p<0,05$ ). ALT ölçümü her üç değerlendirilmede kararlı ve normal sınırlardaydı. ALP 5.günde en alt sınırdaki 127±8 U/L ile ölçüldü. Ancak 0.güne ve 10.günde normal sınırlardaydı. 5.gün ölçümü 0.güne ve 10.güne göre istatistiksel olarak anlamlı az bulundu ( $p<0,05$ ). LDH değeri daha önceki tüm gruplarda olduğu gibi 0.güne kıyasla 5. ve 10.günde tetici bir azalma gösterdi. İstatistiksel anlamlıydı. Glukoz ölçümü ise her üç ölçümde de normal sınırlardaydı.

Kloramfenikol grubu biyokimyasal parametreler izlemi: Kreatin düzeyi 1,29 mg/dL ortalama düzeyi ile her 3 ölçümdede normal sınırlarda seyretmiştir. Ratinların hiç birinde renal fonksiyon bozukluğu bulgusu izlenmedi. Ürik asit düzeyi ise 0 ve 5.gün ölçümlerinde normal, 10.günde istatistiksel olarak anlamlı olmayan hafif bir artış gösterdi. AST, ALT ve ALP değerlendirmelerinde önemli bir artış veya azalma görülmedi. Kararlı bir seyirle normal ortalama değerleri gösterdi. AST ortalama 5.günde 465±30 U/L, ALT ort 5.günde 96±8 U/L, LDH ort 5.günde 645±237 U/L ölçüldü ve LDH hafif bir azalma gösterdi. Glukoz normal sınırlarda seyretti.

Grup 9: Gamaglobulin grubu biyokimyasal parametre analizleri; Bu gruptaki ölçümlerde de önemli hepatotoksisite ve renal toksisite izlenmedi. Kreatin, ürik asit, ALT, AST, ALP ve LDH tüm ölçümlerde normal sınırlarda seyrettiler. 5.gündeki ort değerleri ise şu şekildeydi. Kreatinin; 1,26±0,6 mg/dL, Ürik asit 1,3±0,8 mg/dL, AST; 198±3,6 U/L, ALT; 112±17 U/L, ALP; 125±9,8 U/L, LDH: 8339±2027 U/L bulunmuştur. Bütün gruplardaki sunulan biyokimyasal analizlerden de anlaşılacağı gibi uygulanan deney ilaçlarına ve siklofosfamide bağlı olarak, ciddi bir KC ve böbrek toksitesi görülmemiştir. Deneyin bu şekilde oluşabilecek komplikasyonların yaratacağı etkilenmeden uzak kalmasına ve daha doğru sonuçlar vermesine yardımcı olmuştur.

## VI - TARTIŞMA

Kemik iliğinin kanser kemoterapisi ile baskılanması sıklıkla görülen bir durumdur. Özellikle yüksek doz kemoterapi uygulamalarından sonra Kİ baskılanması eritrosit, trombosit ve beyaz küre serisinde olabilir. Bu hücrelerin etkilenmesi ile pansitopeni (anemi, trombositopeni, nötropeni) gelişebilir. Ancak bu etkilenmenin periferik kana yansımaları farklı zamanlarda olur, bu hücrelerin yaşam süreleri ve yarılanma ömürleriyle ilgilidir. Bir sitotoksik ilaç kullanımı sonrası myelosupresyon oluşumunda, ilk nötropeni, daha sonra trombositopeni, en geç ve daha az sıklıkta anemi görülür. Bilinen bütün antineoplastik ajanlar erken veya geç dönemlerde özellikle doza bağlı olarak Kİ baskılanması yapabilirler.

Bu hemotolojik yan etkiler beraber kemoterapiye bağlı diğer sistemlerin etkilenmelerinde göz önüne alındığında, çok yoğun ve ciddi bir destekleyici tedavi gerekmektedir. Özellikle Kİ baskılanmasının izlemi ve destek tedavisi en önemlisidir. Enfeksiyon ve kanama bulgusu çok dikkatli olarak araştırılmalıdır. Destekleyici tedavide kan ve kan ürünlerinin transfüzyonu; bir çok bulaşıcı hastalık ve allerjik reaksiyon riskini taşısa da, kaçınılmaz olmakta ve halen yaygın olarak kullanılmaktadır. Günümüzde yüksek doz kemoterapilerde, Kİ transplantasyonunda ve periferik kök hücre transplantasyonunda GM-CSF ve G-CSF gibi growth faktörler destekleyici amaçla kullanılarak nötropeni periyodu kısaltılmaya ve enfeksiyondanda korunulmaya çalışılmaktadır (93). İnterlökin 3 ve 6'nın platelet sayısını artırabildiğinin keşfedilmesiyle, IL 1 $\alpha$  ve makrofaj-koloni uyarıcı faktörün (M-CSF) trombositopeninin önlenmesinde ve tedavisinde kullanılabileceği araştırılmaktadır (94, 95).

Bugün hematopoetik growth faktörlerin KT'ye bağlı myelosupresyonda etkin olarak kullanabildiği söylemez. Halen kan ürünlerin transfüzyonu (eritrosit süspansiyonu, trombosit süspansiyonu, nadiren lökosit süspansiyonu) hücre ayırma cihazlarıyla hazırlanarak kullanılmakta ve bu iş için özel sistemler geliştirilmiş bulunmaktadır. Ancak gelecekte birkaç hemopoetik growth faktörün kombine

kullanımı ile etkinlik artırılabilir ve KT'lerde gerçekten, önemli destekleyici tedavi sağlanabilecektir (11).

#### VI- A: Kontrol Grubu:

Çalışma başlatılırken, kontrol grubunda ve bütün çalışma gruplarında güvenilir ve kararlı bir myelosupresyon oluşturulması ve uygun model üzerinden yapılması şarttı. Bu nedenle öncü çalışmada 5-flourourasil, Sis-platin, siklofosfamid ve karboplatin gibi sitostatikleri ratlara uygulayarak model tanımlamaya çalışıldı. Bunların içinden en kararlı myelosupresyonun siklofosfamidle oluşturulduğu görüldü. Hem siklofosfamid uygulanan bütün ratlarda pansitopeni oluşturulabiliyor (anemi, trombositopeni ve nötropeni), hem de bu pansitopeni ilaç uygulamadan hemen sonra başlayıp, belirli bir zaman aralığında tüm ratlarda aynı seyri gösteriyordu. Bu ideal modelin siklofosfamidle oluşturulan myelosupresyonun olduğu görüldü ve 1.grub hem kontrol grubu hemde deney modeli olarak kullanılmıştır. Siklofosfamid verilen 10 ratta istenilen myelosupresyon sağlanmış ve hematolojik parametreler, fiziksel aktiviteleri, biyokimyasal analizleri izlenmiş ve diğer 8 çalışma grubu bu bazal değerlendirme ile kıyaslanmıştır.

Siklofosfamid bu çalışma için doğru bir seçim olduğu ve sağlıklı bilgiler verdiği düşünülmektedir. Myelosupresyon modeli literatürde 5Flourourasil ve Radyoterapi kombinasyonu kullanılarak tanımlanmıştır(96). Yalnız 5Flourourasil verilmesi (97), yalnız radyoterapinin kullanılması ile myelosupresyon oluşturulan çalışmalarda mevcuttur (98). Ancak 5-Flourourasil ile yapılan öncü çalışmada istenilen kararlı durum elde edilemediği için, bu çalışmada siklofosfamid tercih edilmiş ve kullanılmıştır.

Kontrol grubundaki ratların kemoterap uygulanımı sonrası pansitopeni dönemindeki önemli günlük aktivite kaybı, 15. günde hematolojik düzelmeye tamamlanmaya kadar sürmüştür. Growth faktör alan gruplarda ise emoterapi sonrası aktivite ciddi oranda azalmamıştır. Özellikle -7 gün tedavisi alan gruplarda myeloprotektif etki ile beraber genel vücut aktiviteleri korunulmuş ve daha sağlıklı klinik seyir gösterilmiştir. Siklofosfamidin yan etkisi olan hemorajik sistit (klinik olarak hematürisi olduğu için düşünülen) tüm gruplar göz önüne alındığında

yaklaşık %10 bulunmuştur. Bunun su tüketiminde azalma ve buna bağlı hidrasyon sağlanamaması nedeniyle belirginleşmiş olabileceği düşünülmüştür.

#### **VI- B: Growth Faktörler:**

Çalışmanın ilk 4 grubunda amaç nötropenin önlenmesinde ve GM-CSF ile G-CSF'nin nötrofillerin yanısıra eritropoez ve trombopoez üzerine etkisini değerlendirmek, iki growth faktörün birbirlerine üstünlüğünü kıyaslamak, growth faktörlerin kullanım teorisinin etkinliğini gösterebilmektir. Ayrıca growth faktörlerin geleneksel kullanımının dışında, yeni bir teknikle uygulamak ve etkinliğini araştırmak amaçlanmıştır.

Dört grupta (Grup 2,3,4,5) eşit sayıda ve özellikle ratlar kullanılmış eşit parametre değerlendirmesi yapılmış, aynı dozlarda ilaç uygulanarak, teknik farklılıklar oluşmasına izin verilmeyerek çalışma yapılmıştır. Grup 2 ve 3'de kullanılan G-CSF (Filgrastim) 1986 yılından itibaren kemoterapiye bağlı nötropenide, Kİ transplantasyonu sonrası myelosupresyonda, ciddi kronik nötropenide, akut lösemi, aplastik anemide, myelodisplastik sendromda, periferik kök hücre mobilizasyonunda halen uygulanmaktadır. G-CSF spesifik yüzey reseptörlerine bağlanarak nötrofil öncülerinin farklılaşmasını ve çoğalmasını uyarmaktadır (99). G-CSF progenitor hücreler gibi matür lenfositleride etkilemekte, f-MLP reseptörlerine bağlanmasını artırmakta, kemotaksisi sağlamakta, kimyasal uyarılara cevap olarak süperoksit üretimini artırmaktadır (100).

