

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SERVİKS KANSER HÜCRELERİNDE DİKLOFENAK SODYUMUN  
SİSPLATİN SİTOTOKSİSİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
İNCELENMESİ**

**Ecz. Fundanur AVDAN**

**Farmasötik Toksikoloji Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Ankara  
2022**



**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SERVİKS KANSER HÜCRELERİNDE DİKLOFENAK  
SODYUMUN SİSPLATİN SİTOTOKSİSİTESİ ÜZERİNE  
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**Ecz. Fundanur AVDAN**

**Farmasötik Toksikoloji Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Sevtap AYDIN DİLSİZ**

**Ankara**

**2022**

**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**SERVİKS KANSER HÜCRELERİNDE DİKLOFENAK SODYUMUN SISPLATİN**  
**SİTOTOKSİSİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**  
**Öğrenci: Ecz. Fundanur AVDAN**  
**Danışman: Doç. Dr. Sevtap AYDIN DİLSİZ**

Bu tez çalışması 15.09.2022 tarihinde jürimiz tarafından “Farmasötik Toksikoloji Programı”nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

**Juri Başkanı:** *Prof. Dr. Ülkü ÜNDEĞER BUCURGAT*  
*(Hacettepe Üniversitesi)*

**Danışman:** *Prof. Dr. Sevtap AYDIN DİLSİZ*  
*(Hacettepe Üniversitesi)*

**Üye:** *Prof. Dr. Aylin ÜSTÜNDAĞ*  
*(Ankara Üniversitesi)*

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun bulunmuştur.

16 Eylül 2022

*Prof. Dr. Müge YEMİŞÇİ ÖZKAN*  
**Enstitü Müdürü**

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan “*Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge*” kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. <sup>(1)</sup>
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ... ay ertelenmiştir. <sup>(2)</sup>
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir.

15 / 09 / 2022

***Ecz. Fundanur AVDAN***

-----  
1“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

(1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.

(2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internette paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.

(3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir \*. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.

Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

\* Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.

## ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, Prof. Dr. Sevtap AYDIN DİLSİZ danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

*Ecz. Fundanur AVDAN*

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarımın tüm aşamasında bilgi ve emeğini esirgemeyen, bana yol gösteren ve beni her zaman destekleyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Sevtap Aydın Dilsiz'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Anabilim Dalı'ndaki değerli hocalarıma ve tüm arkadaşlarıma desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmama yapacakları katkılarından dolayı değerli sayın tez jurime teşekkür ederim.

Her şekilde bana destek olan aileme teşekkür ederim.

## ÖZET

**Avdan, F. Serviks Kanser Hücrelerinde Diklofenak Sodyumun Sisplatin Sitotoksitesini Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Toksikoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2022.** Serviks kanseri kadınlarda en sık görülen ikinci kanser türü olup meme ve akciğer kanserinden sonra kanserden ölümlerin önde gelen üçüncü nedenidir. Servikal kanserin mümkün olan en iyi tedavisi radyasyon ve sisplatin bazlı kemoterapi kombinasyonudur. NSAİİ'ler prostaglandin sentezini katalizleyen siklooksijenaz (COX) enzimlerini inhibe etmesiyle en iyi bilinir. Bazı epidemiyolojik çalışmalar NSAİİ'lerin kanser insidansını azaltılabileceğini göstermektedir. NSAİİ'lerin çeşitli kanser hücre hatlarında malign dönüşümü engellediği, tümör baskılayıcı olarak işlev gösterdiği, apoptozisi arttırabildiği ve bazı antikanser ilaçların sitotoksik etkinliğini arttırabildiği gösterilmiştir. NSAİİ bir ilaç olan diklofenak sodyumun insan serviks kanser (HeLa) hücrelerinde sisplatin sitotoksitesini üzerine etkisinin olabileceği düşünülmektedir. Kemoterapide sisplatin ile birlikte diklofenak sodyumun kombine etkilerine dair çalışmalar oldukça yetersizdir. Bu çalışma MTT yöntemi kullanılarak sisplatinin diklofenak sodyum kombinasyonları ile sitotoksitesinin değerlendirilmesi ve antikanser etkisine açıklık getirilmesi amaçlanmıştır. Çalışma sonuçlarına göre HeLa hücresinde diklofenak sodyumun 24 ve 48 saatlik inkübasyonda IC50 değerleri sırasıyla, 679  $\mu$ M ve 238  $\mu$ M bulunmuştur. Sisplatin için 24 ve 48 saatlik inkübasyonda IC50 değerleri sırasıyla, 24  $\mu$ M ve 10  $\mu$ M bulunmuştur. Diklofenak sodyum 24 saatlik inkübasyon için 62,5  $\mu$ M-1000  $\mu$ M doz aralığında ve 48 saat inkübasyon için 31,3  $\mu$ M-1000  $\mu$ M doz aralığında sisplatinin IC50 değerini doz-bağımlı olarak anlamlı azaltmıştır. Sonuç olarak, bulgularımız diklofenak sodyumun serviks kanser tedavisinde sisplatinin sitotoksik etkinliğini arttırabileceğini ve kanser hücre gelişimi ve ilerlemesine karşı önemli bir rol alabileceğini göstermektedir; ancak antikanser ilaç tedavisinde kombine etkilerin doğrulanması için daha ileri çalışmalar gereklidir.

**Anahtar Kelimeler:** Diklofenak sodyum, sisplatin, sitotoksite, serviks kanseri



## ABSTRACT

**Avdan, F. Investigation of the Effects of Diclofenac Sodium on Cisplatin Cytotoxicity in Cervical Cancer Cells. Hacettepe University Graduate School of Health Sciences Master Thesis in Pharmaceutical Toxicology, Ankara, 2022.** Cervical cancer is the second most common cancer in women and the third leading cause of cancer death after breast and lung cancer. The best possible treatment for cervical cancer is a combination of radiation and cisplatin-based chemotherapy. NSAIDs (nonsteroidal anti-inflammatory drugs) are best known for inhibiting cyclooxygenase (COX) enzymes that catalyze prostaglandin synthesis. Some epidemiological studies show that NSAIDs can reduce the incidence of cancer. NSAIDs have been shown to inhibit malignant transformation in various cancer cell lines, act as tumor suppressors, increase apoptosis, and enhance the cytotoxic activity of certain anticancer drugs. It is thought that diclofenac sodium, an NSAID drug, may have an effect on cisplatin cytotoxicity in human cervical cancer (HeLa) cells. Studies on the combined effects of cisplatin and diclofenac sodium in chemotherapy are insufficient. The aim of this study was to evaluate the cytotoxicity of cisplatin with diclofenac sodium combinations using MTT method and to clarify the anticancer effect. According to the study results, the IC<sub>50</sub> values of diclofenac sodium for 24- and 48- hours incubation were found to be 679  $\mu$ M and 238  $\mu$ M in HeLa cell, respectively. The IC<sub>50</sub> values of cisplatin for 24 and 48 hours incubation were found to be 24  $\mu$ M and 10  $\mu$ M, respectively. Diclofenac sodium significantly reduced the IC<sub>50</sub> value of cisplatin in dose-dependent manner at the concentration ranges of 62,5  $\mu$ M-1000  $\mu$ M for 24-hour incubation and 31,3  $\mu$ M-1000  $\mu$ M for 48-hour incubation. In conclusion, our findings suggest that diclofenac sodium may increase the cytotoxic efficacy of cisplatin in cervical cancer treatment and may play an important role in cancer cell development and progression; however, further studies are needed to confirm the combined effects in anticancer drug treatment.

**Key Words:** Diclofenac sodium, cisplatin, cytotoxicity, cervical cancer

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN SAYFASI	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
ŞEKİLLER	xiv
TABLolar	xv
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>3</b>
2.1. Diklofenak Sodyumun Fizikokimyasal Özellikleri	3
2.2. Diklofenak Sodyumun Genel Kullanımı	4
2.3. Diklofenak Sodyumun Farmakokinetik Özellikleri	4
2.4. Diklofenak Sodyumun Farmakodinamik Özellikleri	10
2.5. Diklofenak Sodyumun Toksisitesi	17
2.5.1. Akut Toksisitesi ve Tekrarlı Doz Toksisitesi	17
2.5.2. Karsinojenik Etkisi	19
2.5.3. Genotoksisitesi ve Mutajenisitesi	19
2.5.4. Üreme Toksisitesi	20
2.5.5. Teratojenik Etkisi	21
2.5.6. Laktasyonda Kullanımı	22
2.5.7. İlaç-İlaç Etkileşimleri	22

2.5.8.	Kontrendikasyonları	25
2.6	Diklofenak Sodyumun Sistemler Üzerine Toksik Etkileri	25
2.7.	Diklofenak Sodyum Zehirlenmesi ve Tedavisi	27
2.8.	Sisplatin	28
2.8.1.	Sisplatin Fizikokimyasal Özellikleri	28
2.8.2.	Sisplatin Genel Kullanımı	28
2.8.3.	Sisplatin Farmakokinetik Özellikleri	30
2.8.4.	Sisplatin Farmakodinamik Özellikleri	32
2.8.5.	Sisplatin Toksisitesi	32
2.8.6.	Sisplatinin Sistemler Üzerine Toksik Etkileri	34
2.9.	Serviks Kanser Hücresinin Özellikleri	38
2.10.	MTT Yöntemi	39
<b>3.</b>	<b>GEREÇ ve YÖNTEM</b>	<b>40</b>
3.1.	Kullanılan Kimyasal Maddeler	40
3.2.	Kullanılan Araç ve Gereçler	40
3.3.	Kullanılan Çözeltiler	42
3.4.	MTT Yöntemi ile Hücre Canlılığının Belirlenmesi	43
3.5.	Diklofenak Sodyumun HeLa Hücre Hatlarında Sisplatin Sitotoksisine Etkilerinin MTT Yöntemi ile Belirlenmesi	46
3.6.	İstatistiksel Yöntemler	47
<b>4.</b>	<b>BULGULAR</b>	<b>48</b>
4.1.	Diklofenak Sodyumun HeLa Hücrelerinde Sitotoksitesinin Değerlendirilmesi	48
4.2.	Sisplatinin HeLa Hücrelerinde Sitotoksitesinin Değerlendirilmesi	52
4.3.	Diklofenak Sodyumun HeLa Hücrelerinde Sisplatin	56

## Sitotoksitesine Etkilerinin Değerlendirilmesi

<b>5. TARTIşMA</b>	<b>62</b>
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	<b>69</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>70</b>
<b>8. EKLER</b>	
<b>EK-1: Dijital Makbuz</b>	
<b>EK-2: Tez Çalışması Orjinallik Raporu</b>	
<b>9. ÖZGEÇMİş</b>	

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>μM</b>	Mikromolar
<b>5-HETE</b>	5-hidroksieikosatetraenoik asit
<b>ASIC</b>	Asit algılayıcı iyon kanalları
<b>cGMP</b>	Nitrik oksit-siklik guanozin monofosfat
<b>COX</b>	Sikooksijenaz
<b>DMEM</b>	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
<b>DMSO</b>	Dimetil sülfoksit
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>FBS</b>	Fötal Sığır Serumumu
<b>FDA</b>	Amerika Birleşik Devletleri İlaç Gıda Dairesi
<b>HeLa</b>	İnsan Serviks Kanseri Hücre Hattı
<b>IC<sub>50</sub></b>	Hücrelerin %50'sinin öldüğü inhibitör konsantrasyon
<b>IL</b>	İnterlökin
<b>LD<sub>50</sub></b>	Popülasyonun %50'sinde ölüm meydana getiren doz
<b>LOAEL</b>	Gözlemlenen en düşük olumsuz etki dozu
<b>mRNA</b>	Mesajcı ribonükleik asit
<b>MTT</b>	3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
<b>NMDA</b>	N-metil-D-aspartat
<b>NOAEL</b>	Toksik etkinin gözlenmediği en yüksek doz
<b>NSAİ</b>	Nonsteroidal antiinflamatuar
<b>PBS</b>	Fosfat tamponlu serum fizyolojik

<b>PG</b>	Prostaglandin
<b>pH</b>	Potansiyel hidrojen
<b>PLA2</b>	Fosfolipaz A2
<b>PMN</b>	Polimorfonükleer lökosit
<b>PPAR<math>\gamma</math></b>	Peroksizom proliferatörle aktifleştirilen reseptör gama
<b>RCEC</b>	Tavşan kornea epitel hücresi
<b>rpm</b>	Dakikadaki devir sayısı
<b>TDL<sub>0</sub></b>	En düşük toksik doz

## ŞEKİLLER

Şekil		Sayfa
2.1.	Diklofenak sodyumun kimyasal yapısı	3
2.2.	Sisplatinin moleküler yapısı ve fizikokimyasal özellikleri	28
3.1.	HeLa hücrelerinin ışık mikroskop altında görünümü	43
3.2.	Neubauer hücre sayım lamı	45
4.1.	Diklofenak sodyumun 24 saatlik maruziyette HeLa hücre canlılığı üzerine etkisi	48
4.2.	Diklofenak sodyumun 48 saatlik maruziyette HeLa hücre canlılığı üzerine etkisi	50
4.3.	HeLa hücre canlılığı üzerine diklofenak sodyumun 24 ve 48 saat maruziyette etkisi.	52
4.4.	Sisplatinin 24 saatlik maruziyette HeLa hücre canlılığı üzerine etkisi.	53
4.5.	Sisplatinin 48 saatlik maruziyette HeLa hücre canlılığı üzerine etkisi.	54
4.6.	HeLa hücre canlılığı üzerine sisplatinin 24 ve 48 saat maruziyette etkisi	55
4.7.	HeLa hücreleri üzerinde diklofenak sodyumun 24 saat maruziyette sisplatin sitotoksitesine etkisi	58
4.8.	HeLa hücreleri üzerinde diklofenak sodyumun 48 saat maruziyette sisplatin sitotoksitesine etkisi	60
4.9	HeLa hücreleri üzerinde diklofenak sodyumun 24 ve 48 saat maruziyette sisplatin sitotoksitesine etkisi	61

**TABLÖLAR**

<b>Tablo</b>		<b>Sayfa</b>
<b>2.1.</b>	Diklofenak sodyumun substratı ve inhibitör etki gösterdiği enzim ve moleküller	16
<b>2.2.</b>	Diklofenak sodyum ve akut toksisite çalışmaları	17
<b>2.3.</b>	Diklofenak sodyum ve subkronik toksisite çalışmaları	18
<b>2.4.</b>	Diklofenak sodyum ve etkileştiği ilaç grupları	24
<b>2.5</b>	Sisplatinin Akut Toksikite Çalışmaları	33
<b>2.6</b>	Sisplatin Tekrarlı Doz Toksikite Çalışmaları	33
<b>4.1.</b>	HeLa hücre canlılığı üzerine diklofenak sodyumun 24 saat maruziyette etkisi	49
<b>4.2.</b>	HeLa hücre canlılığı üzerine diklofenak sodyumun 48 saat maruziyette etkisi.	51
<b>4.3.</b>	HeLa hücre canlılığı üzerine diklofenak sodyumun 24 saat maruziyette etkisi.	53
<b>4.4.</b>	HeLa hücre canlılığı üzerine sisplatinin 48 saat maruziyette etkisi.	55
<b>4.5.</b>	HeLa hücre canlılığı üzerine diklofenak sodyumun 24 saat maruziyette sisplatin sitotoksitesine etkisi.	57
<b>4.6.</b>	HeLa hücre canlılığı üzerine diklofenak sodyumun 48 saat maruziyette sisplatin sitotoksitesine etkisi	59



## 1. GİRİŞ

Serviks kanseri, dünyada kadınlarda meme kanserinden sonra en sık görülen ikinci kanser türü olup, en önemli ölüm nedenlerinden biridir. Serviks kanseri, sonradan kanser hücrelerine dönüşebilecek bazı değişiklikleri takip eden süreçte ve genellikle yıllar içerisinde oluşmaktadır. Servikal kanser gelişiminde herpes simpleks virüsünün ana sorumlu olduğu bilinmektedir. Serviks kanserinin, tarama testleri ile erken teşhis edilerek önlenilebilen en önemli genital kanser türüdür (1,2).

Serviks kanserinin tedavisi lokal yada sistemiktir. Lokal ileri servikal kanserin mümkün olan en iyi tedavisi radyasyon ve sisplatin bazlı kemoterapinin bir kombinasyonudur. Bununla birlikte, 5 yıllık genel yaşama oranı hala sadece % 52'dir. Araştırmaların, tedavi sonuçlarını iyileştirmek için yenilikçi ilaç stratejilerinin keşfine odaklanması gerektiği görülmektedir (3,4).

Sisplatin uzun yıllar yaygın olarak kullanılan prototip platin kemoterapötik ajandır. Klinikte solid tümörlerde, sarkomalarda, bazı karsinomlarda (küçük hücre tipli akciğer kanserleri, over kanserleri), lenfomalarda, serviks kanseri gibi çeşitli kanser tedavilerinde kullanılmaktadır (5,6). İçeriğindeki platinyum kompleksleriyle, DNA bağlarında kırılmalara neden olur ve kanserli hücrelerde apoptozu tetikleyip hücrelerin canlılığını ortadan kaldırır. Sisplatinin sitotoksik etkisi, DNA'daki guanin bazı ile kovalent olarak etkileşime girmesine dayanır. Sisplatin kaynaklı DNA hasarı, tümör baskılayıcı geni p53'ü aktive eder. Hasarlı DNA onarılamaz olduğunda, p53'ün aktivasyonu apoptozu tetikleyerek hücre ölümüne yol açar. (7)

Diklofenak sodyum, aktivitesi yüksek ve kolay tolere edilebilen nonsteroidal antiinflamatuvar (NSAİ) bir ilaçtır. Analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar etkiye sahiptir. Diklofenak sodyum uzun ve kısa dönemli olmak üzere enflamasyon ve ağrıyı azaltmak için veya romatoit artrit, osteoartrit, ankilozan spondilit gibi eklem içi, eklem dışı hastalıklarda kullanılmaktadır. Kuvvetli bir prostaglandin (PG) sentez inhibitörüdür. NSAİ ilaçlar, antiinflamatuvar etkisini araşidonik asidin, dolayısı ile özellikle

siklooksijenazın inhibisyonu ile sağlamaktadır. Bu tür ilaçlar içinde diklofenak sodyum, PG sentez inhibisyonu ile birlikte aynı zamanda lipooksijenaz yolunu da düzenler. Hücre düzeyinde yapılan çalışmalar diklofenak sodyumun, siklooksijenaz aktivitesini inhibe ederek, enflamasyon mediatörlerinden PG, prostasiklin ve tromboksanın üretimini azalttığını göstermiştir. Ayrıca diklofenak sodyum, intraselüler sıvıdaki serbest araşidonik asit düzeyini de azaltmaktadır (8,10).

NSAİİ'lerin sık kullanımı kolorektal, gastrointestinal, meme, prostat ve akciğer kanseri riskinin azalması ile ilişkilendirilmiştir. NSAİİ'lerin antitümör aktivitesinin altında yatan mekanizma tam olarak açıklanamamıştır; ancak, COX'lerin veya diğer COX olmayan enzimatik yolların inhibisyonu kaynaklı olduğu düşünülmektedir (11-14).

Çeşitli insan tümör hücrelerinde, spesifik NSAİİ'lerin (indometasin, sulindak, tolmetin, asemetasin, zomepirak ve mefenamik asit) bazı antikanser ilaçların sitotoksitesini arttırdığı bildirilmektedir. Yapılan çalışmalara göre NSAİİ'lerin çoğu, siklooksijenazı inhibe ederek veya apoptotik yolağın aktivasyonu aracılığı ile tümör baskılayıcı olarak görev yaptığı ileri sürülmektedir. NSAİİ'ler ile kombine kemoterapinin, etkili bir terapötik seçenek olabileceği ileri sürülmektedir (15,16).

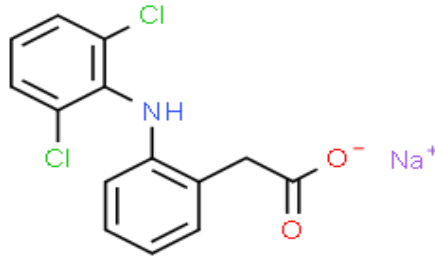
Diklofenak sodyum ve sisplatin kombinasyonunun kanser tedavisindeki olası etkilerine dair çalışmalar yetersizdir. Diklofenak sodyumun insan serviks kanser hücre hattında (HeLa) sisplatin sitotoksitesi üzerine etkisinin olabileceği öngörülmektedir. Bu tez kapsamında sisplatin ile diklofenak sodyumun kombinasyonlarında hücre canlılığının MTT yöntemi ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Diklofenak Sodyumun Fizikokimyasal Özellikleri

Diklofenak fenilasetik asit türevi olan ve prostaglandinlerin sentezinden sorumlu COX-1 ve COX-2 enzimlerini inhibe eden non-steroidal antiinflamatuvar bir ilaçtır. Diklofenak sodyum ise diklofenak molekülünün sodyum tuzu formudur. Diklofenak ilk defa 1988 yılında FDA tarafından Voltaren ticari markası altında onaylanmıştır. Diklofenak, fenilbutazon, mefenamik asit ve indometazin yapılarına dayanan rasyonel ilaç tasarımının bir ürünüdür (Şekil 2.1) (17).

Diklofenak sodyumun molekül formülü  $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$ ; molekül ağırlığı 318,1 g/mol' dür.



Şekil 2.1. Diklofenak sodyumun kimyasal yapısı.

CAS no: 15307-79-6

IUPAC adı: sodyum;2-[2-(2,6-dikloroanilino)fenil]asetat (Şekil 2.1) (17,18)

Sinonimleri: *Diklofenak sodyum tuzu, sodyum diklofenak, solaraze, anthraxiton, prophenatin, ailvoran, batafil, delimon, delphimix, dichronic, feloran, kriplex, neriodin, orthophen, ortofe, tsudohmin, volteren* (17,18)

Molekül yapısal olarak 2 halkaya sahip olmakla birlikte hidrojen donör ve akseptör sayıları sırasıyla 1 ve 3' tür. Molükelün polarlanabilirliği ve kırıcılığı ise sırasıyla 27,62

$\text{\AA}^3$  ve  $86,3 \text{ m}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ 'dir. Diklofenak sodyumun pKa değeri 4 ve molekülün suda çözünürlüğü  $0,00482 \text{ mg/mL}$ 'dir (17,18).

## 2.2. Diklofenak Sodyumun Genel Kullanımı

Diklofenak sodyum başta romatoid artrit ve osteoartrit olmak üzere, aktinik keratoz, akut migren ağrısı, ankilozan spondilit, konjuktivit, mevsimsel alerji, göz iltihabı, gut artrit, ağız içi inflamatuvar hastalık, boğaz iltihabı, juvenil idiyopatik artrit, diz osteoartriti, operasyon bölgesi iltihabı, ağrı, kalp zarı iltihabı, fotofobi, ameliyat sonrası ağrı, primer dismenore, akut kas-iskelet sistemi yaralanması, akut rinit, lokalize yumuşak doku romatizması, hafif ile orta derecede eklem ağrısı ve perioperatif miyoz'da kullanılabilir (17,18).

## 2.3. Diklofenak Sodyumun Farmakokinetik Özellikleri

Diklofenak, gastrointestinal kanaldan tamamen emilir, ancak ilacın önemli ölçüde ilk geçiş etkisine maruz kalmasıyla sadece %60'ı değişmeden sistemik dolaşıma ulaşır. Birçok topikal formülasyon perkütan olarak emilir ve klinik açıdan önemli plazma konsantrasyonları gösterir. Diklofenak sodyumun sistemik emilimi 25-150 mg aralığında dozla doğru orantılıdır. Çoklu doz uygulaması, tekli dozları takiben benzer emilim karakteristikleri gösterir. Mutlak biyoyararlanım tek doz ve oral uygulamayı takiben  $90 \pm 11$  olarak rapor edilmiştir. Tmax değeri formülasyonlar arasında değişkenlik gösterir. Oral çözelteli formülasyonlarda plazma pik konsantrasyonuna 10-40 dakikada, enterik kaplı tabletlerde 1,5-2 saatte ulaşır ve Tmax'ı daha da arttıran sürekli ve uzatılmış salımlı formülasyonlar arasında değişiklik göstermektedir. Besinlerin diklofenak emilimi üzerinde önemli bir etkisi yoktur. Ancak gıdalar Tmax'ı 2,5-12 saat arasında geciktirir. Diklofenak sodyumun absorpsiyon karakteristikleri hastalık durumları ve yaş faktörü ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde farklılık göstermemektedir. Ancak, yapılan bir çalışmada osteoartritli yaşlı hastaların düşük hepatic klirensi olduğu, bu durumunda

artmış pik plazma-ilaç konsantrasyonu, eğri altında kalan alan ve biyoyararlanım ile sonuçlandığı gösterilmiştir (20-25).