Filgrastimin biyolojik etkisinin nötrofil zincirindeki hücreler üzerinde olduğu gösterilmiştir ve buda klinik etkisi ile direk ilişkilidir. Bazı verilerde blast öncü ve myeloid öncü hücreler ile motor hücreler üzerinde etkisi ispatlamıştır (101).

Faz I çalışmalarında hastaların kemik iliğinde doza bağımlı olarak erken myeloid hücre oranında bir artış görülmüştür, hatta erken/geç myeloid hücre oranı artmış bulunmuştur. Bununla beraber lenfositlerde dozdan bağımsız, monositlerde de doza bağımlı artış bulunmuştur. Ancak diğer kemik iliği hücre grupları üzerine etkileri halen yeterince açıklanamamıştır. Eritrositler ve trombositlerde bazı hastalarda azalma yaptığı görülmüştür. Hb ve Htc değerleri üzerinde ise etkisi yok kabul edilmektedir (102).

Grup 2’de G-CSF geleneksel uygulanım şekliyle Kemoterapi sonrasında 24.saatte başlanılmış ve +7 gün verilmiştir. Nötropeni oluşmuş ancak mutlak nötropeni gelişmemiştir. Ayrıca nötropeni 3 gün gibi kısa bir süre devam etmiştir. Oysa kontrol grubunda bu süre 9 gündür ve ratlar mutlak nötropeniye girmişlerdir. Kontrol grubu ile G-CSF +7gün grubunun en derin nötropenik dönemleri kıyaslandığında, G-CSF +7gün grubu istatistiksel olarak anlamlı bir üstünlük göstermektedir ( $p < 0,05$ ). Bu sırada klinik olarak ratların daha sağlıklı olduğu ve daha az lokalize enfeksiyon geliştiği izlenmiştir.

Hb’nin 6.gündeki ölçümleri kıyaslandığında Grup 2 ve 3’ün G-CSF alan her iki grubunda Hb değerinin istatistiksel anlamlı olarak kontrol grubundan yüksek seyrettiği görülmüştür ( $p=0,0005$ ). Hb 9.gündeki değerlendirmede ( $p=0,0000$ ), Hb 12.günde ( $p=0,0004$ ), Hb 30.gündeki ( $p=0,0012$ ) değerlendirmelerde G-CSF +7 gün grubunun anlamlı olarak kontrol grubundan üstün olduğu görülmüştür. Yani growth faktör verilen grupta anemi daha az oluşmuş ve KT daha iyi tolere edilmiştir.

Hatta G-CSF eritropoez üzerinde olumlu etki yapmaktadır. MCV’deki farklılıklar kontrol grubu ile kıyaslandığında G-CSF +7 gün ve -7 gün gruplarında 3.günde ( $p=0,0004$ ), 9.günde ( $p=0,036$ ), 12.günde ( $p=0,0000$ ), 30.günde ( $0,0042$ ) daha üstün olduğu görülmüştür. Bu farklılık MCV’de kontrol grubunda aşırı bir artış var iken, G-CSF gruplarında MCV artış daha az ve sınırlı olmuş, bariz makrositoz gelişmediği izlenmiştir. Bu da eritropoezin en iyi şartlarda korunulmaya çalışıldığını göstermektedir.

RBC ölçümlerinde de kontrol grubu ile G-CSF +7 ve -7 gün grupları arasında kıyaslama yapıldığında 3.gün ( $p=0,0176$ ), 6.gün ( $p=0,0001$ ) 9.gün ( $p=0,0000$ ), 12.günde ( $p=0,0001$ ) ve 30.günde ( $p=0,0426$ ) sonuçları ile istatistiksel anlamlı olarak G-CSF grupları lehine olduğu görülmüştür. RBC sayısı kontrol grubunda dramatik olarak azalmışken, G-CSF grubunda bu azalış daha muhafazakar olmuş ve daha yüksek sayılarda kalması sağlanmıştır. Yani kontrol grubu daha derin anemiye girerken, G-CSF grupları anemiyi daha hafif geçirmiştir. Bütün bu sonuçlardan anlaşılacağı gibi G-CSF grubunda eritropoez korunmuş ve eritrositlerin KT’den daha az etkilenmesi temin edilmiş, eritropoezin gelişim süreci desteklenmiştir.

Diğer önemli konu, G-CSF'nin PLT üzerindeki etkisini değerlendirmektir. Bunun için literatürde yeterince açık bilgiler bulunamamıştır. Bu nedenle deney grubumuzda bu konu hassasiyetle izlenmiştir. PLT sayımları PY ile desteklenip doğrulandıktan sonra, kontrol grubu ve G-CSF grupları sonuçları kıyaslanmıştır. Bu kıyaslamada 3.gün ( $p=0,0002$ ), 6.gün ( $p=0,0002$ ), 9.gün ( $p=0,0418$ ) ölçümlerinde G-CSF +7 gün grubunun PLT sayımında ortalama değerin kontrol grubunun ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu görülmüştür. Yani trombopoez Kemoterapi sonrasında G-CSF verilmesi ile korunmuş, desteklenmiş ve ciddi, yaşamı tehdit edici trombositopeni gelişmesi önlemiştir. Bu istatistiksel sonuçlarla G-CSF'ün trombopoezi desteklediği söylenebilecektir.

WBC değerleri yönünden; 3.gün ölçümlerinde, 6.günde, 9.günde, 12.günde yapılan ölçümlerde kontrol grubu ile G-CSF +7 gün ve -7 gün grupları arasında anlamlı istatistiksel farklılık görülmüştür ( $p=0,0000$ ). Bunun anlamı ise G-CSF sitostatik ilacın nötropenik etkisini önlemektedir. Denekler mutlak nötropeniye girmemişler ve nötropeni süresi ise daha kısa sürmüştür. Bu sonuçlar literatürle uyumludur. G-CSF gerek KT öncesi, gerekse KT sonrası uygulanımı hemopoetik growth etkisi dolayısıyla; eritropoezi, trombopoezi ve granulositogenezi desteklemiş, pansitopeniyi önlemiştir. Bu sonuç literatürde trombopoez ve eritropoez bulguları için ilk kez yer almaktadır.

G-CSF kullanılarak oluşturulan iki grubun yani G-CSF +7 gün grubu ve G-CSF -7 gün grubu arasında farklılık olup olmadığı ise bu çalışmanın ana temalarından birini oluşturmaktadır. Bizim hipotezimiz; Growth faktörler kemoterapi öncesi verilecek olursa; erken dönemde granulositogenez uyarılacak blast, progenitor hücrelerin farklılaşmaları ve çoğalmaları hızlandırılacak ve kemoterapi sırasında önemli bir rezerv oluşacak ve nötrofil gelişim akışı kesilmeksizin devam edebilecektir. Bunun içinde KT öncesi -7 gün G-CSF verilen grup (Grup 2) ile KT sonrası +7 gün G-CSF verilen grup (Grup 3) nötrofil sayıları için kıyaslanmışlardır.

Her iki grupta da KT sonrası nötropeni oluşmuştur. Ancak +7 gün grubunda daha erken ve daha derin bir nötropeni gelişmiş, -7 gün grubunda nötropeni hafif atlatılmış ve en derin nötropenik dönemde WBC ortalaması  $1510 /\mu\text{L}$  bulunmuştur.

Oysa +7 gün grubunda en derin nütropeni döneminde WBC ortalaması 1010/ $\mu$ L idi. Bu iki değer Mann Whitney U testi ile kıyaslandığında,  $p=0,0001$  bulunmuştur. Bu sonuç Kemoterapi öncesi growth faktör verilmesinin, kemoterapi sonrasında verilmesinden daha etkin olarak nütropeniye önlediğini kanıtlamıştır. Şayet daha büyük sayılardaki deneklerle ve insanlar üzerindeki çalışmalarla bu bilgi desteklenirse growth faktörlerin kemoterapi öncesi kullanılmasının daha etkin olarak nütropeniye önlediği kuralı geçerli olacaktır.

GM-CSF kullanılarak oluşturulan 4 ve 5 çalışma gruplarının sonuçlarında önemli ayrıcalıklar taşımaktadır. Hb ölçümleri kontrol grubuna kıyasla GM-CSF grupların her ikisinde de anlamlı olarak yüksek seyretmiştir ve 6.günde ( $p=0,0005$ ), 9.günde ( $p=0,0000$ ), 12.günde ( $p=0,0004$ ) bulunmuştur. Yani GM-CSF gruplarında anemi daha hafif sınırlarda geçirilmişti, GM-CSF'de eritropoezi önemli oranda korumuş ve KT etkisini önlemiştir. MCV değerlendirmesinde ise kontrol grubu ile GM-CSF grupları arasında 12 gün ( $p=0,0000$ ) ve 30.gün ( $p=0,0042$ ) ölçümlerinde istatistiksel anlamlı farklılık gösterilmiştir. Bunun açıklaması ise MCV kontrol grubunda kontrolsüz bir büyüme gösterirken, GM-CSF olan gruplarda MCV normale yakın sınırlarda idamesi sağlanmıştır ve aşırı bir makrositoz gelişmesi önlenmiştir. RBC ölçümlerinde kontrol grubuna kıyasla GM-CSF olan gruplarda daha iyi sonuçlar 12.gün ( $p=0,0001$ ) ve 30.gün ölçümlerde ( $p=0,0426$ ) açık olarak gösterilmiştir. Diğer günlerde RBC sayısı normal ve normale yakın seyredip, yine kontrol grubuna kıyasla daha yüksek seyretmiştir. 12 ve 30.günler RBC sayısında azalmanın en fazla olduğu günler olup, bu günlerde dahi GM-CSF grupları stabilitesini korumuştur. Bu sonuçlar G-CSF grubuyla yaklaşık aynıdır. Hem G-CSF, hem GM-CSF eritropoeze etkileri için G-CSF -7gün ve GM-CSF -7gün grupları kıyaslanmış, ancak anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Koruyucu etkilerinin yaklaşık aynı düzeyde olduğu kabul edilmiştir. Eritropoez için GM-CSF -7gün ile +7gün grupları kıyaslanmış (4'e karşı 5.grup) ancak farklılık görülmemiştir.

Growth faktörlerin trombopoez için etkisi PLT sayımı ve PY ile değerlendirilmiştir. PLT ölçümlerinde kontrol grubu ile GM-CSF arasındaki farklılık 3.gün ( $p=0,0002$ ) ve 6.günde ( $p=0,0002$ ) açıkça görülmüştür. Trombopoezi

GM-CSF çok olumlu etkileyerek, KT'nin yan etkisi olan trombositopeninin gelişimini önlemiştir. Hatta trombositopeniyi önleme yeteneği GM-CSF'nin G-CSF'den daha fazla olduğu görülmüştür. En derin trombositopenik dönemler kıyaslandığında GM-CSF grubunda (-7gün ve +7gün) G-CSF grubundan daha üstün olarak trombositopeniyi önlediği görülmüştür. (-7 gün grubu için  $p=0,0072$ , +7 gün grupları için  $p=0,0209$ ). Bu sonuçlarda M-CSF'ün trombopoez stimülasyonu için kullanımının doğru bir yaklaşım olabileceği düşüncesini doğurmaktadır. Sonuç olarak KT sonrası trombositopeni gelişiminin önlenmesi her iki growth faktör ile (G-CSF ve GM-CSF) az orandada olsa yapılabilir ancak, GM-CSF G-CSF'den belirgin olarak daha önemli bir etkiye sahiptir.

Growth faktörlerin ana etki alanı olan nötrofil gelişimi için yapılan değerlendirmede ise, GM-CSF'nin kontrol grubuna üstünlüğü açıktır. 3, 6, 9 ve 12.günde aynı p değeri ile ( $p= 0, 0000$ ) istatistiksel üstünlük gösterilmiştir. 30.günde ise  $p= 0,0054$  bulunmuş ve GM-CSF grupları kontrol grubuna üstün bulunmuştur. Bunların anlamı GM-CSF etkin olarak kemoterapi sonrası nötropeni önlemede, nötropeni derinliği azaltmakta ve daha kısa sürmesini sağlamaktadır. Ancak bu etkisini yaparken eritropoez ve trombopoezde, granulositogenezden daha az etkili olmak üzere korumaktadır.

Bu çalışma gruplarının belirlenmesinde amaç kemoterapi öncesi ve sonrası growth faktör kullanımının etkinliğini kıyaslaması idi. Bu nedenle GM-CSF -7 gün grubu sonuçları WBC yönünden GM-CSF +7 gün grubu ile kıyaslandı. İstatistiksel olarak kanıtlanan GM-CSF -7 gün grubunun, nötropeni önlemede GM-CSF +7 gün grubundan daha başarılı olduğu görülmüştür ( $p=0,0232$ ). Bunun anlamı; kemoterapi öncesinde -7 gün GM-CSF vermekle daha ideal sonucu alıp, nötropeni önlenmektedir. Çünkü granulositer seri öncüleri kemoterapi öncesinde uyarılmakta, sayıları artırılmaktadır ve kemoterapi işlemi sırasında da kolaylıkla nötropeniye girmemektedirler. Hiç bir deneğin bu grupta mutlak nötropeniye girmemesi çok önemli bir bulgudur. Ayrıca nötropeninin 3 gün gibi kısa bir süre devam etmesi de istenilen bir durumdur.

Yine bu çalışma gruplarının oluşturulmasındaki diğer bir amaçta GM-CSF ve G-CSF'nin etkilerinin birbirleri ile kıyaslanmasıdır. Çünkü günümüzde en sık

tartışılan konulardan biri olmasına rağmen yeterli çalışma sunulmamış ve net bir cevap bulunamamıştır. Biz özellikle uygulama tekniğinden kaynaklanan bir yanılğı olabileceğı düşünceyle; GM-CSF +7gün grubu ile G-CSF +7gün grubu sonuçlarını her parametre için kıyasladık. Ancak PLT sayımı dışındaki hiç bir parametrede anlamlı farklılık bulamadık. Özellikle WBC değerleri kıyaslandığında  $p=0,1564$  bulundu ve farklılık anlamsızdı. WBC sayısı için GM-CSF -7 gün grubu ile G-CSF -7 gün grubu kıyaslanmış ve farklılık tespit edilememiştir ( $p= 0,8421$ ).

Sonuç olarak KT öncesinde -7 gün growth faktörlerden herhangi birini kullanmak kemoterapiye bağılı nötropeniye önlemede ideal yaklaşım olacaktır. Ayrıca anemi ve trombositopeni içinde iyileştirici etki sağlanacaktır.

#### **VI- C: İnterferon $\alpha$ 2a;**

İnterferon  $\alpha$  2a alan 6.grubun sonuçlarında klasik bilgilerin dışında önemli veriler elde edilmiştir. Genel bilgilerde de bahsedildiğı gibi İnterferon  $\alpha$  2a 1988 yılındaki keşfinden sonra antiangiogenik etkisi nedeniyle yaşamı tehdit eden pulmoner hemangiomlar tedavisinde kullanılmıştır (103). İnterferon  $\alpha$  2a'nın organizmada geri dönüşümlü bir toksik etkisi olup; anemi, geçici nötropeni, KC fonksiyon bozukluğu bunlar arasındadır. Ancak İnterferon  $\alpha$  lenforetiküler neoplazmların önlenmesinde başarılı olmuştur. Hairy-cell lösemide %85, kronik myeloid lösemide %75, nodüler non-Hodgkin lenfomada %45 başarı sağlanmıştır. Multiple Myeloma ve kronik lenfositik lösemide de kullanılmakta ve etkin cevaplar oluşmaktadır. Bilinen başlıca 2 etkisi vardır. Tümöral hücreler arasındaki ilişkiyi etkileyip, direk olarak tümör büyümesini durdurabilir veya immün cevabın uyarılmasını sağlayarak indirek yoldan etkileyebilir. İmmün cevapta yapabildikleri ise MHC antijenlerin çoğalmasını artırmak, doğal öldürücü hücreleri aktive etmek, sitotoksik T hücrelerin etkisini artırmak ve makrofajların aktivasyonunu sağlamaktır (104). İnterferon  $\alpha$  2a'yı kullanmamızın nedeni ise hemopoetik mikroçevredeki her alanda etkisini belirlemektir. KT'ye yardımcı olarak kullanıldığında hemopoetik hücre serileri üzerine etkilerini görmek amaçlanmıştır.

Nitekim İnterferon  $\alpha$ 2a anemi gelişiminin önlenmesinde son derece yararlı etki oluşturmuş, kontrol grubuna kıyasla 6.gün ( $p=0,0005$ ), 9.gün ( $p=0,0000$ ), 12.gün ( $p=0,0004$ ), 30.günde ( $p=0,0012$ ), ölçümlerinde belirgin üstünlük göstermiştir. İnterferon grubunda hafif bir Hb azalması görülmüş ve kısa sürede düzelmiştir. MCV’de ise 3.gün ( $p=0,0004$ ), 12.gün ( $p=0,0000$ ) ölçümlerinde kontrol grubundan daha iyi sonuçlar alınmıştır, MCV normal sınırlarda korunmuştur. RBC ölçümlerinde de kontrol grubunda belirgin üstündü, 3.günde ( $p=0,0176$ ), 6.günde ( $p=0,0000$ ), 9.günde ( $p=0,0000$ ), 12.günde ( $p=0,0001$ ), ve 30.günde ( $p=0,0426$ ), RBC sayısı daha yüksek sınırlarda seyrederek aneminin hafif geçirilmesini sağlamıştır.