Diklofenak emiliminde kolon mukozası kapasitesini incelemek amacıyla kolonoskopi yapılan bir çalışmada oral ve kolonik uygulama benzer Cmax ve AUC değerleriyle sonuçlanmıştır. Kolondan diklofenak sodyumun nispi biyoyararlanımı ortalama %78 olmak üzere %54 ile %109 arasında değişmiştir (26).

Magnezyum hidroksit içeren antasitlerin diklofenak emilimini hızlandırdığı görülmektedir, ancak bu etki büyük değişkenlik nedeniyle istatistiksel öneme ulaşmamıştır (27). Ranitidin tedavisi ve daha sonrasında görülen mide pH'sındaki artış, diklofenak sodyumun iyi emilmesini sağlar ve kısa gecikme süreli enterik kaplı ürünler asidik olmayan mide içerisinde parçalanırken; uzun gecikme süresi olan ürünler asidik olmayan mideden bozulmadan geçer (28). Kolestiramin veya kolestipol gibi anyon değiştirici reçineler ile birlikte uygulandığında, diklofenak biyoyararlanımı kompleks adsorpsiyon nedeniyle azalır (29). Nokloprost klatrat (prostaglandin E analogu) ile enterik kaplı diklofenak sodyumun potansiyel bir farmakokinetik etkileşimi mevcuttur. Nokloprost klatratın tek premedikasyonu, AUC'yi düşürürken diklofenak emilim oranını ve toplam vücut klerensini önemli ölçüde arttırmaktadır, ancak tekrarlayan premedikasyondan sonra, farmakokinetik parametrelerde önemli bir fark bulunmamıştır (30). Pik konsantrasyonlarının daha düşük olması ve emilimin gecikmesine rağmen diklofenak ve kodein fosfat kombinasyonu nispi biyoyararlanımı etkilememiştir (31).

Bağlayıcı proteinleri arasında transtiretin (Tiroid hormonu bağlayıcı protein) ve serum albümini yer alır (17)

Taşıyıcı proteinleri (transporterlar); *solute carrier family 22 member 6* (sodyumdan bağımsız organik anyon transmembran taşıyıcı aktivite), *solute carrier family 22 member 8* (sodyumdan bağımsız organik anyon transmembran taşıyıcı aktivite), *solute carrier family 22 member 11* (sodyumdan bağımsız organik anyon transmembran taşıyıcı aktivite), *solute carrier organic anion transporter family member 1C1*, *solute*

*carrier organic anion transporter family member 1B1* olup bu proteinleri inhibe etmektedir. Ayrıca çoklu ilaç direncine bağlı protein 4 (MDR-4) (ATPaz aktivitesi ile maddelerin membranlar arası hareketi sağlar) ve çoklu ilaç direnci ilişkili protein 1 inhibitörüdür (17).

Oral uygulamadan sonra diklofenak sodyumun görünür dağılım hacmi (Vd/F) insanlarda 5 ve 10 litre arasındadır. Bu durum da dokuya bağlanmasının plazma proteine bağlanmasından önemli ölçüde daha az olduğunu göstermiştir. Diklofenak sodyum, plazma ve serumda yüksek afinite ve yüksek kapasiteye sahip insan serum albumine yoğun olarak bağlanır (<%99,7). İnsan serum albüminine bağlanma, her biri 1 bölgeye sahip 2 sınıf bağlama bölgesi ile karakterize edilir ( $K_1 = 5 \times 10^5$  L/mol ve  $K_2 = 0,6 \times 10^5$  L/mol). Yüksek afiniteli bölgeler muhtemelen benzodiazepinler tarafından paylaşılır ve düşük afiniteli bölge varfarin bölgesidir. Lipoproteinlere bağlanmada düşük birleşme sabitlerine sahiptirler. Yüksek yoğunluklu lipoproteinlere %1,1, düşük yoğunluklu lipoproteinlere %0,3 ve çok düşük yoğunluklu lipoproteinlere %0,15 oranında bağlanırlar. Diklofenak  $\alpha$ 1 asit glikoproteinine ve globülinlere önemli düzeyde bağlanmaz (19).

Diklofenak sodyumun salisilik asit, tolbutamid, prednizolon, asenokumarol veya varfarin gibi proteine güçlü bir şekilde bağlı ilaçları modifiye etmediği gösterilmiştir; bununla birlikte diklofenak in vitro olarak salisilik asit ile yer değiştirdiği bildirmiştir. Ayrıca araştırmacılar tarafından in vitro olarak varfarin, asenokumarol ve salisilik asitin diklofenak tarafından bağlanma modifikasyonlarının olmadığını doğrulamıştır (19,32).

Sinoviyal membran, romatoid artrit için önerilen birincil etki alanıdır. Romatoid artrit ve osteoartritli hastalarda sinoviyal sıvı ve dokularda önemli miktarda diklofenak konsantrasyonları tespit edilmiştir (19).

Sinoviyal sıvı çalışmaları, oral, rektal veya intramusküler doz uygulamasından sonra diklofenak sodyumun sinoviyal sıvı pik konsantrasyonlarına plazma C<sub>max</sub>'tan 2 ila 4 saat sonra ulaştığını göstermiştir. Plazma ile karşılaştırıldığında sinoviyal sıvıda düşük C<sub>max</sub> değeri elde edilmiş ve eliminasyon yarı ömür sinoviyal sıvıda plazmaya kıyasla

hem üç kat daha uzun hem de uygulamadan 12-24 saat sonra sinoviyal sıvı konsantrasyonları plazmadan daha yüksek olmuştur. Tekrarlı oral dozlardan sonra diklofenak sodyumun kararlı durum C<sub>max</sub>'ına doz uygulamasından üç saat sonra ulaşılmış ve iki saat içerisinde %90'a düşmüştür. Sinovyal sıvı konsantrasyonları ise daha az değişken ve doz uygulamasından 4 saat sonra plazmada bildirilenden daha yüksek tespit edilmiştir. Sinovyal sıvıda nispi birikim, sinoviyal sıvının plazmaya 3:1 oranlarıyla elde edilir. Başlangıç plazma konsantrasyonunda sinoviyal sıvıya göre hızlı bir şekilde hidroksilat metabolitleri oluşmuş, ancak 4 saat sonra sinoviyal sıvı konsantrasyonları plazmaya kıyasla eşit veya biraz yükselmiştir (19,33,34).

Diklofenak sodyumun nispeten düşük dağılım hacmi (V<sub>d</sub>) periferik dolaşım veya merkezi bölmenin ötesinde ilaç dağılımının çok küçük olduğunu gösterir. Kan-beyin bariyerini kolay bir şekilde geçemez. Beyin omurilik sıvısındaki diklofenak konsantrasyonu plazmadaki miktarın %8.22' sidir. Beyin omurilik sıvısında daha fazla polar metabolit bulunur, ancak 4'-hidroksi (%4,78) ve 3' hidroksi- 4'- metoksi diklofenak (%0.4) az miktarda bulunur (35).

Genel olarak diklofenak molekülü faz I metabolizması sonucu oksidatif metabolizmaya uğrayarak hidroksi metabolitlerini meydana getirir. Ayrıca glukuronik asit, sülfat ve taurine konjuge olur. Beş diklofenak metaboliti insan plazmasında ve idrarda tanımlanmıştır. Bu metabolitler 4'-hidroksi-, 5-hidroksi-, 3'-hidroksi-, 4',5dihidroksi- ve 3'-hidroksi -4'-methoksi- diklofenaktır. Başlıca diklofenak metaboliti 4'-hidroksi-diklofenaktır ve çok zayıf farmakolojik aktiviteye sahiptir (19,36,37)

Bazı raporlar diklofenak biyoyararlanımının %90'a yaklaştığını gösteriyor olsa da, diğer raporlar diklofenak sodyumun ilk geçiş etkisine uğradığını ve dolayısıyla ilacın yaklaşık %60'ının metabolize olmadan sistemik dolaşıma geçtiğini göstermektedir (19,36,37).

Diklofenak 4'-hidroksilasyon büyük olasılıkla CYP2C9 tarafından katalizlenir. Diklofenak 4'-hidroksilasyonun inhibisyonu, insan karaciğer mikrozomlarında

tolbutamid, sülfapenazol, fenitoin ve varfarin ile meydana gelir (38). 4'-hidroksil metabolitinin miktarı idrar ile atılan miktarın %30' unu, safra ile atılan miktarın %10-20'sini oluşturur. Diğer üç metabolitin miktarı ise idrar ile atılan miktarın %10-20'sini ve az miktarda safra ile atılan kısmı oluşturur. Bu metabolitler diklofenakın 5- hidroksi, 3'-hidroksi ve 4',5-dihidroksi metaboliti olarak tanımlanmıştır (19,36,37).

3'- hidroksi -4'-metoksi- diklofenak metaboliti tek doz oral uygulamadan 12 saat sonra pik konsantrasyona ulaşmış ve tanımlanmıştır. Görünen yarı ömür 80 saattir ancak metabolit sadece eser miktarda idrar ile atılır. Sürekli salım formülasyonu ile 6-10 ay tedavi sonrasında önemli miktarda metabolit birikimi meydana gelmiştir ve bu durumda ana ilaç konsantrasyonundan 6 kat daha fazla konsantrasyona ulaşmıştır. Bu metabolit inflamasyon ve ağrı için kullanılan hayvan modellerinde aktif değildir. Ayrıca ilacın terapötik aktivitesine katkıda bulunmadığı ileri sürülmüştür. Böbrek fonksiyonu normal olan kişilerin idrarındaki diklofenak, 4'-hidroksi, 5- hidroksi, 3'- hidroksi ve 3'- hidroksi -4'-methoksi miktarları sırasıyla oral dozun %6,2, %16, %6,1, %2 ve %0,009'dur. Hayvan modellerinde diklofenak sodyumun anti-inflamatuvar ve anti-piretik aktivitenin %30'u 4'-hidroksi metabolitinden dolayıdır. Test edilen tüm metabolitler, klinik öncesi hayvan deneylerinde çok yüksek dozlarda orta derecede analjezik etki yaparlar (19,36-39).

Diklofenak molekülünün idrarla atılan faz 2 konjugatları faz 1 metabolitlerinin yaklaşık %22'sini ve dozun yaklaşık %12,6' sını oluşturur. Bununla birlikte yetişkin gönüllülerde değişmemiş diklofenakın böbreklerden atılımı dozun %0,2-0,77' si ve idrarla konjuge olarak atılan diklofenak molekülünün %5-9,4' ünü oluşturur. Yine genç ve yaşlı gönüllülerde yapılan başka bir çalışmada idrarla atılan faz 2 metabolitlerinin toplam yüzdesi sadece %4,5'tir (19, 23-25).

Juvenil romatoid artritli çocuklarda oral dozun %5,4 ile %1,2'si 12 saat boyunca idrarla atılır (19). Yapılan bir çalışmada ise dozun %6' sı idrarla serbest veya konjuge diklofenak olarak atılmış ve 4'-hidroksi diklofenak başlıca metabolit (%13,4); 3'-hidroksi-4' metoksi diklofenak ise en az miktarda (%1,4) bulunan metabolit olmuştur. İdrardaki tüm bileşenlerin toplamının %36'sını oluşturmuştur (40). Başka bir çalışmada



ise diklofenak değişmeden yüksek miktarda atılırken (%17,8), 4-hidroksi diklofenak (%38,6) başlıca metabolit olmuştur (41). Diklofenakın konjuge moleküllerinin, dondurulmuş örneğın saklanma süresine, örneklerin dondurulmasına ve çözülmesine, kullanılan analitik prosedürlere ve mesanede idrar tutulmasına bağlı olarak ana bileşige hidrolize olabileceği belirtilmektedir (19).

Diklofenak sodyum ile ilgili yapılan çalışmalarda bir takım yeni metabolitler tanımlanmıştır. Kapiler gaz kromatografisi-negatif etkili kimyasal iyonizasyon-kütle spektrometresi kullanılarak insan idrarında 2-[(2,6-dikloro-4-hidroksi-3-metoksifenil) tanımlanmıştır. Bu metabolit CYP izoenzimi CYP2C ile oksidasyon sonrası, katekol-O-metiltransferaz tarafından oluşturulur (19-25).

Diklofenak sodyum esas olarak %60- 70 arasında idrarla atılır. Eliminasyon hızlıdır ve ilaç klerensinin %90'ı 3-4 saat sürer. Yarı ömrü, oral, intravenöz ve rektal uygulamayı takiben sırasıyla, 1.2, 1.15 ve 1.6 saattir. İlacın terminal yarı ömrü yaklaşık olarak 2 saat, fakat tüm metabolitleri içeren görünür yarı ömür 25.8-33 saattir. Bu farklılıklar, test prosedürünün artan duyarlılığından ve daha sonraki çalışmada ilacın terminal eliminasyon fazının daha doğru tahminlerinden kaynaklanabilir. İlacın ve metabolitlerinin atılımı idrar, safra ve feçesle olur (19).

İnsanlarda böbreklerden atılım baskın olup, günlük dozun %60' ından daha fazlası idrarla konjugat olarak atılır. <sup>14</sup>C işaretli diklofenak molekülünün enjekte edilen dozunun yaklaşık olarak %61' i idrarla, %30' u ise feçesle atılır. Mono ve di-hidroksi metabolitler diklofenaka benzer terminal yarı ömre sahiptir ve yaklaşık olarak 1-4 saat arasındadır. 4'-hidroksi, 3'-hidroksi, 5'-hidroksi ve 4'-5'-dihidroksi metabolitler sırasıyla, 3,6 saat, 2,3 saat, 2,5 saat ve 3,1 saat yarı ömre sahiptir. Diklofenak ve metabolitlerinin safra ile atılması da mümkündür. Bir raporda safra kanalına yerleştirilmiş perkütan transhepatik kolanjiografli ve ekstrahepatik kolestazlı iki hastada safra içerisine atılan 50 mg diklofenak sodyumun %4,62'si bulunmuştur. Safrada değişmemiş ilaç ve aktif faz 2 metabolitleri olarak elimine edilen madde miktarı ortalama %1-9 arasındadır (19).

## 2.4. Diklofenak Sodyumun Farmakodinamik Özellikleri

### - Etki Mekanizması

Ağrı çevresel uyaranlara evrensel olarak deneyimli bir fizyolojik yanıttır. Cinsiyet, etnik köken, genetik ve çok değişken fizyolojik profil gibi faktörler birey içerisinde ve bireyler arası değişkenliğe katkıda bulunmaktadır. Yoğun araştırmalara ve giderek artan fizyolojik ağrı yollarının bilinmesine rağmen, akut ağrıyı tedavi etmek için kullanılan ilaçlar son yıllarda çok az gelişmiştir, belki de en son kaydedeğer ilaç 1999'da siklooksijenaz-2 (COX-2) inhibitör sınıfı olmuştur. Çünkü kimyasal olarak farklı analjezik maddeler yeterli olmadığı için, yeni analjeziklerin geliştirilmesindeki son trendler, mevcut ilaç veriminin iyileştirilmesi, farklı sınıflardan analjeziklerin birleştirilmesi, analjeziklerin yan etkilerini en aza indiren diğer ilaçlar ile formüle edilmesi (non steroidal ilaçlarla proton pompa inhibitörleri) veya esas olarak başka kullanımlar için geliştirilen ilaçların analjezik özelliklerinden (antikoagulanlar ve kas gevşeticiler) yararlanma olmuştur. Sonuç olarak yeni kimyasalların eksikliğine rağmen, mevcut analjeziklerin değiştirilmesi ağrı yönetimine karşı multimodal yaklaşımları desteklemek için değerli araçlar olmuştur. Yetmişli yıllarından itibaren mide mukozal hasarın esas yan etkisinden sorumlu olan NSAİİ'lerin ana etki mekanizmasının prostaglandin sentezinde önemli bir enzim olan siklooksijenazı inhibe ettiği yaygın olarak kabul edilmiştir (19,20).

Tüm NSAİİ'lerin antiinflamatuvar, antipiretik ve analjezik özelliklere sahip olduğu görülmektedir ve bu özellikler büyük ölçüde prostaglandinleri inhibe etmeleri ile açıklanabilir. NSAİİ'ler arasındaki güç, etkinlik ve güvenlik profillerindeki farklılıklar başka etki mekanizmalarının da bu ilaç sınıfı tarafından kullanılabilceğini göstermektedir. Tüm NSAİİ'lerde olduğu gibi, diklofenak sodyumun kesin etki mekanizması bilinmemektedir; fakat çeşitli kanıtlar bu ilaç için mevcut, varsayılan ve yeni gelişen etki mekanizmalarının varlığını göstermektedir (19,20).

### a. Bilinen Etki Mekanizması

NSAİİ'ler içinde tipik bir ilaç olan diklofenak sodyum, kandaki ve sinoviyal dokudaki proinflatuvar ve nosiseptif prostaglandinlerin sentezini inhibe eder. Diklofenak, prostaglandin E2 (PGE2) üretiminin en etkili inhibitörleri arasındadır ve COX aktivitesini inhibe etme yeteneğinin diğer NSAİİ'lere kıyasla molar bazda 3 ila 1000 kat daha güçlü olduğu bildirilmiştir. Diklofenak tarafından PGE2 inhibisyonu plazmadaki ilaç konsantrasyonu ile ilgilidir. Farklı COX izoformlarının aydınlatılması, bu enzim sınıfının anlaşılmasını ve diklofenakın prostaglandin sentezini inhibe etme kabiliyetini daha da arttırmıştır. COX-1, çoğu doku tipinde yapısal olarak ifade edilen izoform olarak kabul edilir. COX-1 konsantrasyonu görece stabil kalır ve normal trombosit fonksiyonuna aracılık etmek, böbrek kan akışını düzenlemek ve prostaglandin I2 (prostasiklin) yoluyla mide mukozasının sitoproteksiyonunu sağlamakla ilişkilidir. Buna karşılık, COX-2 ekspresyonu doku hasarı ve proenflatuar araçılara yanıt olarak önemli ölçüde artabilir ve ağrı ile inflamasyonda prostaglandin, tromboksan ve lökotrien mediyatörlerinin artmasından sorumludur. NSAİİ'ler arasında bu iki izoformun nispi inhibisyonları açısından belirgin bir fark vardır. COX-2 inhibitörü olarak bilinen rofekosib, COX-2 için 4 kat daha yüksek seçiciliğe sahip diklofenak ile karşılaştırıldığında, COX-2 için COX1'den 20 kat daha fazla seçiciliğe sahiptir. Yapılan çalışmada diklofenak COX-2 için 4 kat daha yüksek seçiciliğe sahip olsa da, terapötik seviyede COX-1'in %70' inin de inhibe edileceği belirtilmiştir. Dolayısıyla diklofenak için COX-2/COX-1 aktivitesinin IC80 oranı COX-2'ye karşı bir seçicilik göstermesine rağmen görece seçici olmaması, olumsuz kardiyovasküler etkilerle ilişkili COX-2 spesifik inhibitörler üzerinde bir güvenlik avantajı sağlayabilir. Bununla birlikte bazı kanıtlar, geleneksel NSAİİ'ler ile ilişkili gastrointestinal sistem korunmasının kaybından COX-1 ve COX-2 aktivitesinin çift baskılanmasının sorumlu olduğunu göstermektedir. Bu nedenle diklofenakın seçici olmaması teorik olarak daha yüksek COX-1 seçiciliğine sahip geleneksel NSAİİ'lerden daha yüksek gastrointestinal yan etkiler ile ilişkili olabilir (19,20).

### **b. Varsayılan Etki Mekanizması**

1980'lerin ortalarında yapılan çalışmalar, diklofenakın lökotrien üretimi üzerindeki etkisini ortaya koymuştur. İlk olarak, hücrel ve in vivo yaklaşımlar kullanılarak sıçan lökositleri, makrofajlar ve tam kanda 5-hidroksieikosatetraenoik asit (5-HETE) ve lökotrien C<sub>4</sub>'te diklofenak kaynaklı azalma tanımlandı. Bu etkiler normal terapötik seviyelerin üzerinde diklofenak konsantrasyonları kullanılarak elde edildi ve indometasin, naproksen ve ibuprofende de çok daha yüksek konsantrasyonlarda benzer etkiler gözlemlendi. Araştırmacılar azalmış miktardaki araşidonik asit miktarının, trigliseritleri ile yeniden birleşmenin bir ürünü olduğunu ve radyoaktif etiketli araşidonik asidin sıçan peritoneal polimorfonükleer lökositlerden fosfolipidlere katıldığını verilerle göstermiştir. Ayrıca serbest haldeki araşidonik asitte sn-2 pozisyonunda ester bağına hidroliz eden fosfolipaz A<sub>2</sub> üzerinde diklofenakın etkisi bulunmamıştır (10, 42). Başka bir çalışmada kalsiyum iyonofor uyarımı sonrası diklofenak ile muamele, sıçan peritoneal nötrofil ve makrofajlarda 5-HETE, lökotrien B<sub>4</sub> ve lökotrien C<sub>4</sub> miktarında azalma olduğu gösterilmiştir. Diklofenakın fosfolipaz A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) aktivitesini inhibe etmediği veya fosfolipid-araşidonik asit döngüsüne müdahale etmediği bunun yerine triaçilgliserol ile birleşmenin yüksek olduğu monosit ve makrofajlarda araşidonik asit alınımını arttırdığı bulunmuştur (43). Radyoaktif işaretli araşidonik asit ile insan sinovyal hücrelerinde interlökin-1 ile indüklenen PGE<sub>2</sub> salımını araştıran bir çalışma da, diklofenakın, serbest araşidonik asit ile ilişkili radyoaktiviteyi inhibe ettiği, fosfatidiletanolamin ve trigliseritlerle ilişkili radyoaktivite miktarını arttırdığı gösterilmiştir (44).

Ancak insan kolon kanseri hücreleri kullanılarak yapılan bir çalışmada, indometazin radyoaktif etiketli araşidonik asit alınımını azalttığı, bununla birlikte diklofenakın COX-2 aktivitesini inhibe eden konsantrasyonlarda bile bu etkiyi göstermediği bildirilmiştir (45).

İn vivo ortamda, diklofenak kaynaklı COX inhibisyonunun lökotrien üretimi ile ilişkili olumsuz etkileri olabileceği öne sürülmüştür. Araşidonik asitin COX enzimleri tarafından metabolize edilmesinden kaçınılarak birikmesi, mevcut lipooksijenazlar ile

reaksiyona girmesini ve alternatif proinflamatuvarların oluşumu teşvik etmektedir. Bu durum midede, lökotrien seviyelerinin meydana gelen yükselmenin, mide zarında irritasyonun artmasında rol oynayabileceğini göstermektedir. Lökotrien sentezi ve lökotrien reseptör inhibitörlerinin NSAİİ'ler ile ilişkili gastrointestinal yan etkilere karşı koruma sağladığı gösterilmiştir. Fakat bu etki sinovyal sıvı gibi bazı hedef dokularda ortaya çıkmayabilir. Bu bulgular diğer NSAİİ'ler ile karşılaştırıldığında araziidonik asit salınımı ve lökotrien sentez yolu üzerinde diklofenak için alternatif etki mekanizmalarını öne sürmektedir (42, 46).

Diklofenakın vasküler ve gastrointestinal düz kas duyarlılığını modüle etmede rolü olmasına ek olarak, nitrik oksit-siklik guanozin monofosfat (cGMP) yolunun periferik ve santral analjezide önemli bir rolü olduğu ileri sürülmektedir (47).