WBC ölçümü çok kararlı bir tutum sergilemiştir. En derin nötropeni döneminde ortalama WBC sayısı 977 / $\mu$ L bulunmuş ve bu değerin kontrol grubundan belirgin üstün olduğu açıktır. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p=0,0000$ ). Ayrıca WBC izlemi kararlı bir tutum sergilemiş, nötropeni kısa sürmüş ve hücre ölçümü ort 1500 / $\mu$ L civarında seyretmiştir. Kontrol grubuna göre ise 3, 6, 9. ve 12.gündeki ölçümlerde anlamlı bir üstünlük sağlamıştır ( $p=0,0000$ ). Bu sonuçlar interferon tedavisinin geçici nötropeni yaptığı tezinin yeniden düşünülmesi gerekliliğini vurgulamaktadır. İnterferona bağlı nötropeni olarak sunulan vakaların önemli bir bölümü hepatit için interferon tedavisi uygulanan olgularıdır (104,104). O nedenle bu etkinin sadece interferona değil altta yatan hastalığa bağlı olabileceği fikri gözden geçirilmelidir. Toplam 10 ratın hiçbirisinde mutlak nörtropeni görülmemiştir. Kontrol grubundan daha yüksek sayımla seyreden bir nörtropeni periyodu olmuştur. Bu sonuçlara bakıldığında interferonun eritropoez ve granüositopoez üzerinde kemoterapi sonrası uygulamada iyileştirici etkisi varlığı söylenilebilir. Derin anemi ve nörtropeni oluşumunu önlemektedir. PLT sayımında durum diğer seriler kadar iyi değildir. Çünkü PLT izleminde 90.000 / $\mu$ L’ye kadar inen bir ortalama PLT sayısı tespit edildimiştir. Ancak bu sonuçlar dahi kontrol grubunda 3, 6, 9, 12.günlerde üstün bulunmuştur. Ancak diğer gruplarla kıyaslandığında trombopoez üzerine etkisi growth faktörlerden daha yetersizdir

(106). Ayrıca nötrofil sayısı üzerine olan etkisinde growth faktörlerden daha yetersizdir.

Sonuç olarak interferon kemoterapi sonrasında uygulandığında aneminin önlenmesinde, nötropeninin önlenmesinde kontrol grubundan daha üstün olup yararlıdır. Ancak interferon tedavisi bu etkileri açısından growth faktörlerden daha yararlı değildir. Fakat etkinlik oranı düşünüldüğünde growth faktör kullanımı daha başarılıdır. Ayrıca interferonun nötropeni ve trombositopeni yan etkisi vardır görüşünün yeniden gözden geçirilmesi gereği düşünülmektedir. Interferon  $\alpha_2a$  hematopoezde uyarıcı, çoğaltıcı, geliştirici etkisi olduğu, bu etkiyi hematopoezdeki diğer sitokinleri etkileyerek oluşturmuş olabileceği düşünülmüştür. Ancak bu hipotezin immunohistokimyasal çalışmalarla gösterilmesi gerekmektedir(105, 106). Hafif trombositopeni interferon tedavisinin yan etkisidir ki HCV enfeksiyonu için Interferon  $\alpha$  alan 2 olguda immüntrombositopeni görülmüştür KI aspirasyonda immünofloresan yöntemle IgG bağlanmış antikorlar görülmüştür (94,105,106).

#### **VI- D: Eritropoetin:**

Kan transfüzyonunu takiben oluşan klinik İmmünaktivite, allograft yaşam süresini kısaltmakta, postoperatif tümör nüksünü artırmakta ve yara iyileşmesini geciktirmektedir (107). Bu nedenle antineoplastik tedavi alanlarda (kemoterapi, transplantasyon, operasyon) kan transfüzyonları immün cevabın hareketsizliğini artırabilir ve istenmeyen sonuçlar doğurabilir. Ayrıca her kan ve kan ürünü transfüzyonun klasik yan etkileride göz önüne alındığında, kaçınılması gereken bir durumdur. Bu nedenle maligniteli ve tedavi alan olgularda anemi sorunun çözümü kan transfüzyonu olmamalıdır. Anemi kanserle birlikte sık görülür, nedeni ise çok çeşitli olabilir; kan kaybı, hemoliz, beslenme faktörleri, tümörle kemik iliği invazyonu ve kronik hastalık anemisi gibi (108). Myelosupresif kemoterapi mevcut aneminin derinleşmesine neden olmaktadır. Bu dönemde böbreklerden eritropoetin üretiminin bozulduğu iddia edilmektedir. Kemoterapiye bağlı aneminin semptomatik tedavisi için ABD’de yılda yaklaşık 2.000.000 ünite kan tüketilmektedir (107).

Maligniteli hastalarda aneminin tedavisi için EPO faz I ve II klinik çalışmalarda denemiştir. Sonuçta ise kanserli hastaların anemisini önlemede Epo'nun güvenli ve etkili bir çözüm olduğu gösterilmiştir (108). Ancak bu hastalar hiç kemoterapi almamışlardı ve kemoterapi alanlardaki etki bilinmiyordu. Bu amaçlarda faz III çalışması yapıldı. Sisplatin ile kemoterapi alan hastalara aneminin önlenmesi amacıyla eritropoetin uygulandı ve Htc'de %6'lık yükselme gibi kazançlar elde edildi, hastaların ancak %50'sinde cevap alınmıştı. Bunun nedeni kanserli hastaların eritropoetine verdiği cevaptaki bozukluk olabilir (109,110,111). Hematolojik malignitelere anemide EPO kullanımı değerlendirmek amacıyla faz I ve II çalışmaları yapılmıştır. Monoklonal gamapatilerde ve malign lenfomalarda anemi tedavisinde EPO ile etkin ve güvenli sonuçlar elde edildi. Hemopoetik stem hücre bozukluğundaki anemilerde daha az cevap alınmıştır. Myelodisplastik sendromdaki kullanımı ise halen araştırılmaktadır (112).

Bu çalışma grubunu oluştururken amacımız, hemopoetik bir growth faktör olan eritropoetin; kemoterapi sonrası kullanımı ile eritropoezde olduğu gibi, granülositogenezde ve trombopoezde de olumlu etkileri olup olmayacağını tespit etmektir. Bu nedenle aynı düzenekte siklofosfamid vererek myelosupresyon oluşturduğumuz ratlara eritropoetin verildi ve hematolojik parametreleri izlenildi.

Gerçekten anemi istatistiksel anlamlı olacak şekilde kontrol grubu ve diğer tüm gruplara üstün olarak önlenmişti ( $p < 0,05$ ). Hb ölçümü 3, 6, 9, 12, 30. günlerde kontrol grubuna belirgin olarak üstündü ( $p=0,0005$ ). MCV değerlendirilmesinde de 3.gün ( $p=0,0004$ ), 12.gün ( $p=0,0000$ ) ölçümlerinde üstündü, yani kararlı ve fazla artmayan bir MCV ölçümü vardı. Makrositoz önlenmişti, eritrosit volümü normal sınırlarda seyretmişti. RBC sayımında diğer gruplara ve kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir yükseklik vardı, 6.günde  $p=0,0001$ , 9.günde  $p=0,0000$ , 12.günde  $p=0,0001$ , 30.günde ise  $p=0,0426$  ile üstünlüğü açıktı. Asıl ilgi çekici olan WBC üzerindeki etkisiydi. Ortalama WBC sayımları göz önüne alınarak yapılan kıyaslamada, kontrol grubuna üstünlüğü 3, 6, 9, 12. günlerdeki ölçümlerde bariz olarak görülmüştür (tüm gruplar için  $p=0,0000$ ). En derin nötropeni 6.günde bulunmuş, ort WBC ise 820 / $\mu$ L hesaplanmış ve kontrolden üstün bulunmuştur.

Ayrıca nötropeni 3 gün gibi kısa bir süre devam etmiştir. Öyleyse nötrofil gelişiminde eritropoetinde bir growth faktör olduğunu, nötrofil farklılığı, büyüme ve çoğalmasını etkilediği söylenebilirdi. Nötropenin önlenmesinde katkıda bulunmuştur.

PLT izlemi ile trombopoez üzerine etkisi değerlendirilmiştir. 3 ve 6.gün ölçümlerinde ( $p=0,0002$ ), 9.gün ölçümünde ( $p=0,0418$ ) kontrol grubunun trombositopenik olduğu dönemlerde istatistiksel anlamlı olarak PLT sayımı daha yüksek tespit edilmiş ve ciddi trombositopeni gözlenmemiştir. Bunun anlamıda trombopoezde EPO'nun yararlı etki gösterdiği'dir.

EPO; Hemopoetik mikroçevrede önemli bir growth faktördür. Bu etkisini yalnızca eritrosit büyüme, gelişme ve çoğalması için değil, diğer kan elemanları olan nötrofiller ve trombositler içinde gösterebilir. Bizim çalışmamızda bu değerlendirme kabaca kanıtlanmış görülmektedir. Ancak daha ayrıntılı ve immünohistokimyasal çalışmalarda bu etkinin oluşumunun mekanizmasının ve reseptörlerinin gösterilmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak; EPO kemoterapi uygulanan maligniteli hastalarda transfüzyonunun getirdiği komplikasyonlardan korunmak için ve kemoterapinin myelosupresif etkisini azaltmak için iyi bir tercih olabilir. Kemoterapi ile beraber EPO vererek hem anemi önlenebilir, hemde nötropeni ve trombositopeni için yararlı etkisi sağlanabilir.

#### **VI- E: Kloramfenikol**

G-CSF ve GM-CSF gibi growth faktörlerin kemoterapiye bağlı myelosupresyonun bir komponenti olan nötropeniye önlediğini Grup 2, 3, 4, 5 çalışmasının sonuçlarında sunulmuştur. Ancak bu growth faktörler oldukça pahalı olup, kemoterapinin getirdiği mali yüke bir yenisini daha eklemektedir. Bu nedenle, 1994 yılında Feder HM ve arkadaşlarının kronik nötropenin kloramfenikol ile tedavisi başlıklı bir vaka bildirisini literatür taraması sırasında görülmesi üzerine kloramfenikolün myelosupresyona bağlı nötropenin önleminde etkisinin araştırılması planlanmıştır(113). Aslında geleneksel yaklaşımlarda kloramfenikolün kendisinin Kİ baskılaması yapar fikri hakimdir. Hatta göz için topikal kullanılan son

derece düşük dozlarda dahi kloramfenikolün pansitopeni (aplastik anemi) yaptığı, rapor edilmiştir (114, 115). Yine taramalarımızda Adams GR ve arkadaşlarının 1983 yılında kronik nötropeni tedavisinde kloramfenikolün cevabını yayınladıkları tespit edilmiştir (116).

Uzun yıllardır klinisyenler kloramfenikolün aplastik anemi yan etkisini fazlaca gündemde tutarak, bu ilaçtan uzak kalmışlardır. Etiyolojisi ne olursa olsun nötropeni tedavisinde growth faktörler ilk seçenek olmuştur. Vaka bildirimleri şeklinde ise kloramfenikolün kronik nötropeni tedavisindeki yeri bildirilmiştir. Ancak bu konunun araştırılmasının; ciddi nötropeni tedavisinde kloramfenikolün tercih edilebilir olup, olmayacağına karar verilmesi için önemli çalışmalara ihtiyaç duyulmuştur. Hatta kloramfenikole bağlı 1/24500-1/40800 oranda görülebilecek aplastik anemi gelişimi riski göz önüne alınarak hastalardan KI veya periferik stem hücre alınıp saklanması düşünülebilir. Bizim çalışmamızda ratlara siklofosfamid verildikten sonra günde tek doz kloramfenikol tedavisi başlanarak myelosupresyon üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Gerçekten kloramfenikol verilen grupta kontrol grubuna üstün olarak nötrofil sayısı daha yüksek seyretmiştir. En derin nötropenik dönemde kontrol grubu ortalama 570/ $\mu$ L WBC sayısını içerirken, kloramfenikol grubunda bu değer 1210/ $\mu$ L ile seyretmiştir. Kloramfenikol olan grupta hiç mutlak nötropeni gelişmemiştir. Nötropeni sadece 3 gün sürmüştür.

WBC sayımı ise kararlı bir tutum göstermiştir. Kloramfenikol olan grup 3.gün ölçümlerinde ( $p=0,0000$ ), 6.gün ölçümlerinde ( $p=0,0000$ ), 9.gün ölçümlerinde ( $p=0,0000$ ) WBC sayısı ile kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir üstünlük göstermiştir. Yani kloramfenikol kemoterapiye bağlı myelosupresyonun önlenmesinde etkin bir ajan olarak görülmekte ve nötropeniyi önlemektedir. Ratların hiç birinde aplastik anemi izlenmemiştir. Bu derecede önemli bir myelosupresyon önleme yeteneği olan kloramfenikol growth faktörlerle kıyaslanmış ve üstünlüğü değerlendirilmiştir. G-CSF +7 gün grubu ve GM-CSF +7 gün grubu ile kloramfenikol en derin nötropenik dönemleri kıyaslandığında istatistiksel anlamlı olarak daha etkin bulunmuştur ( $p=0,0451$ ).

IVR  
UNIVERSİTESİ  
KURUMU

Bu kloramfenikolün nütropeniye önlemede en az G-CSF ve GM-CSF kadar etkili olduğunu göstermektedir. Daha sonra kloramfenikol G-CSF -7 gün grubu ve GM-CSF -7 gün grupları ile kıyaslanmıştır, ancak bu gruba üstünlüğü gösterilememiştir ( $p>0,05$ ). Kloramfenikol grubunda WBC sayısı kararlı bir seyir göstermiş, normal sınırlarda seyretmiştir. Sonuç olarak kloramfenikol KT'ye bağlı myelosupresyonu önlemede, etkin, güvenilir, ucuz bir tedavi seçeneği gibi görülmektedir. Ancak bunun mutlak teyit edilmesi için daha büyük sayılarda çalışma gruplarının oluşturulmasına ihtiyaç vardır.

Kloramfenikolün anemi ve eritropoez üzerinde de olumlu etkileri vardı. 6, 9, 12.gün ölçümlerinde; Hb değeri kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik gösterilmiştir ( $p<0,05$ ). MCV'de çalışmanın tüm günlerinde anlamlı farklılık olmayıp, normal sınırlarda seyretti. RBC ölçümleri 6, 9, 12 ve 30.günlerde kontrol grubundan daha yüksek sınırlarda seyretmiş ve bu farklılık istatistiksel anlamlı bulunmuştur ( $p< 0,05$ ). PLT sayımı kararlı bir tutum sergilemiş, 3. ve 6.gün ölçümlerinde kontrol grubundan daha yüksek seyretmiştir ( $p=0,002$  her iki ölçüde). Çok ciddi bir trombositopeni oluşmamıştır ve trombositopeni kısa sürmüştür.

Sonuç olarak; Kloramfenikol kemoterapi sonrası myelosupresyonun önlenmesinde etkin bir ajandır. Nütropeniye önlemektedir, eritropoez ve trombopoez üzerinde de olumlu etkileri vardır. Kloramfenikolün hemopoetik sitokinleri etkileyerek bu etkisini göstermiş olabileceği gelecekteki çalışmalarla ortaya konulabileceği düşünülmüştür..

## **VI- F: Gamaglobulin**

Çalışmamızın son grubu olan Gamaglobulin myelosupresyonun trombositopeni komponentini önlemedeki etkinliğini araştırmak amacıyla kullanıldı. KT öncesi 2 gün gamaglobulin verildi. Daha sonra PLT sayımı ve PY'de PLT görünümü izlendi. PLT sayısı, kontrol grubunun PLT sayısı ile kıyaslandığında 3, 6, 9, 12, 15, 18, 30.günlerde, yani çalışmanın tüm günlerinde istatistiksel anlamlı olarak yüksek seyrettiği görülmüştür ( $p< 0,05$ ). Ratlardan hiç biri trombositopeniye girmemişlerdir. Tüm ölçümlerde PLT normal sınırlarda hatta yüksek sayılarda seyretmiştir. PY'de bol trombosit ve trombosit kümeleri görülmüştür. Kİ

biyopsisinde de megakaryosit artışı ve stoplazmasında trombosit bulunduran megakaryositler sıklıkla izlenmiştir. Bu grupta ratlarda ciddi anemi oluşmadığı, Hb'nin en düşük ölçümünün ortalama 9,93 gr/dL bulunduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle anemi gelişimini önlemede kontrol grubundan anlamlı olarak üstün olduğu görülmüştür. Yine MCV ölçümleri stabil seyretmiş, sadece siklofosfamid etkisi olabileceğini düşündüğümüz 12, 15, 18.günlerde makrositler izlenmiştir.

RBC tüm gün ölçümlerinde kararlı olarak normal sınırlarda seyretmiştir, ciddi azalma olmamış, bu konuda kontrol grubundan tüm gün ölçümlerinde anlamlı yüksek izlenmiştir ( $p<0,05$ ). WBC izlemide süprizlerle doludur, mutlak nötropeni gelişmemiş ve nötropeni gelişiminde kontrol grubundan daha üstün olduğu görülmüştür. Nötropeni kısa sürmüş, WBC sayımı ise yüksek seyretmiştir. Hatta en derin nötropenik dönemde WBC sayı ortalaması  $1460/\mu\text{L}$  ölçülmüştür. Buda growth faktörler kadar etkin olduğunu göstermektedir.

İv Ig tedavisinin otoimmün hemolitik anemi, otoimmün nötropeni, HIV enfekte kişilerdeki trombositopenilerde etkin tedavi sağladığı gösterilmiştir (117,118,119,120). Alloimmunizasyon gelişen platelet transfüzyon alıcılarının tedavisinde kullanılmıştır (121). Ayrıca antikor aracılığıyla gelişen saf kırmızı hücre aplazisinin tedavisinde cevap alınmıştır (122). Bu durumun etki mekanizmasının hastanın otoantikorlarının antiidiotipik olarak baskılanması ile olabileceği düşünülmektedir. Kemoterapi sonrasındaki trombositopeninin, kök hücrenin dolayısıyla megakaryopoezin inhibisyonu ile olduğu kabul edilir, ancak bu süreçte antikor aracılığıyla periferik kandaki plateletlerin ne ölçüde yıkıldığı bilinmemektedir. Pansitopeni ile beraber enfeksiyon için riskli bir vücutta artmış antijene maruz kalma ve fazla antikor üretme hali oluşabilir. Bu durum periferdeki yıkımı artırabilir. Muhtemelen nötrofiller ve trombositlerin periferde otoimmün nedenlerle yıkılmasının önlenmesi bu etkiyi oluşturmuştur. Aneminin hafif seyretmesinin nedeni periferde yıkımın önlenmesi olabileceği gibi antiidiotip baskılayıcıların Kİ de erken eritropoez gelişimini sağlamasında muhtemeldir.

Önemli bir humoral madde olan Ig kemoterapi sonrasında gelişmesi beklenen myelosupresyonu önlemekte, hafif anemi, normal trombosit sayımı ve

hafif kısa süreli nötropeni dönemi geçirilmesini sağlamaktadır. Bunun mekanizmasının net olarak aydınlatılması için yeni çalışmalara gereksinim vardır. Literatür taramasında gamaglobulinin bu amaçlı kullanım ve etkisini içeren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu konudaki ilk veriler bu çalışma ile sunulmaktadır.