NSAİİ'lerin merkezi sinir sisteminde COX-bağımlı antinosiseptif etkisi bulunmaktadır. NSAİİ'lerin antinosiseptif aktivitesi ilaç hedef bölgesine, ilacın dağılım bölgesine ve alınımına bağlıdır. İnsan ve hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar diklofenakın doğrudan veya dolaylı olarak merkezi sinir sistemine hareket ettiğini göstermiştir. Bazı ekstraktların antinosiseptif, antiinflamatuvar ve antioksidan aktivitelerini incelemek için yapılan bir çalışmada asetik asit ile indüklenmiş writhing testi uygulanmış farelerde diklofenak sodyumun antinosiseptif etkisi gösterilmiştir. Başka bir çalışmada ise sıçanlarda diklofenakın merkezi antinosiseptif etkilerinin opioid reseptör agonisti naloksan tarafından kısmen tersine çevrildiğini göstermiştir. Bu durum da merkezi opioid metabolik yollarının olası rolünü düşündürmektedir. Sıçanlara intraperitoneal olarak diklofenak verildikten sonra 30 dakika içerisinde hipofiz  $\beta$ -endorfin miktarında azalma gözlenmiştir. Ağrı gözlenen hastalarda  $\beta$ -endorfin düzeyi yüksektir. Ameliyat edilmiş hastalar ile ilgili bir çalışmada  $\beta$ -endorfinin plazma seviyesi azaldıkça ibuprofen kaynaklı analjezi artmıştır. N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri omurilikteki sinaptik nosiseptif iletimde rol oynar. Bazı NSAİİ'lerin omurilikte antinosiseptif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Diklofenakın sıçan pençe kaslarında NMDA reseptörlerinin kompetitif inhibitörü olduğu gösterilmiştir. İlacın sıçanlarda omurilikte ve diensefalonda kinurenik asit (NMDA reseptör antagonisti)

konsantrasyonlarını önemli ölçüde arttırdığı gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada diklofenak ve indometazin, iki seçici olmayan COX inhibitörü, sıçanlarda kinurak seviyelerini arttırırken, COX-2 seçici inhibitörleri parekoksib ve meloksikam kinurenik asit seviyelerini düşürmüştür. Dolayısıyla elde edilen bu sonuçlar NSAİİ'lerin antinosiseptif aktivitesinin NMDA reseptör yolları ile inhibisyonunun, ilgili NSAİİ'lerin COX seçicilik profiline bağlı olduğunu düşündürmektedir (46,48).

### c. Yeni Gözlenen Etki Mekanizmaları

COX-2'nin yaralanmaya yanıt olarak hızla yukarı regülasyonu göz önüne alındığında bazı çalışma sonuçlarının COX-2 inhibisyonuna NSAİİ'lerin antikanser etkilerinde sorumlu olabileceğini düşündürmektedir. Gerçekten de, çeşitli kanserlerde ve deneysel kanser modellerinde COX-2 ekspresyonunda artışlar bildirilmiştir. COX-2'nin aktivasyonu ile PGE2 üretiminin apoptozu inhibe ettiği, anjiyogenezi uyardığı ve tümör büyümesine yol açtığı düşünülmektedir. Bu nedenle, NSAİİ'lerin antitümör aktivitesinin bir kısmı muhtemelen COX ve PGE2 üretimini inhibe etmelerinden kaynaklanmaktadır. Ancak NSAİİ'lerin antitümör aktivitesinin COX ve PGE2'den bağımsız olduğu çeşitli mekanizmalar da öne sürülmüştür. Birçok non-spesifik ve COX-2 selektif NSAİİ'ler için COX-bağımsız antitümör etki nükleer faktör kappa B, aktivatör protein 1, mitojenle aktifleşen kinaz ve hücre döngüsü regülatör yollarla olabileceği bildirilmektedir. Ancak NSAİİ'lerin tamamı bu yolları kullanmaz. NSAİİ'lerin COX-bağımsız antitümöral aktivitesi için başka yolların olduğu düşünülmektedir ve bu durum da bireysel olarak NSAİİ'lerin benzersiz etki mekanizmalarına sahip olabileceği fikrini desteklemektedir (46,49).

NSAİİ tarafından COX-bağımsız antitümör aktivitesi için önerilen alternatif yol nükleer reseptör aktivitesinin, özellikle peroksizom proliferatörle aktifleştirilen reseptör gama (PPAR $\gamma$ ) modülasyonudur. PPAR $\gamma$ , adipositlerin ve makrofajların farklılaşmasını kontrol eder, yağ asidi metabolizmasında ve enflamatuar süreçlerde rol oynar. Ayrıca tümör hücresi proliferasyonunun baskılanmasında rol oynadığı gösterilmiştir. Diklofenakın PPAR $\gamma$ 'ya diğer NSAİİ'lerden 50 kat daha fazla afinite gösterdiği rapor

edilmiştir. İndometazin ve diklofenak sodyumun diğer PPAR izoformlarından ziyade PPAR $\gamma$  için seçici agonistler oldukları gösterilmiştir (46,49).

P maddesi, bazı inflamatuvar hastalıklarda rol oynayan proinflamatuvar bir nöropeptiddir. Birincil duyarlı noseseptif nöronlar P maddesi içerir ve kapsainin kaynaklı P maddesinin tükenmesi analjeziktir. Diklofenak romatoid artritte sinovyal sıvıda P maddesini azaltır. Ayrıca NSAİİ'ler P maddesinin monosit ve polimorfonükleer lökosit (PMN) hücreleri üzerindeki kemotaktik etkisine müdahale edebilir. Yapılan bir çalışmada, klinik açıdan uygun konsantrasyonda diklofenak kullanımı insan PMN hücrelerinin kemotaktik yanıtını yaklaşık %40 oranında inhibe etmiştir (46,49).

Çok sayıda sitokin, inflamasyonda rol oynar. İnterlökin-6 (IL-6) akut inflamatuvar mediyatör IL-10 tarafından dengede tutulan, hem pro-inflamatuvar hem de antiinflamatuvar bir sitokindir. Prostaglandinler IL-6 ve IL-10 salınımını düzenler, IL-6 ve diğer pro-inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu aşağı-regüle eder. NSAİİ'lerin prostaglandinden bağımsız bir mekanizma ile proenflamatuvar sitokinlerin azaltılmasında rol oynayabileceğini gösteren birkaç kanıt vardır. Ketoprofen, indometazin ve diklofenak IL-6 üretimini ve ekspresyonunu aşağı regüle eder. Dahası, diklofenak insan kondrositlerinde PGE2 sentezini tamamen engeller ve IL-6 üretimini önemli ölçüde azaltır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında büyük ameliyat geçiren ve diklofenak alan hastaların IL-6 ve IL-10 düzeyleri 6 saatte en yüksek düzeye ulaştığı, ancak 12. saatte diklofenak alan grubun IL-6 konsantrasyonunda önemli bir düşüş gözlemlendiği bildirilmiştir. 7 gün boyunca diklofenak ile tedavi edilen romatoid artritli bireylerde ise plazma ve sinovyal sıvıda IL-6 düzeyinin önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir (46,49).

Tromboksan A2, tromboksan-prostanoid G-proteine bağlı reseptör yoluyla trombosit aktivasyonunu ve agregasyonunu sağlar. Diklofenakın sodyumun, trombositler tarafından kanın pıhtılaşmasında tromboksan B2 üretim inhibisyonu meloksikamdan (COX-2 spesifik inhibitör) daha güçlüdür. Tromboksan A2 araşidonik asitten COX enzimi etkisiyle oluşur ve etkisiz bir şekile (tromboksan B2) dönüşür. Tromboksan A2 üretimini

inhibe etmesinin yanı sıra, terapötik seviyelerde diklofenak tromboksan reseptörüne bağlanır ve kompetatif antagonisti olarak işlev görebilir (46,49).

Doku asidozu, asit algılayıcı iyon kanalları (ASIC) aracılığıyla nosiseptif duyu nöronlarının doğrudan uyarılmasıyla ağrı hissini ortaya çıkmasına katkıda bulunan bir enflamasyon bileşenidir. Yapılan bir çalışmada simian virus hücre hattında (COS hücreleri) diklofenakın ASIC3'ü seçici olarak inhibe ettiği ve ibuprofenin ise ASIC1'i seçici olarak inhibe ettiği gösterilmiştir. Ayrıca diklofenak ve ibuprofenin sıçan hipokampal nöronlar arasında proton kaynaklı akımı inhibe ettikleri gösterilmiştir (46).

### - Enzim-Substrat-Inhibitör İlişkileri

Diklofenak sodyum çeşitli enzimler ile moleküllerin substratı ve inhibitörüdür (Tablo 2.1.) (17).

**Tablo 2.1.** Diklofenak sodyumun substratı ve inhibitör etki gösterdiği enzim ve moleküller.

Substrat	İnhibitör
BSEP/ABCB11	Siklooksijenaz
CYP1A2	Siklooksijenaz-2 (COX-2)
CYP2B6	CYP2E1(Güç bilinmiyor)
CYP2C18	CYP3A
CYP2C19	CYP3A4(Güç bilinmiyor)
CYP2C8	OAT1/SLC22A6
CYP2C9	OAT3/SLC22A8
CYP3A	OATP1B1/SLCO1B1
UGT1A1	P-glycoprotein
UGT1A3	Prostaglandin G/H sentaz 1
UGT1A9	Prostaglandin G/H sentaz 2
UGT2B7	Çoklu ilaç direnciyle ilişkili protein 4
	Çoklu ilaç direnciyle ilişkili protein 1
	Sodyum kanal protein tip 4 alfa alt birim
	Aside duyarlı iyon kanalı 1



## 2.5. Diklofenak Sodyumun Toksisitesi

### 2.5.1. Akut ve Tekrarlı Doz Toksisitesi

Diklofenak sodyum ile ilgili olarak yapılan akut toksisite çalışmaları Tablo 2.2.'de gösterilmiştir. Fare, sıçan, köpek, tavşan ve kobaylarda oral LD50 değerleri sırasıyla 95 mg/kg, 53 mg/kg, 59 mg/kg, 194 mg/kg, 1110 mg/kg'dır. LD50 değeri ilacın veriliş yoluna ve verilen türe göre değişmektedir (18).

**Tablo 2.2.** Diklofenak sodyum ve akut toksisite çalışmaları.

Organizma	Test Tipi	Veriliş Yolu	Doz (mg/kg)	Referans
<i>Köpek</i>	LD50	İntravenöz	42	144
<i>Köpek</i>	LD50	Oral	59	144
<i>Fare</i>	LD50	İntraperitoneal	74	145
<i>Fare</i>	LD50	İntravenöz	116	146
<i>Fare</i>	LD50	Oral	95	147
<i>Fare</i>	LD50	Subkutan	390	148
<i>Tavşan</i>	LD50	İntravenöz	157	144
<i>Sıçan</i>	LD50	İntraperitoneal	25	148
<i>Sıçan</i>	LD50	İntravenöz	117	146
<i>Sıçan</i>	LD50	Oral	53	149
<i>Sıçan</i>	LD50	Rektal	85.4	150
<i>Sıçan</i>	LD50	Subkutan	83	146
<i>Kobay</i>	LD50	Oral	1110	151
<i>Tavşan</i>	LD50	Oral	194	
<i>Sıçan</i>	LD50	İntravenöz	106	

Kadınlarda oral yol en düşük toksik doz (TDLo) değeri değişmektedir; 8 hafta, 112 mg/kg va/ gün; bir diğer çalışmada 13 hafta, 180mg/kg, 17 hafta 300 mg/kg olarak bildirilmektedir (18).

Tekrarlı doz çalışmalarında esas sonuç toksik etkinin gözlenmediği en yüksek doz (NOAEL) ve gözlemlenen en düşük olumsuz etki dozunun (LOAEL) belirlenmesidir. Sıçanlarda, diklofenak sodyum, 91 gün süreyle 0,5, 2,5 ve 5,0 mg/kg vücut ağırlığı dozlarında oral yoldan uygulandığı çalışmaya göre 5,0 mg / kg ile tedavi edilen sıçanlarda mutlak ve nispi karaciğer ve epididim ağırlığında önemli düşüşler kaydedilmiştir. 0,5 ve 2,5 mg/kg vücut ağırlığı dozlarında hiçbir yan ve toksik etki gözlenmemiştir. Sıçanlarda oral yol NOAEL değeri 2,5 mg / kg vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir. 4 dişi ve 4 erkek Beagle köpeklerinde yapılan 13 haftalık toksisite çalışmasında göre; diklofenak sodyumun oral yol NOAEL düzeyi 0,3 mg/kg/gün olarak bildirilmiştir. Diklofenak sodyuma tekrarlı veya uzun süreli maruziyet sonucunda organlarda (kardiyovasküler sistem, gastrointestinal sistem, karaciğer ve renal sistem) hasar oluşturur. Hamileliğin 21. gününde sıçan gebelere 0,1 mg / kg tek bir oral doz, yavrularda duktus arteriyozusun daralmasına neden olduğu bildirilmiştir. Fetal etkiler için LOAEL 0,1 mg / kg olarak belirlenmiştir (Tablo 2.3.) (50).

**Tablo 2.3.** Diklofenak sodyum ve subkronik toksisite çalışmaları

<i>Süre</i>	<i>Organizma</i>	<i>Veriliş Yolu</i>	<i>Doz(mg/kg)</i>	<i>Bitiş Noktası</i>	<i>Hedef Organ</i>
<i>91 gün</i>	Sıçan	Oral	2,5	NOAEL	Karaciğer ve epididim
<i>13 hafta</i>	Köpek	Oral	0,3	NOAEL	Tüm organlar
<i>30 gün</i>	Sıçan	Oral	14	LOAEL	Tanımlanmamış
<i>1 gün</i>	Sıçan	Oral	0,1	LOAEL	Fötüs
<i>5 hafta</i>	Fare	Oral	9	LOAEL	Akciğer, Dalak
<i>26 hafta</i>	Sıçan	Oral	50	LOAEL	GIS, Kan

### 2.5.2. Karsinojenik Etkisi

Sıçanlar üzerinde yapılan uzun dönem karsinogenesisite çalışmalarında 2 mg/kg/gün (insanda önerilen maksimum dozun 0,1 katı) diklofenak sodyum verilmiş ve tümör insidansında önemli bir artış meydana gelmediği gösterilmiştir. Farelerde yürütülen 2 yıllık karsinogenesisite çalışmasında ise erkeklere 0,3 mg/kg/gün, dişilere ise 1 mg/kg/gün dozlarda diklofenak sodyum verilmiş ve herhangi bir onkojenik etki ortaya çıkmadığı bildirilmiştir (51,52).

### 2.5.3. Genotoksisitesi ve Mutajenisitesi

Diklofenak sodyum, memelilerde (fare lenfoma) in vitro nokta mutasyon testinde mutajenik aktivite göstermemiştir. Farelerde germinal epitelyal kromozomal çalışmalar, Çin hamsterlarında kromozomal aberasyon ve nükleus anomalisi gibi birçok çalışma dahil olmak üzere memeli in vivo ve in vitro testlerde mutajenik olmadığı bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada antiinflamatuvar ilaçların mutajenisitesini araştırmak için mikrobiyal test sistemi (Ames) kullanılmış ve çalışma sonucunda indometazin ve oksifenbutazon için mutajenite gösterilirken, diklofenak sodyumun mutajen olmadığı belirtilmiştir (51,52).

Diklofenak sodyumun genotoksisitesini değerlendirmek amacıyla yapılan bir çalışmada ise *Dreissena polymorpha* (zebra midyesi) hemositi kullanılmıştır. Çalışma kapsamında midyeler, 96 saat boyunca artan konsantrasyonlarda (0,3, 1 ve 2 nM) diklofenaka maruz bırakılmış ve tek hücre jel elektroforezi, mikronükleus testi, DNA difüzyon testi ve nötral kırmızısı bekletme tesiti uygulanmıştır. Çalışma sonucunda sadece en yüksek konsantrasyonda lizozomal membran stabilitesinde azalma meydana geldiği görülmüştür (158). Başka bir çalışmada ise eritromisin, sülfametazin, sülfatiazol, klortetrasiklin, oksitetrasiklin ve diklofenakın (5, 10, 15 ve 20 mg/L) DT40 mutant hücre hattı kullanılarak genotoksik potansiyelleri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda 5 mg/L (15,7 mM) diklofenak kullanımı hücre proliferasyonunda azalma meydana getirirken,

sülfametazin ve diklofenak maruziyeti *RAD54<sup>-/-</sup>* hücrelerinde kromozom anomalilerinin artmasına sebep olmuştur (51-53).

#### 2.5.4. Üreme Toksisitesi

İlacın insan üreme ve gelişimi üzerindeki etkilerini değerlendirmek için gerekli bilgi, genel olarak ilacın yetişkin hayvanlarla maruziyeti ve gebe kalmaktan cinsel olgunluğa kadar gelişimin tüm aşamaları üzerindeki etkiyi içermelidir. İlacın tanımlanan etkisi, eğer üreme ve gelişimsel fonksiyonu etkilemeyen adaptif bir değişim (enzim indüksiyonu gibi) ise ‘olumsuz değil’ olarak da düşünülebilir. Prostaglandinlerin erkek üreme sisteminin düzenlenmesinde önemli bir rolü vardır. Prostaglandin E ve prostaglandin F sperm gelişiminde rol oynar. Bu moleküller ayrıca epididimis tübüllerinin kasılmasını arttırmaları. Yapılan bir çalışmada diklofenak sodyumun erkek sıçanların üreme sistemi üzerindeki toksisitesi incelenmiştir. Sağlıklı erkek sıçanlara 30 gün boyunca 0.25 mg/kg, 0.50 mg/kg ve 1.0 mg/kg diklofenak sodyum oral yoldan verilmiş ve vücut-organ ağırlıkları, sperm-testis hücre popülasyonu dinamikleri, serum biyokimyası, histopatolojik ve hematolojik açıdan incelenmiştir. Çalışma sonucunda testis, epididimis, ventral prostat ve seminal vezikül ağırlıklarında önemli ölçüde azalma olmuştur. Sperm sayısı, sperm yoğunluğu (epididimis ve testis), sperm motilitesi ve testiküler hücre popülasyon dinamikleri doza bağlı bir şekilde azalmıştır. Ayrıca, farklı seviyelerde testis dejenerasyonu, anormal histolojik yapılar ve seminifer tübüllerinde daralmalar gözlenmiştir (54).

Altındağ ve ark. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada gebe sıçanların gestasyonunun 5. ve 16. günleri arasında kas içi 6.1 mg/kg/gün diklofenak sodyum ile muamele edilmesi sonucunda 4 haftalık yavru sıçanlarda Sertoli ve Leyding hücrelerinin toplam sayısında önemli bir azalmanın meydana geldiği görülmüştür (55).

### 2.5.5. Teratojenik Etkisi

Birçok tıbbi ürün hamilelik sırasında yeterince incelenmediği veya hayvanlarda yapılan çalışmalar sonucu fetüs üzerinde olumsuz etkilerinin (teratojenik, fetotoksik vb.) bulunmasından dolayı kontrendikasyonlara ve özel uyarılara sahiptirler. NSAİİ'lerin hamileliğin ikinci periyodu sırasında uygulanması, fetal duktus arteriyozun erken kapanmasına, fetal böbrek yetmezliğine, trombosit agregasyonunun inhibisyonuna ve doğumun gecikmesine neden olabilir. Hamile kadınlarda diklofenak ve diğer NSAİİ'ler ile ilgili yeterli ve iyi kontrollü çalışma yoktur. Diklofenak FDA'ya göre hamilelikte 30. haftadan önce C kategorisinde, 30. haftadan itibaren ise D kategorisinde yer alır (56).

Diklofenak sodyumun teratojenitesi ile ilgili hayvanlar üzerinde bazı çalışmalar yapılmıştır. Bir çalışmada erkek ve dişi sıçanlara oral olarak 2 mg/kg/gün veya 4 mg/kg/gün diklofenak sodyum verilmiştir. Dozlama çiftleşme öncesi, çiftleşme, gebelik ve emzirme süresi boyunca yapılmıştır. Çalışma sonucunda düşük doğum ağırlığı ve ölüm gözlenmiştir. Fare ve sıçanlar üzerinde yapılan teratojenik çalışmalarda oral olarak 2 mg/kg/gün, 3 mg/kg/gün, 10 mg/kg/gün ve 20 mg/kg/gün diklofenak sodyum verilmiş, ancak fetüs üzerinde herhangi bir teratojenik etki gözlenmemiştir. Daha yüksek dozlarda belirgin gastrointestinal etkiler ve fetüste belirgin toksik etkiler gözlenmiştir (doğum ağırlığında azalma ve ölüm). Yine hamile tavşanlar gebelik dönemi boyunca oral olarak 5 mg/kg/gün veya 10 mg/kg/gün diklofenak sodyum ile muamele edilmiş ve fetüs ağırlığında azalma ile doza bağlı olarak anormal iskelet yapılarında artış gözlenmiştir (50).

Chan ve ark. (2001), sıçan embriyosu kullanarak organogenez boyunca diklofenak sodyumun embriyo gelişimi üzerine etkisini incelemiştir. Çalışma sonucunda embriyoların yüksek dozlarda diklofenak sodyuma (7,5 µg/mg ve 15,0 µg/mg) maruz kalması kaudal nöral tüp ve fleksiyon gelişimini önemli ölçüde etkilemiştir (57).

Elibol ve ark. (2019), Wistar sıçanına gebeliğin 5. ve 20. günlerinde diklofenak sodyum(1mg/kg) uygulamış ve yavrulardaki davranışsal açıdan farkları gözlemlemiştir. 4 haftalık yavrular duyuşsal motor testlerine, Morris'in su labirenti ve radyal labirent testlerine tabi tutulmuştur. Çalışma sonucunda hem dişi hem de erkeklerde tırmanma gibi

bazı duyuşal motor performansları bozulmuştur. Ayrıca dişiler, erkeklere kıyasla daha yüksek anksiyeteye sahip ve erkek yavrular ise kontrol grubuna göre çevreye daha yavaş adapte olmuşlardır (58).

Gökçimen ve ark. tarafından yürütölen bir çalışmada gebeliğin 5. gününden 20. gününe kadar her gün diklofenak sodyum (1 mg/kg vücut ağırlığı) verilmiş ve doğumdan sonraki 4. haftada yavruardan doku örnekleri alınmıştır. Çalışma sonucunda diklofenak sodyum verilen grubun gebelik süresinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde uzun olduğu bildirilmiştir. Ayrıca diklofenak sodyum verilmiş bireylerin periportal alanda orta düzeyde genişleme, safra kanalı proliferasyonu, hepatosit nükleuslarında piknoz ve paransimal hücrelerde vakuolar dejenerasyon ile yavruların karaciğerinde önemli farklılıklar gözlenmiştir (59).

#### **2.5.6. Laktasyonda Kullanımı**

Diklofenak sodyumun sütün içine geçmesine ilişkin veriler zayıftır, ancak ilacın kısa bir yarı ömrü vardır ve az miktarda glukuronid metaboliti oluşur. Diklofenak emzirme durumunda kullanılabilir. Diklofenak 6 kadına 50 mg intramusküler olarak verilmiş ve 6 saat boyunca anne sütünde tespit edilememiştir. Ayrıca 6 anneye doğum sonrası bir hafta boyunca günde oral olarak 100 mg diklofenak verildiğinde toplanan 59 süt örneğinin hiçbirinde diklofenak tespit edilemediği rapor edilmiştir (60).

#### **2.5.7. İlaç-İlaç Etkileşimleri**

Bazı ilaçların diklofenak farmakokinetiği üzerinde etkileri vardır. NSAİİ'lerin birkaç kombinasyonu kronik artropatilerin tedavisinde kullanılır. Terapötik dozlarda, asetil salisilik asit ve diklofenak birlikte verildiğinde diklofenakın plazma konsantrasyonunda ve biyoyararlanımında azalma olur. Bunun yanısıra diklofenak

sodyum ile kodeinin birlikte uygulanmasının diklofenakın göreceli biyoyararlanımı üzerinde etkisi bulunmaktadır (22,25).

Diklofenak sodyum ve parasetamolün sağlıklı gönüllülere 16 gün boyunca uygulanması sonucunda biyoyararlanımında önemli bir etki gözlenmemiştir. Ayrıca, mide ve ince bağırsak ülserlerinin tedavisi ve önlenmesinde gastroprotektif ajanlar bu grup ilaçların gastrointestinal yan etkilerine etkisiz hale getirmek için NSAİİ'ler ile birlikte uygulanır. Sulglicotide, diklofenak ile birlikte verildiğinde diklofenak biyoyararlanımını etkilemez. Diklofenak ve sukralfatın gastroprotektif formülasyonu biyoyararlanımda farklılıklar göstermezken, daha erken ve daha büyük Cmax gözlenmiştir (61).

Diklofenak sodyumun etkileşebileceği önemli ilaçlar arasında acalabrutinib, adefovir, anisindione, apixaban, ardeparin, betrixaban, botulism immune globulin, cabozantinib, cidofovir, cytomegalovirus immune globulin, dabigatran, dalteparin, danaparoid, dasatinib, deferasirox, desirudin, diatrizoate, dicumarol, drotrecogin alfa, edoxaban, enoxaparin, everolimus, fondaparinux, ibritumomab, ibrutinib, immune globulin intravenous, immune globulin intravenous and subcutaneous, inotersen, iodamide, iodine I<sup>131</sup> tositumomab, iodipamide, iodixanol, iohexol, iopamidol, iopromide, iothalamate, ioversol, ioxaglate, ioxilan, ketorolac, leflunomide, lithium, lomitapide, methotrexate, metrizamide, mipomersen, omacetaxine, panobinostat, pexidartinib, ponatinib, prasugrel, ramucirumab, regorafenib, respiratory syncytial virus immune globulin, rho (d) immune globulin, rivaroxaban, sirolimus, tacrolimus, temsirolimus, teriflunomide, tinzaparin, tositumomab, vorapaxar, warfarin ve zanubrutinib yer almaktadır (17) (Tablo2.4.).