Sonuç olarak; Sitostatik ilaç kullanımı sonrası gelişen myelosupresyon, onkoloji ve hematoloji kliniklerinde çok önemli bir sorundur. Bu sorunun çözümü içinse halen yeterli tedavi seçeneği olmayıp, yeni ilaçların geliştirilmesine gereksinim vardır. Hemapoetik sitokinlerin ve mikroçevre faktörlerinin moleküler biyolojik çalışmalarla aydınlatılması, yeni tedavi yaklaşımlarının üretilmesi için ufuklar açmaktadır. Bu tezde anemi, nötropeni ve trombositopeniyi önlemeye yönelik olarak 5 grup ilaç deneysel olarak çalışılmış ve sunulmuştur. Growth faktörlerin kemoterapi öncesi kullanımının nötropeniye önlemede kemoterapi sonrası kullanımından daha etkin olduğu gösterilmiştir. GM-CSF, G-CSF'den farklı olarak platelet sayısındaki azalmayı önlemiştir. G-CSF ve GM-CSF'nin nötropeniye önlemede birbirlerine üstünlüklerinin olmadığı gösterilmiştir. Eritropoetin kemoterapiye bağlı anemiyi önlemede etkin ve güvenilir sonuçlar göstermiş, nötropeni için yararlı etkiler sağlamıştır. Gamaglobulin sitostatik ilaç sonrası trombositopeniyi önlemiştir. Kloramfenikol myelosupresyonu önlemede başarılı bulunmuş, nötropeni oluşmamış, eritropoez ve trombopoez üzerinde yararlı etki sağlamıştır. İnterferon  $\alpha 2a$  aneminin önlenmesinde etkin bulunup, granülopoezde yararlı etki sağlamıştır. İnterferon  $\alpha 2a$  nötropeni ve trombositopeni oluşumuna katkı sağlamamıştır.

## VII- ÖZET

Sitostatik ilaçların kullanımında; doz kısıtlanmasına, mortalite ve morbiditenin artmasına neden olan en önemli yan etki, Kİ'nin baskılanmasıdır. Myelosupresyonun bileşenleri olan anemi, trombositopeni, nötropeni ciddi klinik tablolardır. Halen myelosupresyonun önlenmesinde ve tedavisinde yeterince etkili ve güvenilir bir yaklaşım bulunamamıştır. Güncel tedaviyi oluşturan: kan ve kan ürünlerinin transfüzyonu önemli komplikasyonları ve riski nedeniyle, growth faktörler mali yük oluşturmaları dolayısıyla istenilen düzeyde kullanılamamaktadır. Bu nedenle, çalışmamızda myelosupresyonun her üç komponentini önleyebilmek için; G-CSF ve GM-CSF'nin uygulama yöntemini değiştirmek, interferon  $\alpha 2a$ , eritropoetin, kloramfenikol, gamaglobulinin etkinliğini araştırılmak istenildi. Güvenilir, etkili ve yeni tedavi seçenekleri sunabilmek amaçlandı.

Wistar türü 90 rat kullanılarak 8 çalışma ve 1 kontrol grubu oluşturuldu. Kararlı myelosupresyon yaratmak ve deney modeli tanımlamak için siklofosfamid 110 mg/kg/gün tek doz ip verilerek KT uygulandı ve bu kontrol grubu kabul edildi. 8 çalışma grubunun tamamına siklofosfamid aynı dozda uygulandı ve myelosupresyon oluşturuldu. 2.gruba siklofosfamid ile kemoterapi verildikten sonra G-CSF +7 gün süresince 3 MÜ (30 $\mu$ g)/kg/gün sk uygulandı. 3.gruba G-CSF KT öncesinde -7 gün 3 MÜ(30 $\mu$ g)/kg/gün sk verildi ardından siklofosfamid ile KT uygulandı. 4.gruba GM-CSF siklofosfamid ile KT verildikten sonra +7 gün 10  $\mu$ g/kg/gün uygulandı. 5.gruba GM-CSF çalışmanın ilk -7 günü gün 10  $\mu$ g/kg/gün uygulandı ve 8.gün siklofosfamid ile KT verildi. 6.gruba ilk gün KT ardında 10 gün interferon  $\alpha 2a$  26.000.000 IU/kg/gün dozunda s.k. uygulandı. 7.guba ilk gün KT ardından 10 gün 100 IU/kg/gün s.k. uygulandı. 8.gruba KT ardından 10 gün 10 mg/kg/gün Kloramfenikol i.m verildi. 9.gruba 1 ve 2.gün gamaglogulin 400 mg/kg/gün ip verildi. 3.gün KT uygulandı.

30 gün süresince tüm gruplar izlendi. Hemotolojik parametreler 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 30.günlerde, biyokimyasal parametreler 0, 5, 10.günlerde değerlendirildi. Ratlar klinik olarak izlendi. Çalışma grupları, kontrol grubu, kendi içindeki

değişkenlikleri: WBC, RBC, Hb, Htc, MCV, MCH, MCHC, RDW, PLT, MPV glukoz, kreatinin, ürik asit, ALP, AST, ALT, LDH, Kİ aspirasyonu, Kİ biyopsisi ve PY sonuçlarıyla kıyaslandı. Grup analizlerinde Kruscall Wallis one way anova varians testi, grup içindeki değişkenlikler Wilcoxon mached pairs testi ve gruplar arası kıyaslamada Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Kontrol grubunda siklofosfamid ile kararlı bir myelosupresyon oluşturulmuş ve bu tür çalışmalar için ideal bir model tanımlanmıştır. G-CSF ve GM-CSF her dört çalışma grubunda (Grup 2, 3, 4, 5) kemoterapiye bağlı nütropeniye önlemede etkin bulunmuştur. Ancak G-CSF ve GM-CSF uygulamalarında KT öncesindeki -7 gün verilmesi, kemoterepi sonrasında +7 gün verilmesinden daha üstün olarak nütropeniye önlemiştir. Growth faktörler sadece nütrofiller üzerinde değil eritropoez ve trombopoezde de yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir. İnterferon  $\alpha$ 2a KT sonrasında nütropeni oluşmasını kontrol grubuna kıyasla önlemiş ancak bu etkisi growth faktörlerden daha az bulunmuştur. Anemi ve trombositopeni üzerinde iyileştirici etkisi görülmüştür. Eritropoetin kemoterapiye bağlı aneminin önlenmesinde başarılı olmuştur. Granülositogenezde etkin olup, nütropeni ve trombositopeni düzeltilmesine katkıda bulunmuştur. Aplastik anemi etkisinden kaçınılan kloramfenikolün myelosupresyona bağlı nütropenin önlenmesinde en az growth faktörler kadar etkin olduğu gösterilmiştir. Kloramfenikol pansitopeni yapmamış, aksine nütropeni gelişimini önlemiştir. İmmüntrombositopeni tedavisinde etkin olan gamaglobulin KT'ye bağlı trombositopeniyide önlemiştir. Ayrıca nütropeniye önlemede yararlı etkisi açıkça gösterilmiştir.

Sonuç olarak; growth faktörler nütropeniye önlemek için KT öncesinde kullanılması önerilebilir. Eritropoetin KT'ye bağlı aneminin önlenmesinde etkili, güvenilir ve risksiz bir tedavi seçeneğidir. İnterferon  $\alpha$ 2a hematopoezde yararlı bir sitokindir. KT'ye bağlı nütropeni, anemi, trombositopeni üzerinde olumlu etkileri vardır. Kloramfenikol KT'ye bağlı nütropenin önlenmesinde ucuz ve etkili bir seçenek olarak sunulmaktadır. Gamaglobulin KT'ye bağlı trombositopeninin önlenmesinde kullanılabileceği düşünülebilir.

## VIII- KAYNAKLAR

1. Li FP, Kantor AF: Cancer epidemiology. Cancer Medicine 4<sup>th</sup> edition, Holland JF, Marton DL, Bast RC (Ed's), Williams&Wilkins Company, Baltmor, 1997; 25:401-422.
2. Bilir N: Dünyada ve Türkiye'de kanser epidemiyolojisi. Türkiye'de Kanser Sıklığı, Tuncer İ, Burgut R, Bozdemir N (Ed's), TÜBİTAK ve Çukurova Üniversitesi Yayını, Adana, 1994; 1:1-7.
3. Willis, RA: Definition of tumor. Pathology of tumors, 4<sup>th</sup> Edition, Butterworth and Co (Publishers) Ltd, London, 1967; 2:12-27.
4. Cadmon EC, Duridage HJ: Cancer chemotherapy. Harrison's principles of Internal Medicine, 12<sup>th</sup> Edition, Wilson J, Braunwald E, Isselbacher F (Ed's), McGraw-Hill Company, Udine, 1991;57:1587-1599.
5. Renolds JEF: Antineoplastic Agents and Immunosuppressants. Martindale The Extra Pharmacopoeia, Thirty-First Edition, Royal Pharmaceutical Society, London, 1996; 8:511-608.
6. De Vita VT: The evolution of therapeutic research in cancer. N Engl J Med, 1978; 298:907-910.
7. Marshall EKJr: Historical perspectives chemotherapy. Advances chemotherapy, In Goldin A, Hawking IF (Ed's), Akademik press, New York, 1964; 1: 1-8.
8. Skipper HE, Schabel FM Jr, Wilcox WS: Experimental evolution of potential anticancer agents. XII on the criteria and kinetics associated with curability of experimental leukemia. Cancer chemotherapy Rep, 1964; 35:1-111.
9. Kayaalp O: Kanser kemoterapisinin esasları ve antineoplastik ilaçlar. Tıbbi Farmakoloji 5.baskı, Feryal matbacılık, Ankara, 1989; 41:973-1036
10. Devita VT Jr: Principles of chemotherapy. Principles and Practise of Oncology, DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA (Ed's), J.B.Lippincott Comp, Philadelphia, 1985;16:267-284.
11. Metcalf D: Review: hemopoetic regulators. Redundancy or subtlety. Blood, 1993; 82: 3515-3523

12. Demetri GD: Hematopoietic Growth Factors; Cancer Medicine 4<sup>th</sup> Edition Holland JF, Bast RC, Marton DL (Ed's), Williams&Wilkins company, Baltimor, 1997; 82:1227-1243.
13. Pluznik DH, Sachs L: The cloning of normal "mast" cells in tissue culture. J Cell Physiol, 1965; 66: 319-324.
14. Bradley TR, Metcalf D: The growth of mouse bone marrow cells in vitro Aust. J Exp Biol Med Sci 1966; 44: 287-300.
15. Mazza JJ: Hematopoiesis and hematopoietic growth factors. Manual of Clinical Hematoloji. 2th edition. A little Brown&company. Mazza JJ (Ed), 1995;1:1-16.
16. Quesenberry P: Hemopoetic stem cells, progenitor cells, and growth factors. Hematology, 5<sup>th</sup> Edition, William WJ, Beutler E, Erslev AJ (Ed's), McGraw-Hill Pub Co, 1991;16:129-147.
17. Li CL, Johnson GR: Stem cell factor enhances the survival but not the self-renewal of murine hematopoietic long-term repopulating cells. Blood, 1994; 84:408-414.
18. Yan XQ, Briddell R, Hartley C: Mobilization of long-term hematopoietic reconstituting cells in mice by the combination of stem cell factor plus granulocyte-colony-stimulating factor. Blood, 1994; 84:795-799.
19. Yamamoto S: Mechanism of the development of thrombocytosis due to bleeding. Acta Haematol, 1977; 20: 163-178.
20. Kelemen E, Cserhati I, Tanos B: Demonstration and some properties of human thrombopoietin in thrombocythemic sera. Acta Haematol, 1988; 20:350-355.
21. De Savvage FJ, Hass PE, Spencer SD: Stimulation of megakaryocytopoiesis and by the C-Mpl ligand Blood. 1994;369: 533-538.
22. Metcalf D. Thrombopoietin at last (Editorial). Nature, 1994; 369: 519-520.
23. Gordon MS, Hoffman R: Growth factors effecting human thrombopoiesis; potential agents for the treatment of thrombocytopenia. Blood, 1992; 80:302-307.
24. Gurney AL, Carver-Moore K, De Savvage FJ: Thrombocytopenia in c-mpl-deficient mice. Science, 1994; 265: 1445-1447.

25. Yang Y-C, Ciarletta AB, Temple PA: Human IL-3 (Multi-CSF) identification by expression cloning of a novel hematopoietic growth factor related to murine IL-3. *Cell*, 1986; 47: 3-10.
26. Ganser A, Lindemann A, Seipelt G: Effect of recombinant human interleukin-3 in patients with normal hematopoiesis and in patients with bone marrow failure. *Blood*, 1990; 76: 666-676.
27. Broudy UC, Lin NL, Kaushansky K: Thrombopoietin (c-mpl ligand) acts synergistically with erythropoietin, stem cell factor and interleukin-11 to enhance murine megacaryocyte colony growth and increases megacaryocyte ploidy in vitro. *Blood*, 1995; 85: 1719-1726.
28. Tepler I, Elias A, Kalish L: Effect of recombinant human interleukin-3 on haematological recovery from chemotherapy-induced myelosuppression. *Br J Haematol*, 1994; 87: 678-686.
29. Mule JJ, Macintosh JK, Jablons DM: Antitumor activity of recombinant interleukin 6 in mice. *J Exp Med*, 1991; 171: 629-636.
30. Kishimoto T. The biology of interleukin-6. *Blood*, 1989; 74: 1-10.
31. Ishiboshi T, Kimura H, Shikama Y: Interleukin-6 is a potent thrombopoietic factor in vivo in mice. *Blood*, 1989; 74:1241-1245.
32. Leonard JP, Quinto CM, Kozitza MK: Recombinant human interleukin-11 stimulates multilineage hematopoietic recovery in mice after a myelosuppressive regimen of sublethal irradiation and carboplatin. *Blood*, 1994; 83:1499 - 1506.
33. Smith II JA, Long DL, Alvard WG: The effect of treatment with IL-1  $\alpha$  on platelet recovery after high dose carboplatin. *N Engl J Med* 1993; 328: 756-761.
34. Dinarello CA: Interleukin-1 and Il 1 antagonism. *Blood*, 1991; 77: 1627-1652.
35. Broudy VC, Bartley TD, Parker VP: soluble kit receptor in human serum. *Blood*, 1995; 85: 66-73.
36. Hornung RL, Lang DL: Hematopoietic stem cell depletion by restorative growth factor regimens during repeated high-dose cyclophosphamide therapy. *Blood*, 1992; 80: 77-83.

37. Moore MAS: Does stem cell exhaustion result from combining hematopoietic growth factors with chemotherapy? If so, How do we prevent it?. *Blood*, 1992; 80: 3-71.
38. Ozer H: Factors AAHCOHG, Recommendations for the clinical use of hematopoietic colony-stimulating factors (CSFs): Evidence-based guidelines recommended by the American Society of Clinical Oncology. *J Clin Oncol*, 1994; 12: 2471-2508.
39. Grachow LB, Colvin M: Clinical Pharmacokinetics of cyclophosphamide. *Clin Pharmacokinet*, 1979; 4:380-394.
40. Batis: Clinical pharmacokinetics of commonly used anticancer drugs. *Clin Pharmacokinet*, 1983; 8:202-232
41. Moore MJ. Clinical pharmacokinetics of cyclophosphamide. *Clin Pharmacokinet*, 1991; 20: 194-208.
42. Hirst M: Occupational exposure to cyclophosphamide. *Lancet* 1984; I:186-8.
43. Bender Ra: Antineoplastic drugs; clinical pharmacology and therapeutic use. *Drug*, 1978; 16: 46-87.
44. Spiers ASD: Haemorrhagic cystitis after low dose cyclophosphamide. *Lancet*, 1983; 1: 1213-1214.
45. Van Woensel IBM: Acute respiratory insufficiency during doxorubicin, cyclophosphamide, and G-CSF therapy. *Lancet*, 1994; 344: 759-760.
46. Rowe JM, Rapoport AP: Hemopoietic growth factors: a review. *J Clin Pharmacol*, 1992; 32: 486-501.
47. Metcalf D. Peptide regulatory factors; hemopoetic growth factors. *Lancet* 1989; 1: 825-827.
48. Groopman JE: Hematopoietic growth factors; biology and clinical applications. *N. Engl J Med*, 1989; 321: 1449-1459.
49. Steward WP: Granulocyte and granulocyte-macrophage colony stimulating factors. *Lancet*, 1993; 342:153-157.
50. Pojda Z, Struzyra J: Treatment of non-healing ulcers with rh GM-CSF and skin grafts. *Lancet* 1994; 343-1100.

51. Metcalf D. Clonal extinction of myelomonocytic leukemia cells by serum from mice injected with endotoxin. *Int Cancer*, 1980; 25: 225-233.
52. Lieschke GJ, Burgess AN: Granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *N Engl J Med*, 1992; 327: 28-35.
53. Frampton JE: Filgrastim a review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in neutropenia. *Drug*, 1994; 48: 731-760.
54. Bedford R, Russell A: Granulocyte colony stimulating factor treatment for neonatal neutropenia. *Arch. Dis Child*, 1995; 72: f53-f54.
55. Burgess AN, Camakaris J, Metcalf D: Purification and properties of colony-stimulating factor from mouse lung conditioned medium. *J Biol Chem* 1977; 252: 1998-1991.
56. Gasson JC, Weisbort RH, Kaufman SE: Purified human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor: direct action on neutrophils. *Science*, 1984; 226: 1339-1342.
57. Wong GG, Witek JS, Temple PA: Human GM-CSF molecular cloning of the complementary DNA and purification of the natural and recombinant proteins. *Science*, 1985; 228: 810-815.
58. Metcalf D: Molecular biology and functions of granulocyte-macrophage colony-stimulating factors. *Blood*, 1986; 67: 257-267.
59. Hernandez Z, Bronchid M: Growth factors and cancer. *Br J Med*, 1995; 53: 20-6.
60. Schimpff SC: Growth factors and empiric therapy with antibiotics: should they be used concurrently. *Ann intern Med*, 1994; 121: 538-540.
61. Macdougall IC : Clinical pharmacokinetics of epoetin recombinant human erythropoietin. *Clin pharmacokinat*, 1991; 20: 99-113.
62. Macdougall IC: Adverse reactions profile ; erythropoietin in chronic renal failure. *Prescribers'f*. 1992; 32: 40-44.
63. Macdougall IC. Poor response to erythropoietin. *Br Med J*, 1995; 310: 1424-5.
64. Haistenson CE: Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of epoetin  $\alpha$  and epoetin  $\beta$ . *Clin Pharmacol Ther*, 1991; 50: 702-712.