**Tablo 2.4.** Diklofenak sodyum ve etkileştiği ilaç grupları.

<b>İlaç ve ilaç grupları</b>	<b>Etkileşme</b>
<i>Lityum (bazı zihinsel problemler) ya da seçici serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI'lar) (bazı depresyon tiplerinin tedavisinde kullanılan ilaçlar)</i>	Diklofenak, lityumun atılım oranını azaltabilir. Serum lityum düzeyi artabilir.
<i>Kardiyak glikozidler (kalp sorunlarının tedavisinde kullanılan bir ilaç grubu)</i>	Diklofenak ile kombine durumda digoksinin serum konsantrasyonunu arttırabilir.
<i>Mifepriston (istenmeyen gebelikleri sonlandırmak için kullanılan bir ilaç)</i>	Diklofenak ile kombine durumda Mifepristonun serum konsantrasyonunu arttırabilir.
<i>Diüretikler (idrar söktürücü ilaçlar)</i>	Diklofenak ile kombinasyon halinde kullanıldığında Indapamid'in terapötik etkinliği azaltılabilir.
<i>ACE inhibitörleri ya da beta-blokörler (yüksek kan basıncının ve kalp yetmezliğinin tedavisinde kullanılan ilaçlar).</i>	Diklofenak, perindopril ile kombine durumunda böbrek yetmezliği, hiperkalemi ve hipertansiyon riski veya şiddeti arttırılabilir.
<i>Diğer iltihap giderici ilaçlar (asetilsalisilik asit ya da ibuprofen gibi)</i>	Diklofenak, ibuprofen ile kombine durumunda yan etki riski veya şiddeti arttırılabilir.
<i>Kortikosteroidler (vücudun iltihaptan etkilenen bölgelerinde rahatlatma sağlamak için kullanılan kortizon ve benzeri ilaçlar)</i>	Kortizon, diklofenak ile kombine durumda gastrointestinal tahriş riski veya ciddiyeti artabilir.
<i>Kanın pıhtılaşmasını önlemek için kullanılan varfarin ve benzeri ilaçlar</i>	Diklofenak, varfarin ile kombine durumda kanama ve kanama riski veya şiddeti arttırılabilir.
<i>Diyabet (şeker hastalığı) ted. kull. ilaçlar (insülin hariç)</i>	Diklofenak, metformin atılım oranını azaltabilir.
<i>Metotreksat (bazı kanser ya da eklem iltihabı türlerinin tedavisinde kullanılan bir ilaç)</i>	Metotreksat'ın serum konsantrasyonu, Diklofenak ile kombine durumda arttırılabilir.
<i>Siklosporin, takrolimus (özellikle organ nakli yapılan hastalarda kullanılan ilaçlar)</i>	Diklofenak'ın serum konsantrasyonu, siklosporin ile kombine edildiğinde arttırılabilir.
<i>Trimetoprim (idrar yolu enfeksiyonlarından korunmada ve bu enfeksiyonların tedavisinde kullanılır)</i>	Trimetoprim ile kombine edildiğinde diklofenak metabolizması azaltılabilir.
<i>Kinolon türevi antibakteriyel ilaçlar (Enfeksiyona karşı kullanılan bazı ilaçlar)</i>	Siprofloksasin ile kombine edildiğinde diklofenak metabolizması azaltılabilir.
<i>Vorikonazol (mantar enfeksiyonlarında kullanılan bir ilaç)</i>	Vorikonazol ile kombine edildiğinde diklofenak metabolizması azaltılabilir.
<i>Fenitoin (havale tedavisinde kullanılan bir ilaç)</i>	Diklofenak'ın serum konsantrasyonu, fenitoin ile komedildiğinde arttırılabilir.
<i>Kolestipol ve kolestiramin (kolesterol düşürücü olarak kullanılan ilaçlar)</i>	Kolestipol, diklofenak emiliminde azalmaya ve sonuçta serum konsantrasyonunun azalmasına ve potansiyel olarak etkinliğin azalmasına neden olabilir.



### **2.5.8. Kontrendikasyonları**

Diklofenak sodyuma karşı aşırı duyarlılık (Anafilaktik reaksiyonlar, ciddi deri reaksiyonları); aspirin veya diğer NSAİİ'leri aldıktan sonra astım, ürtiker veya diğer alerjik tip reaksiyon geçmişi ve koroner arter bypass greft operasyonu durumunda (kardiyovasküler trombotik olaylar) kontrendikedir (62).

### **2.6. Diklofenak Sodyumun Sistemler Üzerine Toksik Etkileri**

Diklofenak sodyumun başlıca olumsuz etkilediği organ ve sistemlerin başında gastrointestinal sistem, kardiyovasküler sistem, karaciğer ve böbrekler yer alır.

#### **- Gastrointestinal Sistem Üzerine Toksik Etkileri**

Geleneksel NSAİİ'ler gastrointestinal kanama dahil yaşamı tehdit eden gastrointestinal yan etkiler ile ilişkilendirilmiştir. Gastrointestinal yan etkiler, NSAİİ'ler kullanımı ile en sık görülen hasta şikayetleridir. İki farklı COX izoformunun keşfinden kısa bir süre sonra, belirli bir NSAİİ ile ilişkili GI toksisite boyutunun COX-1'a karşı nispi aktivite ile ilişkili olduğu farzedilmiştir. COX-1 inhibisyonu ile gastrointestinal yan etkiler arasındaki nedensel ilişkiden dolayı, COX-2'ye özgü NSAİİ'ler gastrointestinal riski azaltmak için geliştirilmiştir. Diklofenak, COX-2'ye COX-1'den daha fazla özgüllük gösterir ve diğer NSAİİ'lere kıyasla nispeten düşük bir GI toksisitesi seviyesi ile ilişkilidir. Bununla birlikte, vaka-kontrol ve kohort çalışmaları analizinde araştırmacılar genel olarak ibuprofenin NSAİİ'ler arasında en düşük gastrointestinal riske sahip olduğu, bununla birlikte diklofenak ve naproksenin ibuprofen ile karşılaştırıldığında gastrointestinal risklerinin biraz daha yüksek olduğu sonucuna varmışlardır (46).

#### **- Kardiyovasküler Sistem Üzerine Toksik Etkileri**

Koksibler, COX-2 izoenziminin seçici inhibitörleridir. Ayrıca bu ilaçlar NSAİİ'lerin gastrontestinal yan etkilerini azaltmak için geliştirilmiştir. Fakat, koksiblerin

daha az gastrointestinal komplikasyon ile ağrının giderilmesi için geleneksel NSAİİ'ler kadar etkili olduğu, ancak potansiyel olarak kardiyovasküler riskleri olduğu gösterilmiştir. Yapılan bir meta-analizde, plaseboya kıyasla tüm NSAİİ'lerin farklı seviyelerde kardiyovasküler ve serebrovasküler risklere neden olduğu göstermiştir. Rofecoxib miyokard enfarktüsü riski ile yüksek oranda ilişkili olmakla birlikte bunu lumiracoxib takip etmektedir. Felç riski açısından ise ibuprofen ve diklofenak oldukça önemlidir. Ayrıca Etoricoxib ve diklofenakın kardiyovasküler ölüm riski ile de ilişkili olduğu bulunmuştur. Oral diklofenak kullanımı, tedaviye başladıktan hemen sonra en yüksek risk tehlike oranına sahiptir. 80 yaşın üzerindeki hastalarda, tedavinin ilk haftasında diklofenak alınımı diğer yaş gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek ölüm riskine sahiptir. Diklofenak ayrıca lökosit-endotel etkileşimleri üzerinde koruyucu bir etkiye sahiptir. Lökositlerin vasküler endotele yapışması, plak oluşumunda kardiyovasküler hastalığa önemli ölçüde katkıda bulunan erken bir adımdır. Diklofenakın, PMN lökositlerinde kemotaksisi ve proteaz üretimini azalttığı ve L-selektin, E-selektin, hücreler arası adezyon molekülü-1 ve vasküler hücre adezyon molekülü-1 dahil olmak üzere lökosit-endotel hücre adezyon sürecine önemli katkıda bulunanların ekspresyonunu azalttığı görülmektedir. Diklofenakın antihipertansif ajanların etkilerini ortadan kaldırdığı görülmemektedir. Bu nedenle, diklofenak hipertansiyon tedavisi gören hastalar için uygun bir NSAİİ'ler seçeneği gibi görünmektedir (46).

#### - Karaciğer Üzerine Toksik Etkileri

Antihipertansifler, antimikrobiyaller ve immünoşüpresanlar gibi NSAİİ'ler de ilaca bağlı karaciğer hasarına neden olabilir. Aydın ve ark. (2003)' nın yaptıkları bir çalışmada erişkin erkek Wistar sıçanlara artan dozlarda diklofenak sodyum (50, 100, 150 mg/kg/gün) intramusküler olarak verilmiştir. Çalışma sonucunda tüm diklofenak sodyum gruplarında histopatolojik değişimler (karaciğer hücrelerinin hidropik dejenerasyonu, fokal sinüzoidal ve vena centralis dilatasyonu, portal alanlarda safra kanalı proliferasyonu ve periontal bölgenin mononükleer hücre ile genişlemesini gözlenmiştir (63).

## - Böbrek Üzerine Toksik Etkileri

Gastrointestinal ve kardiyovasküler durumlara ek olarak, NSAİİ'lerin uzun süreli kullanımı böbrek hasarı ve toksisite ile ilişkilendirilmiştir. Yapılan bir çalışmada albino sıçanlara 14 gün boyunca 2 mg/kg/gün diklofenak sodyum verilmiştir. Çalışma sonucunda diklofenak sodyum proksimal ve distal kıvrımlı tüplerin tahribine neden olmuştur. Raporlar, seçici COX-2 inhibitörlerinin, seçici olmayan NSAİİ'lerde gözlenenlere benzer şekilde böbrek fonksiyonu üzerinde etkileri olduğunu gösterse de terapötik dozlarda diklofenak ile akut tedavi, önemli ölçüde hasar görmüş böbrek hastalarıyla ilişkili değildir (46).

### 2.7. Diklofenak Sodyum Zehirlenmesi ve Tedavisi

NSAİİ'ler doz aşımını takiben tipik olarak uyuşukluk, bulantı, kusma ve epigastrik ağrı ile sınırlıdır. Hipertansiyon, akut böbrek yetmezliği, solunum depresyonu ve koma nadirdir (17).

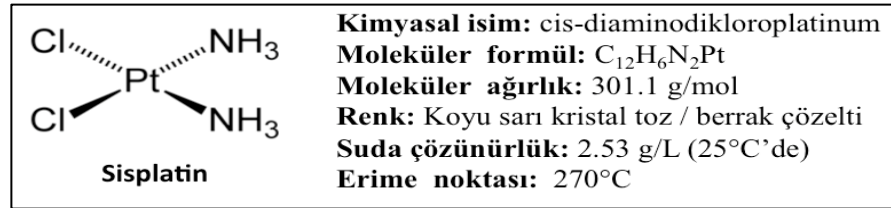
Diklofenak ile ilgili yüksek doza bağlı olarak vaka bildirimleri olmuştur. Örneğin, 19 yaşındaki bir birey alkollü içecek ile birlikte 20 tablet (4 g) klormezanon ve 30 tablet (1500 mg) diklofenak sodyum almıştır. Kişide hipotoni gözlenmiş ancak refleksler normaldi. Gastrik lavaj uygulandıktan sonra hasta iyileşmiştir (64).

NSAİİ'lerde doz aşımı sonrası semptomatik ve destekleyici bakım düşünülür. Spesifik bir antidotu yoktur. Yüksek doz alan hastalarda veya yutulduktan 4 saat içerisinde kusma ve/veya aktif kömür (erişkinlerde 60-100 mg, pediatrik hastalarda 1-2 g/kg vücut ağırlığı) ve/veya ozmotik katartik düşünülür (65).

## 2.8. Sisplatin Toksisitesi

### 2.8.1. Sisplatinin Fizikokimyasal Özellikleri

Sisplatin, (CAS no. 15663-27-1, MF-Cl<sub>2</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>Pt; NCF-119875) aynı zamanda cis-diaminodikloroplatinum olarak adlandırılan (PtII(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), CDDP) kare düzlemsel platin (II) kompleksi ve cis konfigürasyon oryantasyonunda 2 ligand klorür içeren metalik koordinasyon bileşiğidir. İnorganik yapıda, oda sıcaklığında beyaz veya koyu sarı-turuncu kristal toz şeklinde, suda çözünür bir moleküldür ve yalnızca cis izomeri sitotoksik özelliktedir. Cisplatin normal sıcaklık ve basınç altında stabildir ancak zamanla yavaş yavaş trans-izomere dönüşebilir (Şekil 2.2.) (66, 67, 68)



**Şekil 2.2** Sisplatinin moleküler yapısı ve fizikokimyasal özellikleri (66, 67).

### 2.8.2. Genel Kullanımı

Sisplatin, 1960 yılında Michigan Üniversitesi'nde Rosenberg tarafından Escherichia coli'ye karşı antibakteriyel aktivitesinin keşfinden bu yana yaygın olarak kullanılır (69). Bu aktivitesine ek olarak sisplatinin sarkoma ve lösemi hücre dizilerindeki antitümör aktivitesi aynı grup araştırmacılar tarafından değerlendirilmiş ve en güçlü kanser ilaçlarından biri olan sisplatinin klinikte kullanımını sağlayacak olan çalışmalar sonucunda klinik kullanımını başlamıştır (70, 71).

1978'de Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanan sisplatin DNA çift zincirinde çapraz bağlanma yapan antikanser bir ilaçtır (71). Çeşitli kanser türlerinin tedavisinde geniş etkinliği nedeniyle en çok kullanılan sitotoksik antikanser ilaçlarından biridir. Mesane, yumurtalık, baş ve boyun, akciğer, testis, servikal,

yemek borusu, meme ve beyin kanserlerinin tedavisinde tek başına veya diğer antikanser ilaçlarla kombine olarak intravenöz infüzyon şeklinde kullanılmaktadır (72, 73).

Sisplatin, katı tümörlerin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. En belirgin ve etkili klinik uygulamalarından biri akciğer kanseri tedavisi üzerinedir. Araştırmalar, küçük hücreli akciğer kanserlerinin tedavisi için platin bazlı tedavinin etkili olduğunu göstermiştir. Karboplatinin yanı sıra sisplatin, küçük hücreli akciğer kanserleri tedavisi için iki ana kemoterapötik ilaçtan biridir. Sisplatin, karboplatine kıyasla daha güçlü antitümör aktivite göstermesi nedeniyle klinik çalışmalarda sıklıkla tercih edilmektedir. Bununla birlikte böbrek toksisitesi riski nedeniyle, idrar hacimlerinin izlenmesi gerekmektedir (72-74).

Sisplatin, yumurtalık kanseri tedavisinde de klinik olarak uygulanmaktadır. Çalışmalardan elde edilen kanıtlar, sisplatin kemoterapisinin hastalığın erken evrelerinde etkili olduğunu göstermektedir. Şiddetli yan etkilerin yanı sıra direnç geliştirme riskine rağmen sisplatinden türetilen ilaçlar yumurtalık kanserinin ana tedavisi olarak sıklıkla diğer ilaçlar ve kimyasal ajanlarla kombinasyon halinde uygulanmaktadır (72-74).

Sisplatinin üçüncü klinik uygulaması karsinom tedavisindedir. Baş ve boyun skuamöz hücreli karsinomu olarak da adlandırılan baş ve boyun kanseri, yaygın bir malign hastalıktır. Radyasyon, cerrahi ve kemoterapi gibi tedavi seçeneklerinin bulunmasına rağmen, genellikle yüksek ölüm oranları ile ilişkilidir. Bu nedenle, hastalığın tedavisinde sadece sisplatin kullanımı etkili değildir. Özellikle metastatik ürotelyal karsinomlu hastalarda sıklıkla doksorubisin, metotreksat, gemitabin ve/veya vinblastin gibi diğer ajanlarla kombine edilir. Bununla birlikte, sisplatinin karsinom tedavisinde kullanımı birçok hastanede kemoterapi ajanı olarak öncelikli tercih edilir (72-74).

Sisplatin, yumurtalık kanseri dışında tüm dünyada kadınlar arasında önde gelen bir diğer ölüm nedeni olan meme kanseri tedavisinde de kemoterapi ilacı olarak kullanılmaktadır. Diğer kanserlerin tedavisinde cerrahi prosedürler uygulanırken, meme kanseri için kemoterapi, malign meme kanserinin tedavisinde tek seçenektir. Sisplatin içeren ajanlarla kemoterapinin meme kanserinin çeşitli malignitelerinin tedavisinde

sıklıkla uygulanma nedeni birçok kemoterapötik ajanın, hızlı bölünen hücreleri hedef alması ve bu nedenle sitotoksosite özelliklerinden dolayı dokulara zarar vermesidir. Bununla birlikte, sispaltin kombinasyonu ile sitotoksosite azalır. DNA eklentileri aracılığı ile replikasyon inhibisyonu ve apoptoz indüksiyonuna neden olan sispaltin beyin kanseri tedavisinde de uygulanmaktadır (74).

Çalışmalar, sispaltinin antikanser aktivitesini tümör hücresinde birden fazla hedefe bağlanarak yaptığını göstermektedir. Genellikle genomik DNA (gDNA) veya mitokondriyal DNA (mtDNA) ile bağlanır, DNA lezyonları oluşturur. DNA, mRNA ve proteinlerin üretimini bloke eder, DNA replikasyonunu durdurur. Sonunda nekroz veya apoptoza yol açan çeşitli transdüksiyon yollarını aktive eder (75).

### **2.8.3. Sispaltinin Farmakokinetik Özellikleri**

Sispaltinin vücut içine uygulaması paranteral yoldan yapılmaktadır. Bunun nedeni sispaltinin gastrointestinal kanaldan emiliminin olmamasıdır. İntravenöz, intra arteriyel ve intra peritoniyel olarak uygulanabilmektedir. Bu üç uygulamayla da sispaltin dokulara hızla difüze olur ve plazma proteinlerine yüksek oranda (yaklaşık %90) bağlanır (76, 77).

Sispaltin intravenöz kullanımdan sonra neredeyse tamamen emilir. Sispaltinin 1 ila 5 dakikada bolus intravenöz enjeksiyonu veya 15 dakika veya bir saat boyunca yapılan bolus intravenöz infüzyonu sonucu hemen doruk plazma konsantrasyonlarına ulaşmaktadır. Sispaltin, 6 ve 24 saat boyunca intravenöz infüzyon yoluyla uygulandığında, infüzyon sırasında toplam platin plazma konsantrasyonları kademeli olarak artmakta ve infüzyonun bitiminden hemen sonra doruk konsantrasyonlara ulaşmaktadır.

Mannitolün sispaltin ile aynı zamanda verildiğinde, proteine bağlı olmayan platinin doruk plazma konsantrasyonlarını arttırdığı gösterilmiştir (78, 79).

İlacın antitümör aktivitesinden ve toksisitesinden proteine bağlı olmayan ilaç ve metabolitlerden oluşan platin bileşikleri sorumlu tutulmaktadır (79).

Sisplatin başlangıçta tüm dokulara dağılır; ancak ilk saatte böbrek, karaciğer, kas ve deride birikme eğilimi gösterir. Böbrek ve karaciğerdeki lokalizasyon ise uzun sürelidir. En yüksek doku platin konsantrasyonları, yumurtalık ve rahim gibi ilacın en güçlü antineoplastik aktivitesini gösterdiği dokularda meydana gelmektedir (76).

İlacın merkezi sinir sistemine penetrasyonunun yavaş ve düşük oranda olduğu gösterilmiştir. Ancak intraserebral tümör dokusunda ve tümöre bitişik ödemli beyin dokusunda önemli miktarlarda sisplatin tespit edilmiştir. Sağlıklı beyin doku seviyelerinde ise bu miktar düşüktür (78).

Sisplatinin metabolizması tam olarak aydınlatılamamıştır. İlacın enzimatik olmayan yollarla biyotransformasyona uğradığı ve sisplatin ve metabolitlerinin enterohepatik dolaşıma girdiği düşünülmektedir (80).

Sisplatin ve metabolitleri esas olarak renal yoldan idrarla atılır. Sisplatin dozunun %90'dan fazlası, renal klirens ile (ilk 24 saat içinde %25'i) vücuttan atılır. Atılım ağırlıklı olarak glomerüler filtrasyon yoluyla meydana gelir, ancak sisplatin ve metabolitlerinin tübüler salgılama ve reabsorpsiyon yoluyla da atıldığına dair bazı kanıtlar bulunmaktadır. Başlangıçta toplam platinin renal klirensi, kreatinin klirensine eşittir. Proteinlere bağlanma meydana geldikçe klirens hızla azalır ve uzun bir boşaltım fazı ile sonuçlanır. Toplam plazma platin konsantrasyonunun düşüş hızı, bağlı platin taşıyan plazma proteinlerinin bozunma hızı ile bağlantılıdır (77, 78)..

Safra ve tükürük yoluyla da az miktarda sisplatin atılmaktadır (80).

Proteine bağlı olmayan platin için biyolojik yarı ömrü başlangıç fazında 2,7 ila 30 dakika ve son fazda 32 ila 53,5 dakikadır. Protein ve dokulara bağlanmanın çok fazla olması eliminasyon süresinin uzamasına neden olur. Bağlı olan platin minimum beş gün veya daha fazla yarı ömürle yavaşça elimine edilir. İlk 5 gün içinde dozun %27-43'ü kadar olmaktadır (79).

#### 2.8.4. Sisplatinin Farmakodinamik Özellikleri

Sisplatinin neden olduğu DNA hasarı, alkilleyici ajanların neden olduğu hasara benzer. Sisplatin, iki klorür ayrılan grubun su veya hidroksil ligandları ile değişimini içeren bir dizi reaksiyon ile aktive edilir. Sisplatin kompleksi, hücre içine göre daha yüksek olan plazmadaki yüksek klorür konsantrasyonu sayesinde hücre zarlarından birlikte hareket eder. Ve sisplatin kompleksindeki klorür ligandlarının yerini su alır. Bunun sonucunda, hücreler için DNA hasarına yol açan toksik pozitif yüklü platin kompleksleri oluşur.

Sisplatinin kanserli hücrelerde yaptığı birincil etki, DNA sentezinin inhibisyonudur. DNA sentez inhibisyonu, RNA ve protein sentezini inhibe etmek için gerekenden çok daha düşük dozlarda ortaya çıkar.

İlaç, DNA molekülünde sitotoksosite ile orantılı şekilde iplikçik içi ve iplikler arası çapraz bağlar oluşturur. Tümör hücrelerinde, sonunda hücrenin ölümüne yol açan aşırı mutasyon yükü biriktirir ve apaptozu indükler.

Sisplatin ayrıca immünosupresif, radyosensitize edici ve antimikrobiyal özelliklere sahiptir (79).

#### 2.8.5. Sisplatinin Toksisitesi

Sisplatin DNA ile etkileşir ve pürin DNA bazları ve bu platin bileşiği ile kovalent eklenti oluşturur, etkileşim sisplatinin sitotoksik etkisinin temel nedenidir (67).

##### Sisplatinin Akut Toksisitesi

Sisplatin ile ilgili olarak yapılan akut toksisite çalışmaları Tablo 2.5'de gösterilmiştir. Sıçanlar ve farelerde oral LD50 değerleri sırasıyla 25,8 mg/kg, 32,7 mg/kg'dır. Sıçanlarda para-periosteal LD50 değeri 8,0 mg/kg, farelerde intravenöz LD50 değeri ise 11 mg/kg'dır. LD50 değeri ilacın verilmiş yoluna ve verilen türe göre değişmektedir (81).



**Tablo 2.5** Sisplatinin Akut Toksikite Çalışmaları

Organizma	Test Tipi	Veriliş Yolu	Doz (mg/kg)
<i>Sıçan</i>	LD50	Oral	25.8
<i>Sıçan</i>	LD50	Paraperiosteal	8.0
<i>Fare</i>	LD50	Oral	32.7
<i>Fare</i>	LD50	İntravenöz	11

### Sisplatinin Tekrarlı Doz Toksikitesi

Tekrarlı doz çalışmalarında esas sonuç gözlenebilen hiçbir olumsuz etki göstermeyen en yüksek doz (NOAEL) ve gözlemlenen en düşük olumsuz etki dozun (LOAEL) belirlenmesidir.