65. De Marchi S: Erythropoietin and the anemia of chronic diseases. *Clin Exp Rheumatol*, 1993; 11: 429-444.
66. Koggensteiner R: Changes in determinants of Blood rheology during treatment with haemodialysis and recombinant human erythropoietin. *Br Med J*, 1990;300: 1626-1627.
67. Moia M: Improvement in the haemostatic defect of ureamia after treatment with recombinant human erythropoietin. *Lancet*, 1987; ii; 1227-1229.
68. Gutterman JU: Recombinant leucocyte A interferon; pharmacokinetics, single-dose tolerance and biologic effects in cancer patients. *Ann Internal Med*, 1982; 96: 549-556.
69. Baron S: The Interferons; mechanisms of action and clinical applications. *JAMA* 1991; 266: 1375-1383.
70. Visco G: Prevention of side-effects of interferon. *Lancet* 1991; 337:741-743.
71. Vival T, Descotes J: Clinical toxicity of the interferons. *Drug Safety*, 1994; 10:115-115.
72. Nissen C: Toxicity of human leucocyte interferon preparations in human bone-marrow cultures. *Lancet*, 1977; I: 203-4.
73. Winston DJ: Safety and tolerance of recombinant leucocyte A interferon bone-marrow transplant recipients. *Antimikrob Agents Chemother*, 1983; 23: 846-51.
74. Akard LP: Alpha-interferon and immune hemolytic anemia. *Pojda*, 1986; 105: 306Z, Struzyra J. Treatment of non-healing ulcers with rh GM-CSF and skin grafts. *Lancet* 1994; 343-1110.
75. McLoughlin P: Immune thrombocytopenia following  $\alpha$ -interferon therapy in patients with cancer. *JAMA* 1985; 254: 1353-1354.
76. Farkkila M, Livanainen M: Thrombocytopenia and interferon. *Br Med J*, 1988; 296: 642-647
77. Metthey F: Bleeding in immune thrombocytopenic purpura after alfa-interferons. *Lancet*, 1990: 335: 471-472.
78. Durand JM: Thrombosis and recombinant interferon- $\alpha$  *Am J Med* 1993; 95:115

- 79.Kellokingu-Lehtina P: Hepatotoxicity of paracetamol in combination with interferon and umblostin. *Lancet*, 1989; I : 1143-1149
- 80.Giles FJ: Alpha-interferon therapy for essential thrombocythemia. *Lancet*, 1988; 11: 70-72.
- 81.Bellucci S: Treatment of essential thrombocythaemia by alpha 2a interferon. *Lancet*, 1988; ii : 960-961.
- 82.Gisslinger H: Long-term interferon therapy for thrombocytosis in myeloproliferative diseases. *Lancet* 1989; I : 634-637.
- 83.Maroni M: Interferon -  $\alpha$  is effective in the treatment of HIV- 1 related, severe, zidovudine-resistant thrombocytopenia. *Ann Internal Med*, 1994; 121: 425-429.
- 84.Woodroff RK: Fatal thrombotic events during treatment autoimmune thrombocytopenia with intravenous immunoglobulin in elderly patients. *Lancet*, 1986; 11 : 217-218.
- 85.Majer RV, Green PJ: Neutropenia caused by intravenous immunoglobulin. *Br Med J*, 1988; 296: 1262-1264.
- 86.Winston DJ, Ho WG, Lin CH, et al: Intravenous immunoglobulin for prevention of cytomegalovirus infection and interstitial pneumonia after bone marrow transplantation. *Ann Intern Med*, 1987; 106: 12-15.
- 87..Ben-Chetrit E, Pettermen C. Transient neutropenia induced by intravenous immune globulin. *N Eng J Med*, 1992; 326: 270-271.
- 88.Yunis AA: Chloramphenicol: relation of structure to activity and toxicity. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 1988; 28:83-100.
- 89.Gump DN: Chloramphenicol, A 1981 View. *Arch Int Med*, 1981; 141: 573.
- 90.Best WR: Chloramphenicol-associated blood dyscrasias. *JAMA*, 1977; 207: 181
- 91.Yardımcı S, Delibaşı T, Ateş K et al: Ratlarda eritropoetin uygulamasının siklofosfamidin neden olduğu trombositopeni üzerine etkisi. 12. Ulusal Kanser Kongresi, Antalya, 23-26 Nisan 1997, 273 nolu poster.
- 92.Smith CA, Andrews CM, Collard JK et al: Comparative diagnostic and experimental hematology. *Mosby-Year-Book Europe*, Wolfe Publish 1994.
- 93.Anonymous. Peripheral stem cells made to work. *Lancet* 1992; 339: 648-9

94. Smith JW: The effects of treatment with interleukin-1 $\alpha$  on platelet recovery after high-dose carboplatin. *N Engl J Med* 1993; 328: 756-761.
95. Hatake K et al: Macrophage colony-stimulating factor and platelet recovery after chemotherapy. *Lancet*, 1993; 341:963-966.
96. Du XX, Doerschuk CM, Orazi A: Bone Marrow stromal derived growth factor, Interleukin -11, Stimulates recovery of small intestinal mucosal cells after cytotoxic therapy. *Blood*, 1994; 83:1:33-37.
97. Hean de G, Dontje B, Engel C et al: Prophylactic pretreatment of mice with hemopoietic growth factor induces expansion of primitive cell compartments and results in protection against 5-fluorouracil-induced-toxicity. *Blood*, 1996; 82:174-181.
98. Molineux G, Hartley CA, McEnroy P: Megacaryocyte platelet recovery in mice after bone marrow transplantation. *Blood* 1996; 88:4: 509-515.
99. Demetri GD, Griffin JD: Granulocyte colony-stimulating factor and its receptor. *Blood*, 1991;78:2791-2794.
100. Bronchud Mit, Potter MR, Morgenstern G: In vitro and in vivo analysis of the effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in patients *Br J Cancer*, 1988;58:64-67.
101. Ogawa M: Effects of hemopoietic growth factors on stem cells in vitro. *Hematol Oncol Clin North Am*, 1989; 3: 453-454.
102. Gabilove JL, Jakubowski A, Fain K: Phase I study of granulocyte colony-stimulating factor in patients with transitional cell carcinoma of the urothelium *J Clin Invest*, 1988;82: 1454-1459.
103. Sidky YA, Borden EC: Inhibition of angiogenesis by interferons: effects on tumor-and lymphocyte- induced vascular responses. *Cancer Res*, 1987; 47: 5155-5161.
104. Stranger H: Interferons (IFNs). *Adv. Cancer Res*, 1986; 46: 1.
105. Davrakis SP, Deutisch M, Hadziyanmis S; Immune thrombocytopenia and alpha-interferon therapy. *J Hepatol*, 1996; 25:972-975.

106. Khan HA, Khawafa FI, Mahrous AR: Life-threatening severe immune thrombocytopenia after alpha-interferon therapy for chronic hepatitis C infection. *Am J Gastroenterol*, 1996; 91: 821-822.
107. Hirose T, Pepkowitz S, Jacolos A: The effects of Red Blood cell. Transfusion on Host Immune Function; Bover C et al (Ed); Marcel Dekker, Inc. *Erythropoietin*, 1994; 277-290.
108. Henry DH: Recombinant Human Erythropoietin in the treatment of the Anemia Associated with Solid tumors. Baver C et al (Ed), Marcel Dekkar Inc. *Erythropoietin*, 1994; 377-390.
109. Chary KK, Higby DT, Henderson ES; Phase I study of high-dose Cis dichlorodiammineplatinum II with forced diuresis. *Cancer Treat Rep*, 1997; 61: 367-370.
110. Miller CB, Tones RJ, Piantodosi S et al: Decreased erythropoietin response in patients with the anemia of cancer. *B Eng J Med*, 1990; 332: 1689-1691.
111. Henry DH, Bennett J, Brocks R et al: Recombinant Human Erythropoietin for the treatment of the anemia of cancer, final results of multicenter trials. *Blood*, 1991; 78: 152a (Abstract)
112. Oster W, Herrmann F, Gamm H: Erythropoietin for the treatment of anemia of malignancy associated with neoplastic bone marrow infiltration. *J Clin Oncol*, 1990; 8: 956-962.
113. Feder HM, Bergstrom SK: Treatment of chronic neutropenia with chloromphenicol. *J Pediatr* 1994;125: 649-651.
114. Y-Doone M, Walsh JB; Use of chloromphenicol as topical eye medication; time to ery halt? *Br Med J*, 1995; 310; 1217-1218.
115. Gordon-Smith EC: Is it time to stop using chloromphenicol on the eye risk in low in short cause. *Br Med J*, 1995; 311: 450-451.
116. Adams Gr, Perason HA; Chloromphenicol-responsive chronic neutropenia. *N Eng J Med*, 1983; 309; 1039-1041.
117. Base EC: Rapit transient reversal of anemia and long term effects of maintenance intravenous immunoglobulinfor autoimmun hemolytic anemia in patients with lenfoproliferative disorders. *Am J Med*, 1988; 84:691-94.

118. Bussel J, Lalezari P, Hilgartner M, et al: Reversal of neutropenia with intravenous gammaglobulin in autoimmune neutropenia of infancy. *Blood*, 1983;62:398-400.
119. Panzer S, Zeitelhuber U, Hach V, et al: Immune thrombocytopenia in severe hemophilia A treated with high-dose immunoglobulin. *Transfusion*, 1986;26:69-71.
120. Beard J, Savidge GF: High-dose intravenous immunoglobulin and splenectomy for the treatment of HIV-related immune thrombocytopenia in patients with severe hemophilia. *Br J Haematol*, 1988; 68:303-307.
121. Schiffer CA, Hogge DE, Aisner J, et al: High dose intravenous gammaglobulin in alloimmunized platelet transfusion recipients. *Blood*, 1984; 64:937-941.
122. McGuire WA, Yang HH, Bryno E, et al: Treatment of antibody-mediated pure red cell aplasia with high dose intravenous gammaglobulin. *N Engl J Med*, 1987; 317:1004-1008.