Köpeklerde, sisplatinin 5 gün süreyle intravenöz yoldan yapılan toksisite çalışmasında sisplatinin LOAEL değeri 0,75 mg/kg/gün olarak tespit edilmiştir. İntravenöz yoldan 5 gün süreyle primatlarda yapılan çalışmada ise LOAEL değerleri 2,5 mg/kg/gün ve 1,25 mg/kg/gün olarak tespit edilmiştir. 5 hafta süreyle intravenöz yoldan primatlarda yapılan çalışmada LOAEL değeri 0,625 mg/kg/gün olarak ve 11 hafta süre ile intraperitoneal yoldan primatlarda yapılan çalışmada ise 1 mg/kg/gün LOAEL değeri tespit edilmiştir ve hepsinde hedef organ böbreklerdir (81).

**Tablo 2.6** Sisplatin Tekrarlı Doz Toksikite Çalışmaları

<i>Süre</i>	<i>Organizma</i>	<i>Veriliş Yolu</i>	<i>Doz(mg/kg/gün)</i>	<i>Sonuç</i>	<i>Hedef Organ</i>
<i>5 gün</i>	Köpek	İntravenöz	0,75	LOAEL	Böbrekler
<i>5 gün</i>	Primat	İntravenöz	2,5	LOAEL	Böbrekler
<i>5 gün</i>	Primat	İntravenöz	1,25	LOAEL	Böbrekler
<i>5 hafta</i>	Primat	İntravenöz	0,625	LOAEL	Böbrekler
<i>11 hafta</i>	Primat	İntraperitoneal	1	LOAEL	Böbrekler

### 2.8.6. Sisplatinin Sistemler Üzerine Toksik Etkileri

Sisplatin tedavisi bulantı, nefrotoksisite, kardiyotoksisite, hepatotoksisite ve nörotoksisite gibi çeşitli toksik yan etkilerle ilişkilendirilmiştir. Çeşitli çalışmalarda aritmiler, konjestif kalp yetmezliği, elektro kardiyografik değişiklikler ve miyokardit gibi birçok toksik olay bildirilmiştir (74).

Nefrotoksisitenin başlangıçta doz sınırlayıcı toksisite olduğu düşünülse de yeterli hidrasyon sağlandığında genel olarak klinik bir problem değildir. Anoreksiya ve periferik nöropati, kronik tedavi ile başlıca doz sınırlayıcı toksisitelere aittir. Toksikite akut (aşırı duyarlılık, gastrointestinal), subakut (nefrotoksisite, üreme, hematolojik) ve kronik (nefrotoksisite, Raynaud fenomeni) olarak sınıflandırılabilir (82).

#### - **Hepatotoksisite**

Yüksek dozda sisplatin hepatotoksisiteye neden olabilmektedir. Oksidatif stres sonucu indirgenmiş glutatyon seviyesinin tükenmesi, sisplatin kaynaklı toksisitenin ana nedenidir. Ayrıca birçok çalışma, sisplatin ile tedavi edilen sıçanlarda hepatik malonaldehitte önemli bir yükselme ve antioksidan enzim seviyesinde azalma olduğunu bildirmiştir. Hücresel hasara ve toksisiteye neden olmakla doğrudan ilgili olan en hassas biyobelirteçler, transaminazlardır. Hücresel hasardan sonra dolaşıma salınır. Serumda hepatik enzim seviyesinin yükselmesi ve bilirubin bozulmuş karaciğer fonksiyonlarının göstergeleridir. Sitokrom P450-2E1enzim ekspresyonunun artmasıyla gözlenen histopatolojik değişiklikler, inflamatuvar hücrelerle birlikte hepatositlerin nekrozu ve dejenerasyonudur. Sisplatin ile tedavinin hepatotoksisiteyi şiddetlendirdiği gösterilmiştir. Son çalışmalar selenyum ve vitamin E gibi çeşitli ajanlar kullanılarak sisplatin kaynaklı hepatotoksisitenin önlenmesine yönelik yöntemlere odaklanmıştır (67).

#### - **Nefrotoksisite**

Böbrek, sisplatinin diğer organlardan daha fazla biriktirir ve atılımının ana yoludur. Proksimal tübüler epitel hücrelerindeki sisplatin konsantrasyonu, serum konsantrasyonunun yaklaşık 5 katıdır. Sisplatinin böbrek dokusunda orantısız birikimi,

sisplatin kaynaklı nefrotoksisiteye neden olmaktadır. Amino asit lizin ve metioninin biyosentezi, metabolik enerji üretmek için lipidlerin parçalanması sırasında yağ asitlerinin sitozolden mitokondriye taşınması için gerekli olan karnitin adı verilen kuaterner bir amonyum bileşiği oluşturmaktadır. Böbrek hasarına karnitin sentezinin inhibisyonu ve ayrıca karnitin üretiminin azalması nedeniyle nefronun proksimal tübülü tarafından karnitinin yeniden emilmesi neden olur. Sisplatin böbrek tarafından hem glomerüler filtrasyon hem de tübüler sekresyon yoluyla atılır (67).

Tekrarlanan sisplatin dozundan sonra hipomagnezemi, hipokalemi, hiponatremi ve hipokalsemi gibi elektrolit anormallikleri bildirilmiştir (83).

Antidiüretik hormonun uygunsuz salgılanması sendromu, literatürde sisplatin ve diğer sitotoksik ilaçların uygulanması sonucunda bildirilmiştir. Bu sendrom, serumun hipo-osmolalitesiyle birlikte hiponatremi ile karakterizedir (76).

#### - **Hipersensisitve reaksiyonları**

Deri döküntüsünden anafilaksiye (yüz kızarması, anjiyonötik ödem, hırıltı, hipotansiyon) kadar değişen belirti ve semptomlarla seyreden aşırı duyarlılık reaksiyonları nadir görülen bir durumdur. Ulusal Kanser Enstitüsü 267 ardışık kürde sadece dört ciddi anafilaktik reaksiyon vakası bildirmiştir (1976'dan 1979'a kadar 107 hasta). Bu ve bildirilen diğer aşırı duyarlılık reaksiyonları, daha önce sisplatin alan ve genellikle antihistaminikler, kortikosteroidler veya epinefrin ile akut olarak kontrol edilen hastalarda meydana gelmiştir. Kortikosteroidler ve antihistaminikler ile premedikasyondan sonra, daha önce sisplatin kaynaklı aşırı duyarlılık gösteren birkaç hastada yeniden tedavi başarılı olmuştur (82).

#### - **Gastrointestinal toksisite ve miyelosüpresyon**

Gastrointestinal toksisite ve miyelosüpresyon, gastrointestinal sistemle birlikte kemik iliğinde hızla bölünen hücrelerin ölümü ile ilişkilendirilmektedir. Sisplatin ayrıca kemoreseptör tetikleme bölgesini aktive eder ve kusmayı indükler (76). Sisplatin, tedavi programından bağımsız olarak hemen hemen tüm hastalarda bulantı ve kusmaya neden

olmaktadır. Kusmaya hem merkezi (kemoreseptör tetikleme bölgesi) hem de periferik mekanizmalar neden olmaktadır (67).

#### - Üreme toksisitesi

Kemoterapinin üreme sistemi üzerine etkisi hakkında çalışmalar kısıtlıdır. Yaygın testis kanserli hastalarda sisplatin kombinasyon kemoterapisinin gonadal fonksiyon üzerindeki etkileri yakın zamanda incelenmiş ve tüm hastalar doksorubisinli veya doksorubisinsiz sisplatin, vinblastin ve bleomisin ile tedavi edilmiştir. İncelenen 30 hastadan 5'i tedaviden önce azospermiktir ancak kemoterapinin başlamasından sonraki 2 ay içinde 1 hasta hariç hepsinde azospermi gelişmiştir. Sperm sayımlarının düzelmesi 1.5 ila 2 yıl arasında olmuştur. Sisplatin kombinasyon kemoterapisi neredeyse çoğu hastada, ancak potansiyel olarak geri dönüşümlü azospermi üretmektedir (84).

Genel olarak infertilite ve üreme sorunları kanser hastalarında kemoterapi ve radyoterapi sonrası ortaya çıkan komplikasyonlar arasındadır. En etkili antikanser ajanlarından biri olan sisplatin, testis kanseri gibi katı neoplazmaların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kısırlık, sisplatinin neden olduğu testis hasarı ile ilişkili en yaygın sonuçtur. Sisplatinin testisler üzerindeki olumsuz etkilerinin atrofik seminifer tübüller, spermatogonium ile bazal lamina arasındaki bağlantıların kaybı, germinal epitelde apoptoz ve nekroz, inflamasyon, peritübüler bölgede hasar gibi çeşitli anomaliler ile karakterize olduğu bildirilmiştir. Sisplatin, germ hücrelerinde nükleik asit sentezini olumsuz etkiler ve sonuç olarak tüm spermatogenez sürecini bozar. Ayrıca, Leydig hücrelerinin sisplatin tarafından zarar görmesi nedeniyle testosteron üretimi bozulur. DNA eklentileri yaratır ve replikasyon ve transkripsiyon gibi hayati süreçleri bozar ve nihayetinde apoptoza yol açar. Sisplatinin üreme toksisitesi, testis hücrelerine, özellikle de spermilere zarar veren reaktif oksijen türlerinin üretiminden kaynaklanmaktadır. Toksikite, testislerin antioksidan kapasitesinin azalması ve lipid peroksidasyonundaki artış ile kendini gösterir. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu sisplatin dozuna ve tedavi süresine bağlıdır (82).

Sisplatin, plasentayı geçip fetal hasara neden olabilmektedir. Sisplatinin farelerde teratojenik, fareler ve ratlarda embriyotoksik olduğu gösterilmiştir. Platin bileşikleri hayatı tehdit eden durumlar dışında gebelik döneminde kullanılmamalıdır Gebelik kategorisi D olarak sınıflandırılmıştır (85)..

#### - **Hamilelik ve laktasyonda kullanımı**

Çoğu kaynak, antineoplastik tedavi alan annelerin, özellikle sisplatin gibi alkilleyici ajanlarla emzirmemesi gerektiğini düşünmektedir. Platin süte atılır, ancak vaka raporlarından elde edilen sonuçlar tutarsızdır. Sütteki platin, tekrarlanan kemoterapi kürleri ile artabilir. Anne sütüne geçen platinin kesin formları ve toksisitesi de bilinmemektedir. Emzirilen bebek, platin bileşiklerini intravenöz yerine ağızdan alacaktır ve platin bileşiklerinin bebekler tarafından oral absorpsiyonu bilinmemektedir. Sisplatin kemoterapisinden sonra emzirmenin güvenli olmadığı ve emzirmenin muhtemelen kesilmesi gerektiği görülmektedir (86).

Kemoterapi, anne sütünün normal mikrobiyomunu ve kimyasal yapısını olumsuz etkileyebilir. Hamilelik sırasında kemoterapi alan kadınların bebeklerini emzirmede zorluk yaşamaları daha olasıdır (86).

#### - **Ototoksisite**

Ototoksisite, insan hastalarda köpeklere göre daha yaygın olarak rapor edilmiştir. 120 mg'a kadar doz alan insan hastaların %7-90'ında ototoksisite gözlemlenmiştir. İşitme kaybı yüksek frekans aralığındadır ve doza bağlı, kümülatif ve sıklıkla geri döndürülemezdir. Eş zamanlı kraniyal ışınlama ototoksisiteyi artırır. Yüksek doz sisplatin ile yapılan bir çalışmada, önemli ölçüde daha düşük işitme seviyelerine rağmen, hiçbir hasta, işitme cihazı gerektiren, engelleyici bir işitme kaybına uğramamıştır. Hipertonik salin kullanımı ve kuvvetli hidrasyon ototoksisiteyi azaltmamıştır. İnsanlar bu toksisiteyi tiz bir kulak çınlaması (kulak çınlaması) duyma ve sesleri farklı şekilde duyma şeklinde gösterirken, küçük hayvanlar bunu hiperaktivite veya aşırı havlama gibi işitsel bir uyarana uygun olmayan bir tepki veya alışılmadık derecede güçlü bir tepki olarak ifade edebilmektedir. Bu toksisitenin mekanizması belirsizdir ancak spontan olarak komşu

nöronların alınmasını, anormal koklear sıvı akımlarını veya membran hareketinin yetersiz modülasyondan kaynaklanabilmektedir. (75)

#### - **Nörotoksisite**

Nörotoksisite, periferik bir nöropati olarak tanımlanır ve genellikle kümülatif 400 mg veya daha yüksek doz alan hastalarda gelişir. Koruyucu önlemlerle birlikte yüksek doz sisplatin kullanan çalışmalarda, bazı hastalarda hafif ila orta şiddette pareteziler meydana gelmiştir (75).

#### - **Kardiyotoksisite**

Sisplatin kaynaklı kardiyotoksik etkilerin, ventriküler aritmiler, supraventriküler taşikardi, atriyal fibrilasyon, ara sıra sinüs bradikardisi ve ara sıra tam atriyoventriküler blok içeren elektrokardiyografi ve aritmilerdeki değişiklikler yoluyla ortaya çıktığı bildirilmiştir (83).

Sisplatin infüzyonunun 30 dakika ila 2 saat sonrasında asemptomatik sinüs bradikardisi görülebilmektedir (85).

### **2.9. Serviks Kanseri Hücresinin Özellikleri**

Serviks kanser hücre hattı (HeLa) 31 yaşında serviks kanserinden ölen Afrika kökenli Amerikalı Henrietta Lacks'ten alınan rahim ağzı kanseri hücrelerinden elde edilmiştir. Hücre hatlarına hücrelerin alındığı hastanın isminin baş harfleri verilerek ve HeLa hücresi olarak adlandırılmıştır. Ölümsüz bir hücre dizisi olan bu hücre hattı oldukça dayanıklı ve hızlı-devamlı çoğalma özelliğinde olması onun bilimsel çalışmalarda kullanılmasına imkân vermiştir. Bu hücre hattı daha çok kanser araştırmalarında sıklıkla tercih edilmektedir. HeLa hücreleri adheran (tutunma) özelliğine sahiptir. Epitel karakterli morfoloji gösterir ve oldukça hızlı çoğalabilen (yaklaşık 24 saatte yeni bir jenerasyon üretebilen) hücrelerdir. HeLa hücrelerinde P53 miktarı düşük olmasına rağmen

retinoblastoma baskılayıcı gen ifadeleri normaldir. Hücre genlerinin human papilloma virus 18 dizileri içerdiği bildirilmektedir (87-89).

## 2.10. MTT Yöntemi

3-(4,5-dimetiltriazol-2-il)-2,5- difeniltetrazolium bromid (MTT) yöntemi hücre canlılığını ve çoğalmasını, maddelerin sitotoksitesini belirlemede yaygın kullanılan kolorimetrik *in vitro* bir test yöntemidir. Mosmann ve diğ. (90) tarafından geliştirilen bu yöntem, makrofaj-aracılı sitotoksiteyi nicel olarak ölçmede başarılı bir şekilde kullanılmıştır. MTT yöntemi, kolay olarak uygulanabilir bir yöntemdir. MTT ve diğer tetrazolyum tuzları, solunum zinciri ve diğer elektron taşıma sistemleri tarafından hücre içinde suda çözünmeyen menekşe renkli formazan kristallerine indirgenir. Bir tetrazolyum tuzu olan sarı renkli MTT, krebs döngüsü enzimlerinden biri olan ve mitokondrilerin matriksinde bulunan süksinat dehidrogenaz enzimine özgül olarak bağlanır. Canlı hücrelerde süksinat dehidrogenaz gibi mitokondriyal enzimler, metabolik aktiviteleri ile tetrazolyum halkasını açarak suda çözünmeyen mor formazan MTT kristallerini oluşturur. Organik çözücülerde kolayca çözünen formazan kristalleri, konsantrasyona bağımlı olarak spektrofotometrik yöntemle görünür dalga boylarında (500-600 nm) ölçülen bir absorbans verir. Bu ölçülen absorbans değerleri dolaylı olarak hücrelerin canlılığını yansıtır. Ölçülen değer yaşayan hücre sayısı ile ilişkilendirilir. Tetrazolyum tuzları, sadece metabolik olarak aktif hücreler tarafından indirgenebilir. MTT yönteminde, hücre içi mitokondrinin metabolik aktivitesi değerlendirilebilirken, hücreler arası aktivitelerin değerlendirilmesine olanak vermez (90, 91, 92).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Diklofenak Sodyum	Novartis
Dimetil Sülfoksit (DMSO)	Sigma-Aldrich
Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM)	Sigma-Aldrich
Etil Alkol	Sigma-Aldrich
Fötal Sığır Serum (Fetal Bovine Serum, FBS)	Sigma-Aldrich
HeLa (İnsan Serviks Kanser Hücre Hattı)	Americal Type Culture Collection
MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür)	Sigma-Aldrich
Penisilin-Streptomisin	Sigma-Aldrich
Sisplatin	Koçak Farma®
Tripan Mavisi	Sigma-Aldrich
Tripsin-EDTA	Sigma-Aldrich

#### 3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Buzdolabı	Hotpoint
Cam pastör pipeti	Interlab
Derin Dondurucu (-20°C)	Ariston



Derin Dondurucu (-80°C)	Revco
Etüv	Dedeoğlu
Floresan Mikroskop	Leica
Hücre kültürü uyumlu flask (25/75 cm <sup>2</sup> ), 6-/96-kuyucuklu plaka, pipet (1- 25 ml), santrifüj tüpü (15, 50 mL)	Corning
Isıtıcı	Multi-Blok, Lab-Line
İnkübatör (CO <sub>2</sub> 'li)	Heraeus Instruments
Karıştırıcı-Isıtıcı	Jankel&Kunkel, Ikamag
Laminar akımlı kabin	Heraeus
Mikrofiltre	Millipore® Merck
Mikropipet, 8 kanallı (5-300 µl)	Eppendorf
Mikropipetler (0.5-1 µl, 1-5 µl, 5-10 µl, 10-200 µl, 200-1000 µl, 1-5 ml)	Finnpipette, Gilson, Discovery Confort
Mikrosantrifüj	Hettich Micro 12-24
Mikrosantrifüj tüpü (1.5ml)	Eppendorf
Neubauer Camı (Hücre sayım camı)	Marienfeld
Otoklav	Rodwell Monarch MP 24
Pipet ucu, 0.5-10, 10-200, 100-1000µl'lik	Eppendorf
Santrifüj	Heraeus, Hettich
Spektrofotometre	SpektraMax M2
Su Banyosu	Termal® Laboratory Tools

Terazi	Schimadzu Libror
Vakum Pompası	Welch Vacuum
Yatay çalkalayıcı	Edmund Bühler

### 3.3. Kullanılan Çözeltiler

#### Besi ortamı

HeLa hücrelerinin çoğalmasında kullanılacak besiyeri (vasat) için; 500 ml Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (2mM L-Glutamin, 1g/L glikoz ve sodyum piruvat içeren) vasatı üzerine 50 ml FBS (~%10) ve 5 ml penisilin/streptomisin (~%1) eklenir. Hazırlanan besiyeri +4°C'de saklanır.

#### MTT stok çözeltisi (5 mg/ml)

5 mg MTT 1 ml PBS içerisinde çözülür. Elde edilen MTT stok çözeltisi Millipore (0,2 µm) filtresi kullanılarak sterilize edilir ve ışıktan uzak tutulur. 4° C sıcaklıkta en fazla 4 gün saklanabilir. Uzun süre saklanacaksa -20°C'de saklanılabilir.

#### Diklofenak sodyum (78,6 mM)

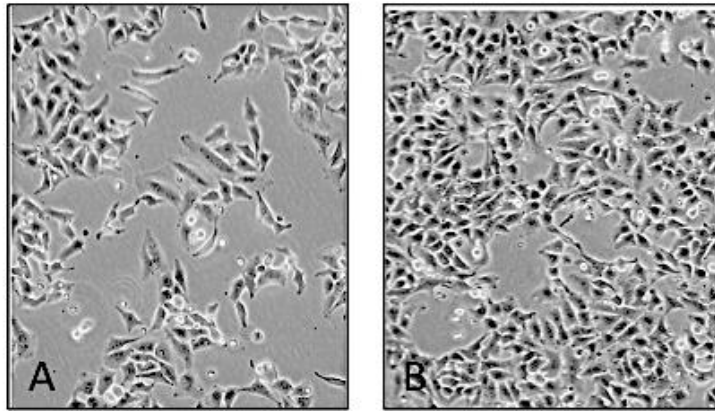
Diklofenak sodyumun steril enjeksiyonluk çözeltisinden (78,6 mM) uygun dilüsyonlar yapılarak standartları PBS ile taze olarak hazırlanır.

#### Sisplatin çözeltisi (1mM)

10 mg sisplatin (300,01 g/mol) 20 ml enjektabl preparat içinde (Koçak Farma®) çözülmüş halde ve steril olarak bulunmaktadır. Bu çözelti 1,665 mM sisplatin içerir. Uygun dilüsyonlar yapılarak standartları PBS ile taze olarak hazırlanır.

### 3.4. MTT Yöntemi ile Hücre Canlılığının Belirlenmesi

1. Tüm işlemler steril şartlarda ve hava-akışlı steril kabin (BSL-2 düzeyinde) içerisinde gerçekleştirildi. Çalışmada kullanılacak gereçler %70'lik etanol ile sterilize edildi. Kullanılacak tüm malzemeler steril olarak kullanıldı.
2. HeLa hücreleri (-80°C'de, %10 DMSO içeren besiyerinde saklanır) 37°C'lik su banyosunda 30 saniye bekletilerek oda sıcaklığına getirildi.
3. Steril bir tüp içerisinde 1 ml hücre ve 9 ml besiyeri ile karıştırıldıktan sonra 1200 rpm'de 5 dakika santrifüjleme yapılarak süpernatant kısmı atıldı, ortamındaki DMSO uzaklaştırıldı.
4. Kalan hücre pelleti, 5 ml besiyeri ile karıştırılarak 25 cm<sup>2</sup>'lik yatay kültür kapları içerisine aktarıldı.
5. Kültür ortamındaki hücrelerin inkübatör içerisinde (37°C ± 1°C, %90 ± %5 nem, %5,0 ± %1 CO<sub>2</sub>/hava) büyümeleri sağlandı.
6. 24 saat sonra eski besi yeri atılarak ölü hücreler uzaklaştırıldı. Daha sonra ortama taze besiyeri ilave edildi. Kültür ortamındaki hücrelerin inkübatör içerisinde büyümeleri sağlandı.
7. 2-3 günlük süre içerisinde hücreler ve besiyeri mikroskopta kontaminasyon durumu ve doyumluğu açısından kontrol edildi (Şekil 3.1).



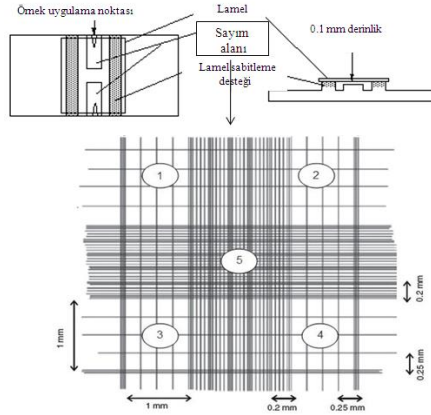
**Şekil 3.1.** HeLa hücrelerinin ışık mikroskop altında görünümü. A, seyrek görüntüsü; B, doyumluğa ulaşmış görüntüsü. Büyütme oranı 100.

8. Büyümeye bırakılan hücreler, zemine tutunarak tüm kültür ortamını kapladıkları büyüklüğe ulaştıklarında ortamdaki besiyeri uzaklaştırıldı.
9. Hücreler 2 kez 5 ml 37°C'lik PBS ile yıkandı.
10. Hücrelerin üzerine 2 ml Tripsin-EDTA çözeltisi eklenerek belirli dakika bekletildi. Hücrelerin yapıştıkları yerden kalkıp kalkmadığı mikroskop altında kontrol edildi ve bu amaçla kültür kabının tabanına hafif hafif vuruldu. HeLa hücreleri 5. dakikada yapıştıkları yerden kalktı.
11. Hücreler yapıştıkları yerden kalktıktan sonra ortama 4 ml besiyeri ilave edildi. Ortam nazıkçe süspand edildi ve hücre süspandesi steril bir tüpe aktarıldı.
12. Hücre süspansiyonu 1200 devir/dakika hızda 25°C'de 5 dakika boyunca santrifüj edildi.
13. Süpernatant kısmı uzaklaştırıldı ve hücre pelleti 10 ml 37°C'lik PBS ile yıkandı.
14. Süpernatant kısmı uzaklaştırıldı ve dipte toplanan hücre pelleti 2 ml besiyeri ile nazıkçe süspand edildi.
15. Bu aşamada elde edilen hücre süspansiyonundan 10 µl alınarak steril bir ependorf tüpe aktarıldı ve üzerine 90 µl tripan mavisi çözeltisi (%0,4) eklenerek iyice süspand edildi.
16. Neubauer hücre sayım lamı (hemasitometre) üzerine lamel yerleştirildi ve yaklaşık 10 µl hücre süspansiyonu kapiler etkiyle dolduruldu.
17. Işık mikroskobu altında, hücre sayıcı lamı oluşturan dört karenin 2 kenar çizgileri hariç, üzerlerindeki parlak ve renksiz görüntülü yaşayan hücreler sayıldı (Şekil 3.2). Yaşayan hücrelerin konsantrasyonunu hesaplamak için aşağıdaki formül kullanıldı:

$$\text{Yaşayan hücre konsantrasyonu (hücre/ml)} = A \times B \times 10^4$$

A: Yaşayan hücre sayısının ortalaması (4 karede sayım yapıldıktan sonra toplam sayı dörde bölünerek ortalama sayı elde edilir)

B: Seyreltme faktörü = 10/1 (Hücre süspansiyonu ve tripan mavisi çözeltisi karışımı)



**Şekil 3.2.** Neubauer hücre sayım lamı.

18. Yaşayan hücre konsantrasyonu (sayılan hücre sayısı x  $10^5$  hücre/ml) belirlendikten sonra hücre süspansiyonu besiyeri kullanılarak hücre kültürü çalışmalarında istenilen konsantrasyonlara seyreltildi.
19. Çoklu pipetler kullanılarak 96 kuyucuklu plakalara, her bir kuyucukta 200  $\mu$ l besiyeri içerisinde 10.000 hücre olacak şekilde ekim yapıldı.
20. Hücrelerin kuyucuklar içinde tutunarak çoğalmaları için 24 saat inkübasyona bırakıldı.
21. Steril şartlarda besiyeri uzaklaştırıldıktan sonra, hücreler 3,91-1000  $\mu$ M konsantrasyon aralığında diklofenak sodyum içeren besiyeri içerisinde 24 ve 48 saat inkübe edildi.
22. Sispatin inkübasyonu için hücreler 5  $\mu$ M, 10  $\mu$ M, 25  $\mu$ M, 50  $\mu$ M ve 100  $\mu$ M konsantrasyonda sisplatin içeren besiyeri içerisinde 24 ve 48 saat inkübe edildi.
23. Negatif kontrol olarak, hücreler %1 PBS içeren besiyeri ile inkübe edildi.
24. İnkübasyon sonunda madde çözeltileri atıldı. Her bir kuyucuğa 90  $\mu$ l besi ortamı ve hazırlanan 5 mg/ml MTT çözeltilisinden 10  $\mu$ l eklendi. Hücreler 0,5 mg/ml MTT çözeltisi ile 4 saat inkübe edildi.
25. İnkübasyon sonrasında MTT çözeltisi hücrelere dokunmadan çoklu pipet yardımıyla dikkatli bir şekilde atıldı.

26. Kuyucuklarda oluşan formazan kristallerini çözmek üzere her bir kuyucuğa 100 µl çözme çözültisi (DMSO) eklendi. Plak yatay çalkalayıcıda 1-2 dakika süreyle çalkalandı.
27. Spektrofotometrede örneklerin absorbans değerleri 570 nm dalga boyunda ölçüldü.
28. Boya ışıktta bozulduğu için, deneyin her aşaması mümkün olduğunca karanlıkta yapıldı.
29. Sonuçlar dört çalışmanın ortalaması olarak hesaplandı.
30. Her bir madde konsantrasyonu için ölçülen absorbans değerinin, kontrol değerine oranı 100 ile çarpılarak % hücre canlılığı ve hücrelerin %50'sinin öldüğü inhibitör konsantrasyonu (IC<sub>50</sub>) hesaplandı.

### **3.5. Diklofenak Sodyumun HeLa Hücre Hatlarında Sisplatin Sitotoksisine Etkilerinin MTT Yöntemi ile Belirlenmesi**

1. Madde 3.4'de anlatıldığı üzere uygun besi ortamında çoğaltılan ve sayılan hücreler, çoklu pipet yardımı ile 96 kuyucuklu plakalara, her bir kuyucukta 200 µl besiyeri içerisinde 10.000 hücre olacak şekilde ekim yapıldı ve hücrelerin kuyucuklar içinde tutunup çoğalmaları için 24 saat inkübasyona bırakıldı.
2. Madde 3.4'de anlatıldığı üzere diklofenak sodyum ve sisplatinin IC<sub>50</sub> değerleri belirlendikten sonra diklofenak sodyumun sisplatin ile kombinasyonlarının sitotoksitesisi araştırıldı.
  - Diklofenak sodyumun sisplatin sitotoksitesine etkisinin değerlendirilmesi amacı ile uygulanan konsantrasyon aralıkları;
    - HeLa hücresinde, 24 saat inkübasyon için; 25 µM sisplatin + 3,91-1000 µM diklofenak sodyum ve 48 saat için 10 µM sisplatin + 3,91-1000 µM diklofenak sodyum kombinasyonları incelendi.
3. Negatif kontrol olarak, hücreler %1 PBS içeren besiyeri ile inkübe edildi.
4. İnkübasyon sonunda hücrelerin ortamları uzaklaştırıldı.

5. İnkübasyon sonunda (24 ve 48. saatlerde) madde çözeltileri atıldı. Her bir kuyucuğa 90 µl besi ortamı ve hazırlanan 5 mg/ ml MTT çözeltisinden 10'ar µl ilave edilerek (0.5 mg/ml MTT ortamında) 4 saat inkübe edildi.
6. İnkübasyon sonrasında kristal oluşumu mikroskopik olarak gözlemlendi.
7. MTT çözeltisi dikkatli bir şekilde atıldı.
8. Kuyucuklara 200 µl PBS çözeltisi ile ilave edilerek yıkama yapıldı.
9. Kuyucuklarda oluşan formazan kristallerini çözmek üzere her bir kuyucuğa 100 µl çözme solüsyonu (DMSO) eklendi. Plak yatay çalkalayıcıda 5 dakika süreyle çalkalandı.
10. Multiplak okuyucu spektrofotometrede örneklerin absorbans değerleri 570 nm dalga boyunda ölçüldü.
11. Çalışma farklı zamanlarda dört kez tekrarlandı ve sonuçlar dört çalışmanın ortalaması olarak hesaplandı.
12. Işığa duyarlı bir yöntem olduğundan dolayı deneyin her aşaması mümkün olduğunca karanlıkta gerçekleştirildi.
13. Her bir madde konsantrasyonu için ölçülen absorbans değerinin, kontrol değerine oranı 100 ile çarpılarak % hücre canlılığı elde edildi.  
% Hücre canlılığı =  $(A_{\text{ö}}/A_{\text{k}}) \times 100$  (A<sub>ö</sub>: Örneğin absorbansı; A<sub>k</sub>: Kontrol grubunun absorbansı)

### 3.6. İstatistiksel Yöntemler

İstatistiksel değerlendirime için SPSS 10.5 for Windows programı kullanıldı. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testiyle yapıldı. Grup farklılıkları tek yönlü varyans alanizi (ANOVA), LSD test ile belirlendi.  $p < 0,05$ , istatistiksel anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

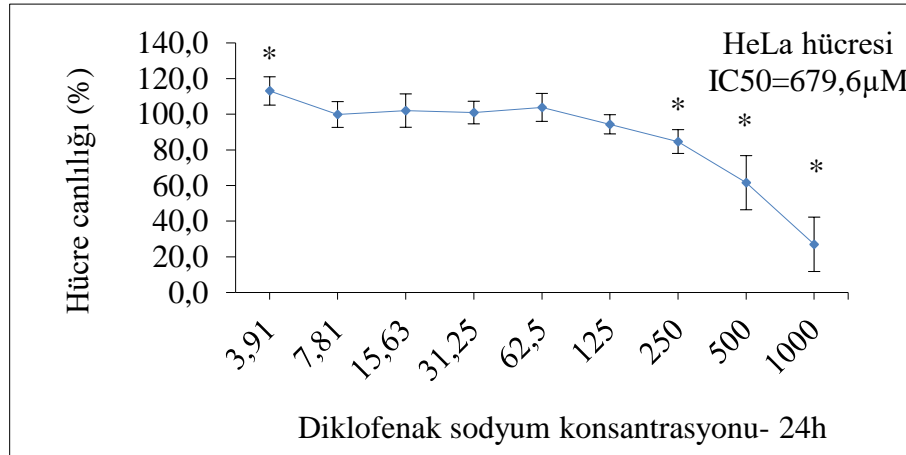
### 4.1. HeLa Hücrelerinde Diklofenak Sodyumun Sitotoksitesinin Değerlendirilmesi

Diklofenak sodyumun HeLa hücrelerinde, 3,91-1000  $\mu\text{M}$  konsantrasyon aralığında 24 saatlik inkübasyon sonrası MTT yöntemi ile ölçülen hücre canlılığı üzerine etkileri Tablo 4.1. ve Şekil 4.1.'de verilmiştir.

HeLa hücrelerinde negatif kontrolle karşılaştırıldığında diklofenak sodyumun 1-125  $\mu\text{M}$  konsantrasyon aralığında önemli bir sitotoksik etki oluşturmadığı ( $p>0.05$ ), ancak 250  $\mu\text{M}$  ve üzeri konsantrasyonlarında doz bağımlı olarak hücre canlılığını anlamlı olarak azalttığı ( $p<0,05$ ) görülmektedir.

Diklofenak sodyumun % hücre canlılığını 250  $\mu\text{M}$ , 500  $\mu\text{M}$  ve 1000  $\mu\text{M}$  dozları için sırasıya % 15,3 (1,18 katı), %38,4 (1,62 katı) ve %73 (3,70 katı) oranında azaltmıştır.

HeLa hücrelerinde diklofenak sodyumun 24 saatlik maruziyette  $\text{IC}_{50}$  (hücre canlılığını %50 düşüren değer) değeri 679,6  $\mu\text{M}$  olarak bulunmuştur (Şekil 4.1.).



**Şekil 4.1.** Diklofenak sodyumun 24 saatlik maruziyette HeLa hücre canlılığı üzerine etkisi.

Sonuçlar, ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Hücre canlılığı negatif kontrole (Diklofenak sodyum uygulanmayan grup için hücre canlılığı %100 alındı) göre değerlendirildi.  $\text{IC}_{50}$ : %50 hücre çoğalma inhibisyon yüzdesi. \* $p<0,05$ ; negatif kontrol (%1 PBS) ile karşılaştırıldı.



**Tablo 4.1** HeLa hücre canlılığı üzerine diklofenak sodyumun 24 saat maruziyette etkisi.

		<b>I.</b>	<b>II.</b>	<b>III.</b>	<b>IV.</b>	<b>Hücre canlılığı</b>
		<b>Deney</b>	<b>Deney</b>	<b>Deney</b>	<b>Deney</b>	
<b>1</b>	<b>(-) Kontrol (%1 PBS)</b>	100	100	100	100	100,0
<b>2</b>	<b>3,91 <math>\mu</math>M DS</b>	112,7	100,7	116,5	122,3	113,1 $\pm$ 7,9
<b>3</b>	<b>7,81 <math>\mu</math>M DS</b>	110,3	97,4	90,3	101,3	99,8 $\pm$ 7,2
<b>4</b>	<b>15,63 <math>\mu</math>M DS</b>	104,8	113,3	87,4	102,7	102,0 $\pm$ 9,3
<b>5</b>	<b>31,25 <math>\mu</math>M DS</b>	93,8	95,9	104,7	109,4	100,9 $\pm$ 6,4
<b>6</b>	<b>62,5 <math>\mu</math>M DS</b>	104,9	114,9	92,8	102,8	103,8 $\pm$ 7,8
<b>7</b>	<b>125 <math>\mu</math>M DS</b>	94,7	102,5	92,6	87,5	94,3 $\pm$ 5,4
<b>8</b>	<b>250 <math>\mu</math>M DS</b>	86,7	94,5	77,0	80,5	84,7 $\pm$ 6,7 *
<b>9</b>	<b>500 <math>\mu</math>M DS</b>	36,9	75,2	72,8	61,5	61,6 $\pm$ 15,2 *
<b>10</b>	<b>1000 <math>\mu</math>M DS</b>	12,3	12,6	35,3	48,0	27,0 $\pm$ 15,3 *

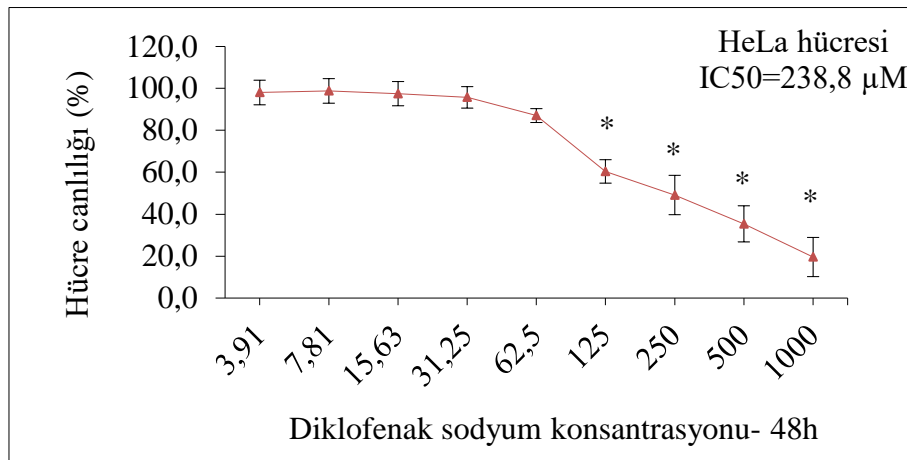
Sonuçlar, ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Hücre canlılığı negatif kontrole göre değerlendirildi (Diklofenak sodyum uygulanmayan grup için hücre canlılığı %100 alındı). Negatif kontrol olarak %1 PBS uygulandı. \* $p$ <0,05; negatif kontrol (%1 PBS) ile karşılaştırıldı.

Diklofenak sodyumun HeLa hücrelerinde, 3,91-1000  $\mu\text{M}$  konsantrasyon aralığında 48 saatlik inkübasyon sonrası hücre canlılığı üzerine etkileri Tablo 4.2. ve Şekil 4.2.'de verilmiştir.

48 saatlik inkübasyon sonrası HeLa hücrelerinde negatif kontrole karşılaştırıldığında diklofenak sodyumun 3,91-62,3  $\mu\text{M}$  konsantrasyon aralığında önemli bir sitotoksik etki oluşturmadığı ( $p>0,05$ ), ancak 125  $\mu\text{M}$  ve üzeri konsantrasyonlarında doz bağımlı olarak hücre canlılığını anlamlı olarak azalttığı ( $p<0,05$ ) görülmektedir.

Diklofenak sodyumun % hücre canlılığını 125  $\mu\text{M}$ , 250  $\mu\text{M}$ , 500  $\mu\text{M}$  ve 1000  $\mu\text{M}$  dozları için sırasıyla %39,6 (1,66 katı) %50,8 (2,03 katı), %64,6 (2,83 katı) ve %80,4 (5,11 katı) oranında azaltmıştır.

HeLa hücrelerinde diklofenak sodyumun 48 saatlik maruziyette  $\text{IC}_{50}$  (hücre canlılığını %50 düşüren değer) değeri 238,8  $\mu\text{M}$  olarak bulunmuştur (Şekil 4.2.).



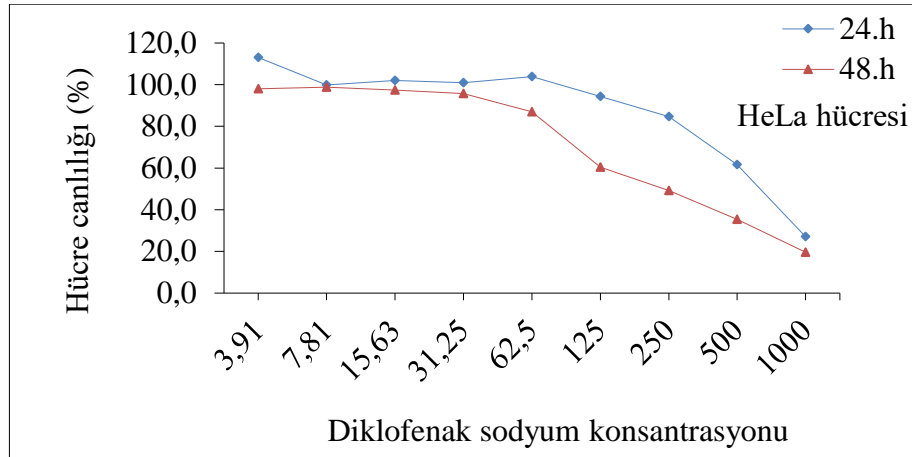
**Şekil 4.2.** Diklofenak sodyumun 48 saatlik maruziyette HeLa hücre canlılığı üzerine etkisi.

Sonuçlar, ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Hücre canlılığı negatif kontrole (Diklofenak sodyum uygulanmayan grup için hücre canlılığı %100 alındı) göre değerlendirildi.  $\text{IC}_{50}$ : %50 hücre çoğalma inhibisyon yüzdesi. \* $p<0,05$ ; negatif kontrol (%1 PBS) ile karşılaştırıldı.

**Tablo 4.2.** HeLa hücre canlılığı üzerine diklofenak sodyumun 48 saat maruziyette etkisi.

		<b>I.</b>	<b>II.</b>	<b>III.</b>	<b>IV.</b>	<b>Hücre canlılığı</b>
		<b>Deney</b>	<b>Deney</b>	<b>Deney</b>	<b>Deney</b>	
<b>1</b>	<b>(-) Kontrol (%1 PBS)</b>	100	100	100	100	100,0
<b>2</b>	<b>3,91 µM DS</b>	103,4	98,0	89,9	101,0	98,0±5,9
<b>3</b>	<b>7,81 µM DS</b>	104,6	98,5	90,9	101,3	98,8±5,8
<b>4</b>	<b>15,63 µM DS</b>	102,5	93,7	91,4	102,3	97,5±5,8
<b>5</b>	<b>31,25 µM DS</b>	99,9	94,3	89,1	99,6	95,7±5,1
<b>6</b>	<b>62,5 µM DS</b>	90,1	87,1	82,4	88,6	87,0±3,3
<b>7</b>	<b>125 µM DS</b>	60,8	61,2	53,0	66,6	60,4±5,6 *
<b>8</b>	<b>250 µM DS</b>	59,3	41,5	40,8	54,9	49,2±9,4 *
<b>9</b>	<b>500 µM DS</b>	25,0	38,8	32,6	45,2	35,4±8,6 *
<b>10</b>	<b>1000 µM DS</b>	11,5	11,5	27,7	27,7	19,6±9,3 *

Sonuçlar, ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Hücre canlılığı negatif kontrole göre değerlendirildi (Diklofenak sodyum uygulanmayan grup için hücre canlılığı %100 alındı). Negatif kontrol olarak %1 PBS uygulandı. \* $p<0,05$ ; negatif kontrol (%1 PBS) ile karşılaştırıldı.



**Şekil 4.3.** HeLa hücre canlılığı üzerine diklofenak sodyumun 24 ve 48 saat maruziyette etkisi.

#### 4.2. HeLa Hücrelerinde Sisplatin Sitotoksitesinin Değerlendirilmesi

Sisplatinin HeLa hücrelerinde, 5 µM, 10 µM, 25 µM, 50 µM ve 100 µM konsantrasyonlarda 24 saatlik inkübasyon sonrası MTT yöntemi ile ölçülen hücre canlılığı üzerine etkileri Tablo 4.3. ve Şekil 4.4.'de verilmiştir.

HeLa hücrelerinde negatif kontrolle karşılaştırıldığında sisplatinin 5 µM ve 10 µM konsantrasyonda önemli bir sitotoksik etki oluşturmadığı ( $p>0.05$ ), ancak 25 µM ve üzeri konsantrasyonlarında doz bağımlı olarak hücre canlılığını anlamlı olarak azalttığı ( $p<0,05$ ) görülmektedir.

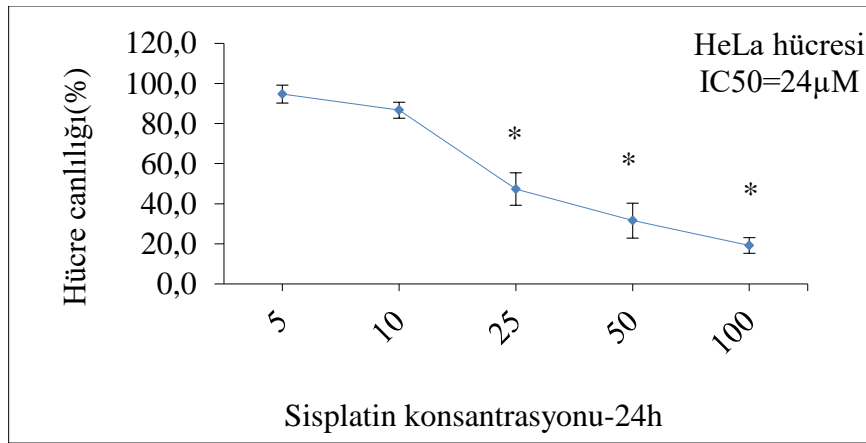
Sisplatinin % hücre canlılığını 25 µM, 50 µM ve 100 µM dozları için sırasıya %52,7 (2,11 katı), %68,4 (3,17 katı) ve %80,8 (5,21 katı) oranında azaltmıştır.

HeLa hücrelerinde sisplatinin 24 saatlik maruziyette IC<sub>50</sub> (hücre canlılığını %50 düşüren değer) değeri 24 µM olarak bulunmuştur (Şekil 4.4.).

**Tablo 4.3.** HeLa hücre canlılığı üzerine diklofenak sodyumun 24 saat maruziyette etkisi.

		<b>I.</b>	<b>II.</b>	<b>III.</b>	<b>IV.</b>	<b>Hücre canlılığı</b>
		<b>Deney</b>	<b>Deney</b>	<b>Deney</b>	<b>Deney</b>	
<b>1</b>	<b>(-) Kontrol (%1 PBS)</b>	100	100	100	100	100,0
<b>2</b>	<b>5 <math>\mu</math>M Sisplatin</b>	91,0	99,4	97,7	90,9	94,7 $\pm$ 4,5
<b>3</b>	<b>10 <math>\mu</math>M Sisplatin</b>	85,0	92,6	85,4	83,7	86,7 $\pm$ 4,0
<b>4</b>	<b>25 <math>\mu</math>M Sisplatin</b>	44,3	59,1	40,7	45,2	47,3 $\pm$ 8,1 *
<b>5</b>	<b>50 <math>\mu</math>M Sisplatin</b>	29,0	42,3	21,5	33,5	31,6 $\pm$ 8,7 *
<b>6</b>	<b>100 <math>\mu</math>M Sisplatin</b>	14,8	23,3	17,2	21,5	19,2 $\pm$ 3,9 *

Sonuçlar, ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Hücre canlılığı negatif kontrole göre değerlendirildi (Sisplatin uygulanmayan grup için hücre canlılığı %100 alındı). Negatif kontrol olarak %1 PBS uygulandı. \* $p$ <0,05; negatif kontrol (%1 PBS) ile karşılaştırıldı.

**Şekil 4.4.** Sisplatinin 24 saatlik maruziyette HeLa hücre canlılığı üzerine etkisi.

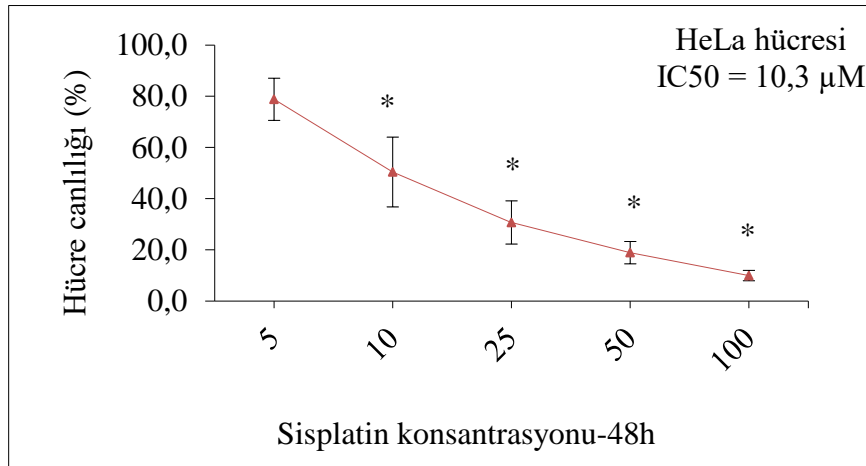
Sonuçlar, ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Hücre canlılığı negatif kontrole (Sisplatin uygulanmayan grup için hücre canlılığı %100 alındı) göre değerlendirildi. IC<sub>50</sub>: %50 hücre çoğalma inhibisyon yüzdesi. \* $p$ <0,05; negatif kontrol (%1 PBS) ile karşılaştırıldı.

Sisplatinin HeLa hücrelerinde, 5  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$ , 25  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$  ve 100  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarda 24 saatlik inkübasyonda hücre canlılığı üzerine etkileri Tablo 4.4. ve Şekil 4.5. ve Şekil 4.6’da verilmiştir.

48 saatlik inkübasyon sonrası HeLa hücrelerinde negatif kontrole karşılaştırıldığında sisplatinin 5  $\mu\text{M}$  konsantrasyonda önemli bir sitotoksik etki oluşturmadığı ( $p>0.05$ ), ancak 10  $\mu\text{M}$ , 25  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$  ve 100  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarda doz bağımlı olarak hücre canlılığını anlamlı olarak azalttığı ( $p<0,05$ ) görülmektedir.

Sisplatinin % hücre canlılığını 10  $\mu\text{M}$ , 25  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$  ve 100  $\mu\text{M}$  dozları için sırasıya %49,6 (1,98 katı) %69,3 (3,25 katı), %81,1 (5,29 katı) ve %90 (10,03 katı) oranında azaltmıştır.

HeLa hücrelerinde sisplatinin 48 saatlik maruziyette  $\text{IC}_{50}$  (hücre canlılığını %50 düşüren değer) değeri 10,3  $\mu\text{M}$  olarak bulunmuştur.



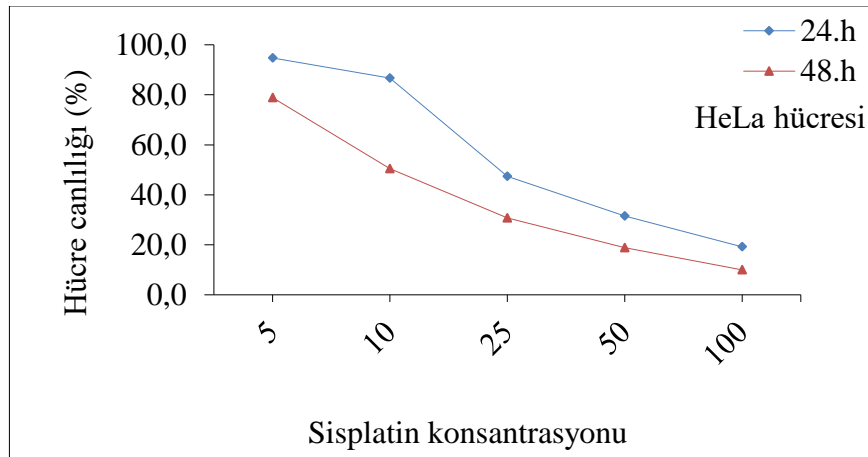
**Şekil 4.5.** Sisplatinin 48 saatlik maruziyette HeLa hücre canlılığı üzerine etkisi.

Sonuçlar, ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Hücre canlılığı negatif kontrole (Diklofenak sodyum uygulanmayan grup için hücre canlılığı %100 alındı) göre değerlendirildi.  $\text{IC}_{50}$ : %50 hücre çoğalma inhibisyon yüzdesi. \* $p<0,05$ ; negatif kontrol (%1 PBS) ile karşılaştırıldı.

**Tablo 4.4.** HeLa hücre canlılığı üzerine sisplatinin 48 saat maruziyette etkisi.

		<b>I.</b>	<b>II.</b>	<b>III.</b>	<b>IV.</b>	<b>Hücre canlılığı</b>
		<b>Deney</b>	<b>Deney</b>	<b>Deney</b>	<b>Deney</b>	
<b>1</b>	<b>(-) Kontrol (%1 PBS)</b>	100	100	100	100	100,0
<b>2</b>	<b>5 <math>\mu</math>M Sisplatin</b>	73,9	85,1	69,9	86,6	78,8 $\pm$ 8,2
<b>3</b>	<b>10 <math>\mu</math>M Sisplatin</b>	59,8	64,3	36,7	40,9	50,4 $\pm$ 13,7
<b>4</b>	<b>25 <math>\mu</math>M Sisplatin</b>	35,3	35,1	18,1	34,3	30,7 $\pm$ 8,4
<b>5</b>	<b>50 <math>\mu</math>M Sisplatin</b>	21,8	20,5	12,4	20,9	18,9 $\pm$ 4,4
<b>6</b>	<b>100 <math>\mu</math>M Sisplatin</b>	12,1	9,7	7,3	10,8	10,0 $\pm$ 2,0

Sonuçlar, ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Hücre canlılığı negatif kontrole göre değerlendirildi (Sisplatin uygulanmayan grup için hücre canlılığı %100 alındı). Negatif kontrol olarak %1 PBS uygulandı. \* $p<0,05$ ; negatif kontrol (%1 PBS) ile karşılaştırıldı.

**Şekil 4.6.** HeLa hücre canlılığı üzerine sisplatinin 24 ve 48 saat maruziyette etkisi.

Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Hücre canlılığı negatif kontrole göre değerlendirildi. Negatif kontrol olarak PBS uygulandı. \* $p<0,05$ . negatif kontrol ile karşılaştırıldı.

### **4.3. Diklofenak Sodyumun HeLa Hücrelerinde Sisplatin Sitotoksitesine Etkilerinin Değerlendirilmesi**

Diklofenak sodyumun HeLa hücrelerinde 3,91-1000  $\mu\text{M}$  konsantrasyon aralığında 24 ve 48 saatlik inkübasyonda sisplatin sitotoksitesi üzerine etkileri Tablo 4.5, Tablo 4.6., Şekil 4.7 ve Şekil 4.8’de verilmiştir.

24 saatlik inkübasyon için; HeLa hücrelerinde diklofenak sodyumun 3,91-31,25  $\mu\text{M}$  konsantrasyon aralığında, sisplatinin IC50 değerini (25  $\mu\text{M}$ ) değiştirmediği, ancak 62,5 $\mu\text{M}$  ve üzeri dozlarında sisplatinin IC50 değerini doz bağımlı anlamlı olarak azalttığı görölmektedir ( $p<0.05$ ).

48 saatlik inkübasyon için; HeLa hücrelerinde diklofenak sodyumun 3,91-15,63  $\mu\text{M}$  konsantrasyon aralığında sisplatinin IC50 değerini (10  $\mu\text{M}$ ) değiştirmediği, 31,25  $\mu\text{M}$  ve üzeri konsantrasyonlarda sisplatinin IC50 değerini doz bağımlı anlamlı olarak azalttığı görölmektedir ( $p<0.05$ ).

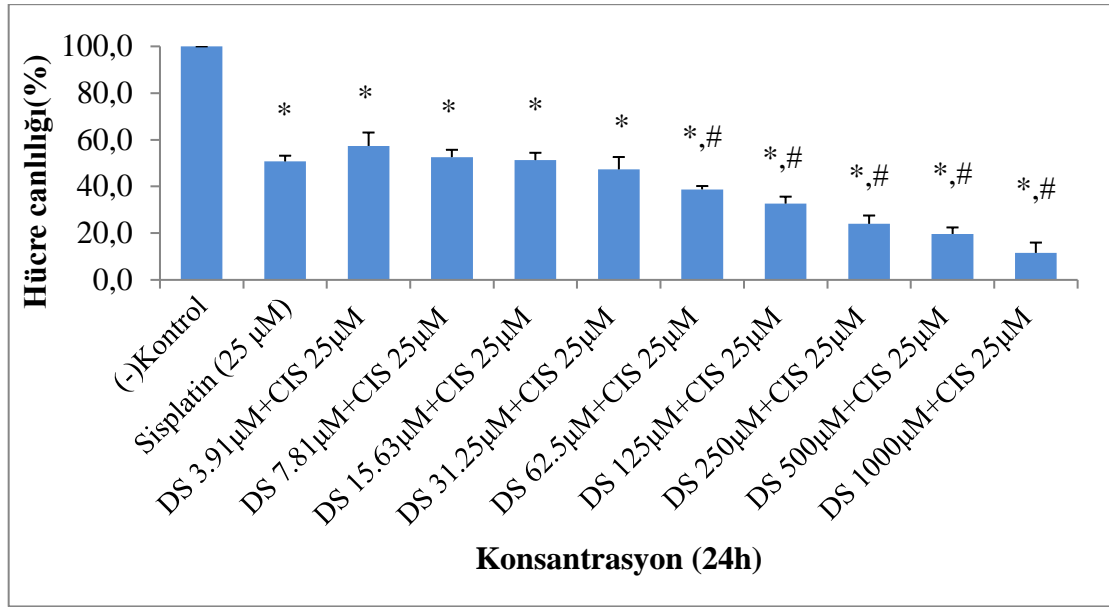
Ayrıca 24 saatlik inkübasyonda 48 saatlik inkübasyon ile karşılaştırıldığında 31,25  $\mu\text{M}$  ve üzeri dozlarında diklofenak sodyumun sisplatin sitotoksitesini istatistiksel anlamlı olarak arttırdığı görölmektedir ( $p<0.05$ ) (Şekil 4.9).



**Tablo 4.5.** HeLa hücre canlılığı üzerine diklofenak sodyumun 24 saat maruziyette sisplatin sitotoksitesine etkisi.

No	Çalışma grupları	I. Deney	II. Deney	III. Deney	Hücre canlılığı
1	(-) Kontrol	100	100	100	100.0±0
2	Sisplatin (25 µM)	48,0	52,8	51,3	50,7±2,5 *
3	DS 3,91µM+CIS 25µM	55,2	63,9	52,9	57,3±5,8 *
4	DS 7,81µM+CIS 25µM	50,1	56,1	51,6	52,6±3,1 *
5	DS 15,63µM+CIS 25µM	49,3	54,9	49,7	51,3±3,1 *
6	DS 31,25µM+CIS 25µM	47,8	52,4	41,8	47,3±5,3 *
7	DS 62,5µM+CIS 25µM	38,9	40,1	37,3	38,8±1,4 *,#
8	DS 125µM+CIS 25µM	31,9	36,0	30,2	32,7±3,0 *,#
9	DS 250µM+CIS 25µM	25,4	26,6	19,9	24,0±3,6 *,#
10	DS 500µM+CIS 25µM	22,9	18,5	17,6	19,7±2,8 *,#
11	DS 1000µM+CIS 25µM	14,0	14,2	6,5	11,6±4,4 *,#

Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Hücre canlılığı negatif kontrole göre değerlendirildi. Negatif kontrol olarak PBS uygulandı. \* $p<0.05$ , negatif kontrol ile karşılaştırıldı. # $p<0.05$ , sisplatin (25 µM) ile karşılaştırıldı. DS: diklofenak sodyum, CIS, sisplatin.



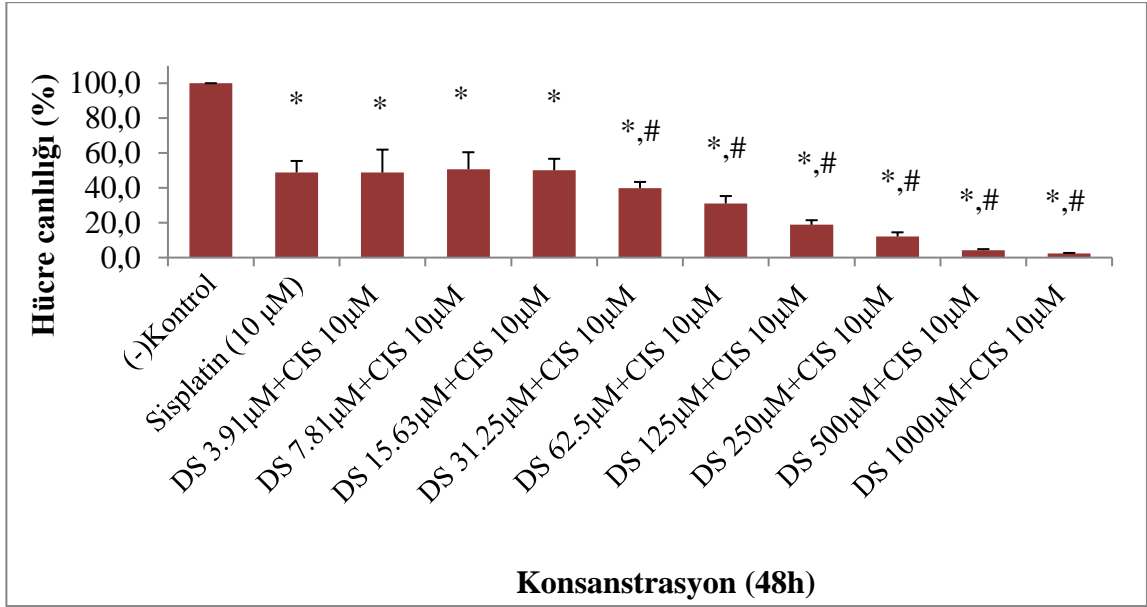
**Şekil 4.7.** HeLa hücreleri üzerinde diklofenak sodyumun 24 saat maruziyette sisplatin sitotoksitesine etkisi.

Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Hücre canlılığı negatif kontrole göre değerlendirildi. Negatif kontrol olarak PBS uygulandı. \* $p < 0.05$ , negatif kontrol ile karşılaştırıldı. # $p < 0.05$ , sisplatin (25 µM) ile karşılaştırıldı. DS: diklofenak sodyum, CIS, sisplatin.

**Tablo 4.6.** HeLa hücre canlılığı üzerine diklofenak sodyumun 48 saat maruziyette sisplatin sitotoksitesine etkisi.

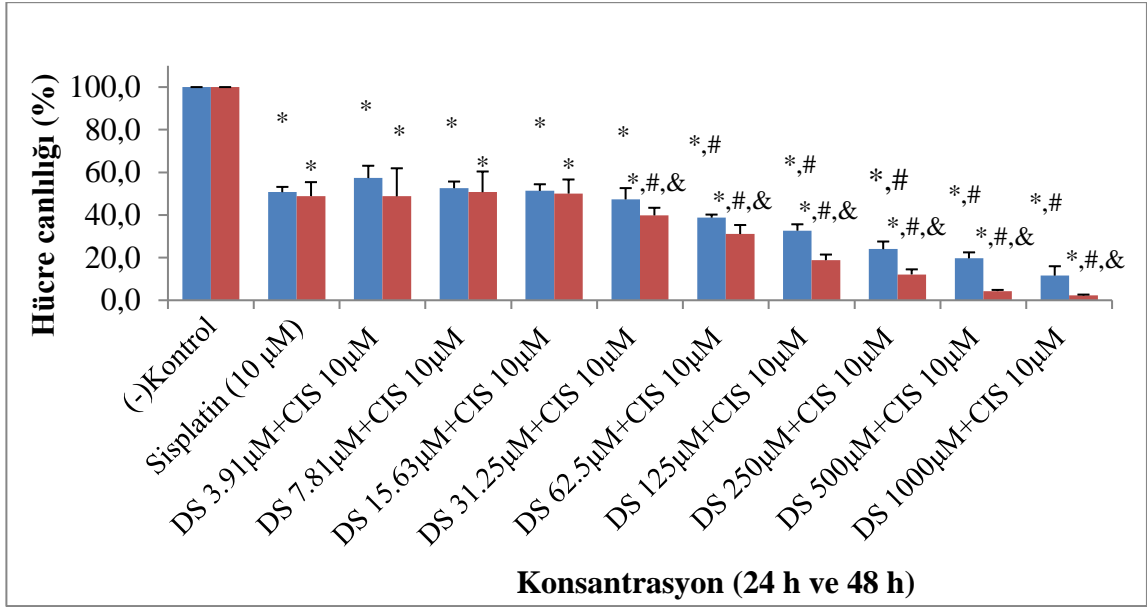
No	Çalışma grupları	I. Deney	II. Deney	III. Deney	Hücre canlılığı
1	(-) Kontrol	100	100	100	100.0±0
2	Sisplatin (10 µM)	41,8	54,8	50,0	48,9±6,6 *
3	DS 3,91µM+CIS 10µM	33,8	54,1	58,4	48,8±13,1 *
4	DS 7,81µM+CIS 10µM	41,8	49,4	61,0	50,7±9,7 *
5	DS 15,63µM+CIS 10µM	42,5	54,7	53,0	50,1±6,6 *
6	DS 31,25µM+CIS 10µM	38,5	37,2	43,9	39,8±3,6 *,#
7	DS 62,5µM+CIS 10µM	27,6	29,9	35,8	31,1±4,2 *
8	DS 125µM+CIS 10µM	17,2	17,4	21,8	18,8±2,6 *,#
9	DS 250µM+CIS 10µM	9,5	12,8	14,1	12,1±2,4 *,#
10	DS 500µM+CIS 10µM	4,5	3,7	4,7	4,3±0,5 *,#
11	DS 1000µM+CIS 10µM	2,4	2,6	2,0	2,4±0,3 *,#

Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Hücre canlılığı negatif kontrole göre değerlendirildi. Negatif kontrol olarak PBS uygulandı. \* $p<0.05$ , negatif kontrol ile karşılaştırıldı. # $p<0.05$ , sisplatin (10 µM) ile karşılaştırıldı. DS: diklofenak sodyum, CIS, sisplatin.



**Şekil 4.8.** HeLa hücreleri üzerinde diklofenak sodyumun 48 saat maruziyette sisplatin sitotoksitesine etkisi.

Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Hücre canlılığı negatif kontrole göre değerlendirildi. Negatif kontrol olarak PBS uygulandı. \* $p < 0.05$ , negatif kontrol ile karşılaştırıldı. # $p < 0.05$ , sisplatin (10 µM) ile karşılaştırıldı. DS: diklofenak sodyum, CIS, sisplatin.



**Şekil 4.9.** HeLa hücreleri üzerinde diklofenak sodyumun 24 ve 48 saat maruziyette sisplatin sitotoksitesine etkisi.

Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Hücre canlılığı negatif kontrole göre değerlendirildi. Negatif kontrol olarak PBS uygulandı. \* $p < 0.05$ , negatif kontrol ile karşılaştırıldı. # $p < 0.05$ , sisplatin (10 µM) ile karşılaştırıldı. & $p < 0.05$ , 24 saatlik maruziyet 48 saatlik maruziyet ile karşılaştırılmıştır. DS: diklofenak sodyum, CIS, sisplatin.

## 5. TARTIŞMA

Sevikal kanser, 2020 yılında tahmini 604 bin yeni vaka ile kadınlarda en sık görülen dördüncü kanserdir. Rahim ağzı kanserinin büyük bir çoğunluğu (%95'ten fazlası) insan papilloma virüsünden kaynaklanmaktadır. Sevikal kanser tedavisinde çeşitli tedavi stratejileri uygulanmaktadır. Servikal kanser tedavi seçiminde kanser evresi ve hastanın durumu göz önüne alınır. Kanseri ortadan kaldırmak için cerrahi işlem uygulanabilir. Radyoterapi, kemoterapi ya da ikisinin kombine edildiği radyokemoterapi uygulanan diğer tedavi yöntemleridir. En sık kullanılan kemoterapi ilaçları içerisinde sisplatin, karboplatin, paklitaksel, topotekan ve kombinasyonları yer alabilir (1,2,4).

Sisplatin vücutta yumurtalık, akciğer, baş boyun, testis ve mesane gibi çeşitli kanser türlerinin tedavisinde kullanılır. Sisplatin üreme hücre tümörleri, sarkomalar, karsinomalar ve lenfomalar gibi çeşitli kanser türlerine karşı da etkilidir. Sisplatinin kanserle mücadeledeki etki prensibi, sisplatinin mono-, inter ve intrastrand DNA çapraz bağlarını içeren DNA eklentilerinin oluşumu yoluyla hücre döngüsünü S, G1 veya G2-M'de durduran ve böylece apoptozu indükleyerek kanser hücreleri üzerinde sitotoksiste oluşturması esasına dayanır (5).

Antiinflamatuvar, antipiretik ve analjezik özelliklere sahip olan NSAİİ'ler reçeteyle veya reçetesiz olarak en çok tüketilen ilaçlardır. Etkilerini büyük ölçüde prostaglandinleri inhibe ederek oluştururlar. NSAİİ'ler içerisinde yeniden ilgi kazanan analjeziklerden birisi diklofenak sodyumdur. Diklofenak sodyum, bir fenilasetik asit türevi ve steroidal olmayan bir NSAİİ'dir. NSAİİ'ler, prostaglandinlerin (PG) üretilmesinden sorumlu enzim olan COX-1 ve COX-2'yi inhibe eder. Diklofenak sodyumun bilinen PG sentez inhibisyonu etkisi ile birlikte bilinmeyen mekanizmalarının da olabileceği öne sürülmektedir (93).

Diklofenak sodyumun potansiyel antikanser aktivitesi için mevcut kanser dışı ilaçları değerlendirme araştırmalarında dikkat çekmektedir. COX-2 ve prostaglandin E2 sentezinin güçlü bir inhibitörü olan diklofenak sodyumun bağışıklık sistemi, anjiyojenik kaskad, kemo ve radyo duyarlılığı ve tümör metabolizması üzerinde bir dizi etki gösterebildiği düşünülmektedir. Diklofenak sodyumun özellikle anjiyogenez ve bağışıklık

sistemi üzerindeki etkisi ile ilgili çoklu etki mekanizmaları dikkate alındığında bu ilacın kanser tedavisi için kayda değer bir potansiyele sahip olabileceğini düşündürmektedir (94).

Diklofenak sodyum ve sisplatin kombinasyonunun kanser tedavisindeki olası etkilerine dair çalışmalar yetersizdir. Çalışma kapsamında HeLa servikal kanser hücrelerinde sisplatin ile diklofenak sodyum kombinasyonlarının hücre canlılığı üzerine etkilerinin MTT yöntemi kullanılarak değerlendirilmesi ve diklofenak sodyumun sisplatinin antikanser etkisine açıklık getirilmesi amaçlanmıştır. Diklofenak sodyumun insan serviks kanser hücre hattında (HeLa) sisplatin sitotoksitesisi üzerine etkisinin olabileceği öngörülmektedir.

Çalışma sonuçlarına göre HeLa hücrelerinde diklofenak sodyum 250  $\mu\text{M}$  ve üzeri konsantrasyonlarında doz bağımlı olarak (250  $\mu\text{M}$ , 500  $\mu\text{M}$  ve 1000  $\mu\text{M}$  dozları için sırasıya %15,3 (1,18 katı), %38,4 (1,62 katı) ve %73 (3,70 katı)) hücre canlılığını anlamlı olarak azaltmıştır. 48 saatlik inkübasyon sonrası ise diklofenak sodyumun 125  $\mu\text{M}$  ve üzeri konsantrasyonlarında doz bağımlı olarak (125  $\mu\text{M}$ , 250  $\mu\text{M}$ , 500  $\mu\text{M}$  ve 1000  $\mu\text{M}$  dozları için sırasıya %39,6 (1,66 katı) %50,8 (2,03 katı), %64,6 (2,83 katı) ve %80,4 (5,11 katı) hücre canlılığını anlamlı olarak azaltmıştır. Diklofenak sodyumun 24 ve 48 saatlik mazruziyetlerde  $\text{IC}_{50}$  değerleri sırasıyla 679,6  $\mu\text{M}$  ve 238,8  $\mu\text{M}$  olarak belirlenmiştir.

HeLa hücrelerinde sisplatin 24 saatlik inkübasyonda 25  $\mu\text{M}$  ve üzeri konsantrasyonlarında doz bağımlı olarak (25  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$  ve 100  $\mu\text{M}$  dozları için sırasıyla %52,7 (2,11 katı), %68,4 (3,17 katı) ve %80,8 (5,21 katı)) hücre canlılığını anlamlı olarak azaltmıştır. 48 saatlik inkübasyon sonrası ise sisplatin 10  $\mu\text{M}$ , 25  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$  ve 100  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarda doz bağımlı olarak (10  $\mu\text{M}$ , 25  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$  ve 100  $\mu\text{M}$  dozları için sırasıya %49,6 (1,98 katı) %69,3 (3,25 katı), %81,1 (5,29 katı) ve %90 (10,03 katı)) hücre canlılığını anlamlı olarak azaltmıştır. Sisplatinin 24 ve 48 saatlik mazruziyette  $\text{IC}_{50}$  değerleri sırasıyla 24  $\mu\text{M}$  ve 10,3  $\mu\text{M}$  olarak bulunmuştur.

24 saatlik inkübasyon için; HeLa hücrelerinde diklofenak sodyum 3,91-31,25  $\mu\text{M}$  konsantrasyon aralığında, sisplatinin  $\text{IC}_{50}$  değerini (25  $\mu\text{M}$ ) değiştirmedeği, ancak 62,5  $\mu\text{M}$  ve üzeri dozlarında sisplatinin  $\text{IC}_{50}$  değerini doz bağımlı anlamlı olarak azalttığı ve 48 saatlik inkübasyon için; HeLa hücrelerinde diklofenak sodyumun 3,91-15,63  $\mu\text{M}$

konsantrasyon aralığında sisplatinin IC50 değerini (10  $\mu$ M) değiştirmediği, 31,25  $\mu$ M ve üzeri konsantrasyonlarda sisplatinin IC50 değerini doz bağımlı anlamlı olarak azalttığı bulunmuştur. Ayrıca 24 saatlik inkübasyonda 48 saatlik inkübasyon ile karşılaştırıldığında 31,25  $\mu$ M ve üzeri dozlarında diklofenak'ın sisplatin sitotoksitesini istatistiksel anlamlı olarak arttırdığı görölmektedir.

Cortina ve ark. (1997)'nın diklofenak sodyumun insan lens epitel hücre proliferasyonuna karşı inhibisyonunu ve sitotoksik etkilerini gösterdikleri çalışmada 8-500  $\mu$ M konsantrasyonda diklofenak sodyum ile hücreler 24 ve 72 saat inkübe edilmiştir. Çalışma sonucunda diklofenak sodyumun 24 saat inkübasyonu çalışmamızla uyumlu şekilde 120,5  $\mu$ M üzeri konsantrasyonlarda hücre için sitotoksik olduğu gösterilmiş ve IC50 değeri 604,8  $\mu$ M olarak bulunmuştur. Ayrıca aynı çalışmada Afrika yeşil maymun böbrek epitel hücreleri (Vero) de kullanılmış ve Vero hücrelerinin diklofenak sodyuma karşı daha az duyarlı olduğu gösterilmiştir (IC50 değeri 1180  $\mu$ M'dır) (95).

Alok ve ark. (2013) ise diklofenak sodyumun radyoprotektif rolünü araştırdıkları çalışmada diklofenak sodyumun V79 hücrelerinde MTT yöntemi ile hücre canlılığını incelemiştir. Çalışmamızın aksine diklofenak sodyumun hücre canlılığını 1000  $\mu$ M'da 2 saat içerisinde % 15 azalttığı ve 24 saatte doz bağımlı anlamlı azalttığı bulunmuştur (IC50 değeri yaklaşık 330  $\mu$ M). Çalışmada ayrıca V79 hücrelerinde 100  $\mu$ M konsantrasyonda diklofenak sodyumun 2 saat ön-maruziyet sonrası radyoprotektif etkisi gösterilmiştir (96).

Tavşan kornea epitel hücrelerinin (RCEC) proliferasyonunda diklofenak sodyumun inhibitör etkisinin Wu ve ark. (2010) tarafından araştırıldığı çalışmada; diklofenak sodyum farklı konsantrasyonlarda (18.18, 27.27, 36.36, 45.45, 54.55  $\mu$ g/ml) RCEC'lere uygulanmıştır. Hücre proliferasyonu MTT yöntemi ile inkübasyondan 24, 48 ve 72 saat sonra ölçölmüştür. İnhibisyon oranı doz-bağımlı olarak artmıştır ve 24.saatte 36,36  $\mu$ g/ml'de hücre canlılığı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında % 61,4 oranında azalmıştır. Çalışmada diklofenak sodyumun farklı konsantrasyonlarda (9 ve 12  $\mu$ g/ml) RCEC'lerin hücre döngüsü üzerinde etkileri ve apoptoz oranı araştırılmıştır. G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> fazında artış, S fazında azalış ve ayrıca konsantrasyon-bağımlı bağlı olarak apoptoz oranında artış (8,95  $\mu$ g/ml ve 13,61  $\mu$ g/ml) gözlenmiştir (97).



Al-Nimer ve ark. (2014) yaptıkları *in vitro* çalışmada, kültür ortamında HeLa hücresi, meme hücre karsinomu, rabdomyosarkom ve fibroblast hücre hatlarının büyümesi üzerine diklofenakın sitotoksik etkisi MTT yöntemiyle ölçülerek incelenmiştir. Çalışmada diklofenak (0.625 mg/well; 3 mg/ml) HeLa, rabdomyosarkom ve fibroblast hücrelerinin büyümesini önemli ölçüde inhibe etmiştir. Diklofenak fibroblast, HeLa ve rabdomyosarkom hücre hatlarında hücre büyüme oranını kontrole kıyasla sırasıyla %74,9±10.8, %21,2±5.5 ve %67,0±25.3'e düşürmüştür (98).

Endo ve ark. (2014)'nin yaptıkları çalışmada NSAİİ olan ibuprofen ile işleme tabi tutulan A549 ve H358 akciğer kanseri hücrelerinin canlılığını incelemişlerdir. Hücreler, 48 saat boyunca 400 mM ibuprofen ve sisplatin ile muamele edilmiştir. A549 (üst panel) veya H358 (alt panel) hücrelerinde ibuprofenin sisplatin kaynaklı apoptoz üzerindeki sinerjistik etkisine bakılmıştır. Hsp70, kanser hücrelerinde sıklıkla aşırı eksprese edilir ve sağladığı seçici hücrel hayatta kalma avantajı, tümör oluşumu sürecine katkıda bulunabilir. Bu nedenle, kanser hücrelerinde Hsp70 seviyelerinin farmakolojik manipülasyonu, tümörlerin ilerlemesini önlemenin etkili bir yolu olabilir. Yapılan değerlendirme sonucunda, ibuprofenin A549 hücrelerinde Hsp70 ekspresyonunu azaltarak mitokondriyal kaskatın birçok aşamasında sisplatin tarafından indüklenen apoptozu arttırdığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, ibuprofen, Hsp70'in baskılanmasının aracılık ettiği bir etki mekanizması yoluyla akciğer adenokarsinom hücrelerinde sisplatinin antitümöral özelliklerini güçlendirmiştir (99).

Robledo-Cadena ve ark. (2020)'nin yaptıkları çalışmada selekoksib ve bunun siklooksijenaz-2 (COX2) olmayan analogu dimetilselekoksibin (DMC) ve bakır bazlı ilaç casiopeina II-gly'nin insan serviks HeLa hücre büyümesi üzerine etkisi incelenmiştir. Bu ilaçların etkileri ile farklı kanonik anti-kanser ilaçlarının etkileri arasında var olan herhangi bir sinerjiyi belirlemek için üç standart referans matematiksel model uygulanmıştır. Tüm modeller için, her ilaç hücrelere IC50'nin altındaki dozlarda eklenmiştir. NSAİİ'lerin ve kemoterapi ilaçlarının proliferasyon üzerindeki kombinasyon etkisi de direnç indeks oranı (RI) ve kombinasyon indeksi (CI) değeri belirlenerek analiz edilmiştir. Celecoxib (5–10 M) ve DMC (dimethylcelecoxib (10–25 M), kanonik anti-kanser ilaçlarının hem iki boyutlu hem de üç boyutlu kültürlerde HeLa hücre büyümesi

üzerindeki potensini sinerjik olarak arttırmıştır. Benzer şekilde, iki boyutlu kültürlerde her iki NSAİİ'nin varlığı ile sisplatin ve doksorubisin IC50 değerlerinde önemli bir azalma (%38-66 oranında) görülmüştür. Hem koruyucu hem de tedavi edici protokollerdeki selekoksib, HeLa kemoterapi ilacının IC50 değerlerini de azaltmıştır. DMC (dimethylcelecoxib) ayrıca sisplatin ve paklitakselin anti-kanser sitotoksitesini artırarak IC50 değerlerini hem koruyucu (%52-55) hem de iyileştirici (%45-73) protokollerde düşürmüştür (100).

Dong ve ark. (2014)'nın mide kanseri kemoterapisinde aspirin ve sisplatinin etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, SGC7901/CDDP hücre kültürü 24 saat boyunca aspirin, sisplatin veya aspirin+sisplatin ile tedavi edilmiş ve hücre büyümesi MTT yöntemi ile, apoptoz hız akış sitometrisi ile, survivin mRNA ifadesi RT-PCR ile ve survivin protein ifadesi western blot ile değerlendirilmiştir. Hücre canlılığı, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, sisplatin, aspirin ve aspirin+sisplatin gruplarında SGC7901/CDDP hücrelerinin yaşama oranı daha düşük ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $P < 0.01$ ). Aspirin+sisplatin grubunda hücre büyümesi önemli ölçüde inhibe edilmiştir ve aspirin+sisplatindeki hücrelerin hayatta kalma oranı, sisplatin ve aspirin gruplarına kıyasla daha düşüktür. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Sonuçlar, aspirin+sisplatin grubundaki hücre büyümesinin önemli ölçüde inhibe edildiğini ortaya koymuştur. Aspirin+sisplatindeki apoptotik oran, diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Aspirin+sisplatin grubunda survivin mRNA ve protein ekspresyonu da önemli ölçüde azalmıştır. Veriler, aspirin ve sisplatin kombinasyonunun, tek başına aspirin veya sisplatine kıyasla SGC7901/CDDP hücrelerine karşı daha yüksek derecede toksisite sergilediğini göstermiştir. Bu nedenle, aspirin+sisplatin kombinasyonu, SGC7901/CDDP hücrelerinin apoptozunu indükleyebilir (101).

Okamoto ve ark. (2021) yaptıkları çalışmada, diklofenak ve selekoksibin tümör üzerindeki etkilerini ve A549/DDP hücreleri ile nakledilen bir ksenograft fare modelinde sisplatinin antitümör etkisini değerlendirmişlerdir. Sisplatin, tümör boyutunu ve tümör ağırlığını azaltmasa da bu parametreler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diklofenakla birlikte uygulamayı takiben önemli ölçüde azalmıştır. Tersine, selekoksib, sisplatinin antitümör etkisini marjinal olarak bastırmıştır. Ayrıca, sisplatin, ksenograft farelerin

böbreklerinde bir böbrek bozukluğu belirteci olan böbrek hasarı molekülü 1'in (Kim-1) mRNA seviyelerini arttırmıştır; selekoksib ve diklofenak ile tedavi, sisplatin tarafından arttırılan Kim-1 mRNA seviyelerini etkilememiştir. Sonuç olarak, diklofenak, sisplatinin neden olduğu nefrotoksisiteyi arttırmadan sisplatinin antitümör etkisini güçlendirmiştir. Ayrıca, diklofenakın, sisplatin A549/DDP hücreleri, sisplatine karşı dirençli bir insan akciğer kanseri hücreleri ve bunların sferoidleri üzerindeki sitotoksik etkisini, hücre morfolojisinin kanser kök hücrelerinin özelliklerini gösteren hücre morfolojisi ile aditif olarak arttırdığı gösterilmiştir. Bu çalışmada, sisplatin ve diklofenakın birlikte uygulanması, tümör boyutunu ve ağırlığını önemli ölçüde azaltmıştır ve diklofenakın sisplatinin antitümör etkisini arttırdığı bulunmuştur. Sonuç olarak, değerlendirilen iki tip NSAİİ'den diklofenak, sisplatine bağlı sitotoksisiteyi arttırmadan sisplatinin antitümör etkisini güçlendirmektedir (102).

Okamoto ve ark. (2021)'nin yaptıkları başka bir çalışmada, sisplatinin antikanser etkilerini artırabilecek NSAİİ'leri belirlemek amacıyla, sisplatinin sitotoksik etkisi üzerindeki NSAİİ'nin etkileri; akciğer kanseri hücre kültüründe, MTT yöntemiyle yapılan bir çalışma ile araştırılmıştır. NSAİİ'lerin kanser hücrelerine tek başına yapmış olduğu etkiye bakıldığında; her bir NSAİİ'nin maksimum konsantrasyonunun eklenmesinin ardından, bazı NSAİİ'lerin akciğer kanseri hücreleri üzerinde sitotoksik etkiler gösterdiği bulunmuştur (103). NSAİİ'lerin sisplatinin etkisi üzerine etkilerine bakıldığında ise selekoksib, sisplatinin IC50 değerini arttırmış ve sisplatine direnç göstermiştir. Ayrıca diklofenakın sisplatinin IC50 değerini azalttığı ve sisplatinin sitotoksik etkisini arttırdığı gösterilmiştir. Selekoksib, sisplatinin IC50 değerini A549 hücrelerindeki benzer şekilde artırsa da bazı NSAİİ'ler de arttırmış ve naproksen ise IC50 değerini bir miktar azaltmıştır (103). Yapılan çalışmada, değişen IC50 değerlerine sahip selekoksib ve diklofenak üzerinde odaklanılmış ve bunların hücre canlılığı üzerindeki etkilerini sabit bir konsantrasyonda karşılaştırılmıştır. A549 hücrelerinde, sisplatin ve selekoksib sitotoksik etkiler göstermiştir; ancak bunların kombinasyonları sitotoksisiteyi arttırmada başarısız olmuştur. Bu eğilim SBC-3 hücrelerinde de gözlenmiştir. Öte yandan, diklofenak ve sisplatinin kombinasyonu, A549 hücrelerinde sisplatinin sitotoksitesini arttırmıştır (103).

Çalışmalar incelendiğinde steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçların (NSAİİ'ler) düzenli kullanımı ile kolon, meme, akciğer ve yumurtalık kanseri riskini azaltabileceği gösterilmiştir. Deneysel çalışmalar, diklofenak sodyumun konsantrasyona bağlı bir şekilde tümör ksenograflarının büyümesinin yanı sıra kanser hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir (98).

Diklofenak'ın, sisplatinin neden olduğu nefrotoksisteyi artırmadan sisplatinin antitümör etkisini güçlendirebileceği de gösterilmiştir. NSAİİ'ler, COX-1'i seçici olmayan şekilde veya COX-2'yi seçici olarak inhibe eder. Dünya Sağlık Örgütü, kanser ağrısı için NSAİİ'lerin kullanılmasını önermektedir; bu nedenle antikanser ajanlar ve NSAİİ'ler kanser tedavisinde sıklıkla kombinasyon halinde kullanılır. Ayrıca bazı NSAİİ'lerin sadece antiinflamatuvar etkilerinin değil aynı zamanda antikanser etkilerinin de olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle, uygun NSAİİ ve antikanser ajan kombinasyonlarının, kanser ağrısını azaltırken antikanser ajanın antitümör etkilerini artırması beklenebilir. Bununla birlikte, hangi NSAİİ'lerin antikanser etkileri olduğu tam olarak açık değildir ve benzer koşullar altında NSAİİ'lerin antitümör etkilerini karşılaştıran az sayıda çalışma bulunmaktadır. Kanser hücreleri üzerine diklofenak sodyumun moleküler etki mekanizmaları üzerine daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Diklofenak sodyum NSAİİ'ler sınıfına ait bir ilaç olmakla birlikte hem COX-1 hem de COX-2 enzimlerini inhibe eder. Diklofenak sodyumun bilinen PG sentez inhibisyonu etkisiyle birlikte farklı mekanizmalarının da olabileceği görülmektedir. Diklofenak sodyumun özellikle anjiyogenez ve bağışıklık sistemi üzerindeki etkisi ile ilgili çoklu etki mekanizmalarını dikkate alındığında bu ilacın kanser tedavisinde etkili olabileceği ileri sürülmektedir (94).

Diklofenak sodyum potansiyel antikanser aktivitesi ile araştırmaların ilgi odağı olmaktadır. Diklofenak sodyum ve sisplatin kombinasyonun kanser tedavisindeki olası etkilerine dair çalışmalar yetersizdir. Çalışma kapsamında HeLa servikal kanser hücrelerinde sisplatin ile diklofenak sodyum kombinasyonlarının hücre canlılığı üzerine etkilerinin MTT yöntemi kullanılarak değerlendirilmesi ve diklofenak sodyumun sisplatinin antikanser etkisine açıklık getirilmesi amaçlanmıştır

Diklofenak sodyum ile ilgili yapılan çalışmalar bu molekülün hücre canlılığı üzerine olan etkisini göstermektedir. Sonuç olarak, bulgularımız diklofenak sodyumun serviks kanser tedavisinde sisplatinin sitotoksik etkinliğini arttırabileceğini göstermektedir ve bu nedenle servikal kanser hücre gelişimi ve ilerlemesine karşı önemli bir rol alabileceği ön görülmektedir; ancak antikanser ilaç tedavisinde kombine etkilerin doğrulanması için daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Aydoğdu S, Özsoy Ü. Serviks kanseri ve HPV. *Androloji Bül.* 2018;20:25-29.
2. Powles C. HPV vaccine: a key cervical cancer prevention strategy: Primary HPV vaccination and secondary cervical screening are effective prevention strategies to reduce the incidence and mortality of cervical cancer in Ireland. *Women's Health.* 2017; 25(4):57-58.
3. Siddik ZH. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene.*2003; 22(47):7265–7279.
4. Green JA, Kirwan JM, Tierney JF. Survival and recurrence after concomitant chemotherapy and radiotherapy for cancer of the uterine cervix: a systematic review and meta-analysis. *Lancet.* 2001;358:781-786.
5. Gosh S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug. *Bioorg Chem.* 2019(7);88:102925.
6. Dai CH, Chen P, Li J, Lan T, Chen YC, Qian H, Chen K, Li MY. Co-inhibition of pol  $\theta$  and HR genes efficiently synergize with cisplatin to suppress cisplatin resistant lung cancer cells survival. *Oncotarget.* 2016 (7); 40: 65157-65170.
7. Fang Y, Zhang C, Wu T, Wang Q, Liu J, Dai P. Transcriptome sequencing reveals key pathways and genes associated with cisplatin resistance in lung adenocarcinoma A549 cells. *PLoS One.* 2017;12 (1).
8. Sallmann AR. The History of Diclofenac. *Am. J. Med.* 1986; 80: 29-33.
9. Todd PA, Sorkin EM. Diclofenac Sodium. *Drugs.* 1988;35:244-285.
10. Ku EC, Lee W, Kothori VH, Scholer DW. Effect of Diclofenac Sodium on the Arachidonic Cascade. *Am. J. Med., (80) Suppl. 4B,* 1986:18-23.

11. Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. *Carcinogenesis*. 2009;30(7):1073-1081.
12. Zhang Z, Chen F, Shang L. Advances in antitumor effects of NSAIDs. *Dovepress Journal: Cancer Management and Research*. 2018;10 4631-4640.
13. Dai Y ve Wang WH. Non-steroidal anti-inflammatory drugs in prevention of gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2006;12: 2884-2889.
14. Hil'ovská L, Jendželovský R, Fedoročko P. Potency of non-steroidal anti-inflammatory drugs in chemotherapy. *Molecular and Clinical Oncology*. 2015; 3: 3-12.
15. Tao Y, Wang Z, Han J, Wei P. Inflammatory myofibroblastic tumor successfully treated with chemotherapy and nonsteroidals: A case report. *World J Gastroenterol*. 2012 December. 21; 18(47): 7100-7103.
16. Duvy CP, Elliott CJ, O'Connor RA, Heenan MM, Coyle S, Cleary IM, Kavanagh K, Verhaegen S, O'Loughlin CM, NicAmhlaoibh R. ve Clynes M. Enhancement of Chemotherapeutic Drug Toxicity to Human Tumour Cells In Vitro by a Subset of Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs). *European Journal of Cancer*. 1998;34(8);1250-1259.
17. <https://go.drugbank.com/drugs/DB00586> (Erişim tarihi: 06.06.2022)
18. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Diclofenac-sodium> (Erişim tarihi: 06.06.2022)
19. Davies NM, Anderson KE: Clinical pharmacokinetics of diclofenac. Therapeutic insights and pitfalls. *Clin Pharmacokinet*. 1997;33(3):184-213.
20. Todd PA, Sorkin EM. Diclofenac sodium. A reappraisal of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy. *Drugs*. 1988; Mar;35(3):244-85.

21. Riess W, Stierling H, Geiger UP, Gerardin A, Schmid K, Wagner J ve ark. Data on the pharmacokinetics and metabolism of Diclofenac (Voltaren) in animals and man. *Chronic forms or polyarthritis. Bern, Switzerland: Hans Huber Publishers.*1976.
22. John VA. The pharmacokinetics and metabolism of diclofenac sodium (Voltarol) in animals and man. *Rheumatology and rehabilitation*, 1979; 22-37.
23. Kendall MJ, Thornhill DP, Willis JV. Factors affecting the pharmacokinetics of diclofenac sodium (Voltarol®). *Rheumatol Rehabil* 1979; 2:38-46.
24. Willis JV, Kendall MJ. Pharmacokinetic studies on diclofenac sodium in young and old volunteers. *Scand J Rheumatol* 1978;22: 36-41.
25. Borghi C, Del Como C, Palummeri E. Pharmacokinetics, efficacy and safety of diclofenac: elderly vs non elderly arthritic patients [abstract 270]. *Acta Pharmacol Toxicol.* 1986; 59 Suppl. 5: 10 I.
26. Gleiter CH, Antonin K-H, Bieck P. Colonoscopy in the investigation of drug absorption in healthy volunteers. *Gastrointest Endosc.* 1985; 31 (2): 71-3.
27. Neuvonen PJ. The effect of magnesium hydroxide on the oral absorption of ibuprofen, ketoprofen and diclofenac. *Br J Clin Pharmacol*1991; 31: 263-6.
28. Gelderen MEM, Oiling M, Barends DM, et al. The bioavailability of diclofenac from enteric coated products in healthy volunteers with normal and artificially decreased gastric acidity. *Biopharm Drug Disp.* 1994; 15: 775-88.
29. AI-Balla SR, EI-Sayed YM, AI-Meshal MA, et al. The effects of cholestyramine and colestipol on the absorption of diclofenac in man. *Int J Clin Pharmacol. Ther* 1994; 32 (8): 441-5.
30. Siegmund W, Scheuch E, Zschiesche M, et al. Potential pharmacokinetic interactions of nocloprost clathrate with retarded theophylline and enteric coated



- diclofenac after single and repeated premedication in healthy volunteers. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol.* 1993; 31 (8): 407-14.
31. Hengen N. Effects of codeine phosphate on the bioavailability of diclofenac Na from a fixed combination [abstract 400]. *Arch Pharmacol.* 1985; 329.
  32. Chamouard JM, Barre J, Urien S, Houin G, Tillement JP. Diclofenac binding to albumin and lipoproteins in human serum. *Biochemical pharmacology,* 1985;34(10):1695-1700.
  33. Chan KK, Vyas K H, Brandt KD. In vitro protein binding of diclofenac sodium in plasma and synovial fluid. *Journal of pharmaceutical sciences.* 1987;76(2):105-108.
  34. Fowler P D, Shadforth M F, Crook, P R, John VA. Plasma and synovial fluid concentrations of diclofenac sodium and its major hydroxylated metabolites during long-term treatment of rheumatoid arthritis. *European journal of clinical pharmacology.* 1983;25(3):389-394.
  35. Zecca L, Ferrario P, Costi P. Determination of diclofenac and its metabolites in plasma and cerebrospinal fluid by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications.* 1991;567(2):425-432.
  36. Scholer DW, Ku EC, Boettcher I, Schweizer A. Pharmacology of diclofenac sodium. *Am J Med.* 1986;28(80):34-8.
  37. Stierlin H, Faigle J W, Sallmann A, Kung W, Richter WJ, Kriemler HP ve ark. Biotransformation of diclofenac sodium (Voltaren®) in animals and in man: I. Isolation and identification of principal metabolites. *Xenobiotica.* 1979;9(10):601-610.
  38. Leemann, T, Transon, C, Dayer, P. Cytochrome P450TB (CYP2C): a major monooxygenase catalyzing diclofenac 4'-hydroxylation in human liver. *Life sciences.* 1993;52(1):29-34.

39. Menasse R, Hedwall PR, Kraetz J, Pericin C, Riesterer L, Sallmann A ve ark. Pharmacological properties of diclofenac sodium and its metabolites. *Scandinavian Journal of Rheumatology*. 1978;7(sup22):5-16.
40. Degen, P. H., Dieterle, W., Schneider, W., Theobald, W., & Sinterhauf, U.. Pharmacokinetics of diclofenac and five metabolites after single doses in healthy volunteers and after repeated doses in patients. *Xenobiotica*. 1988;18(12):1449-1455.
41. Landsdorp D, Vree TB, Janssen T J, Guelen PJ. Pharmacokinetics of rectal diclofenac and its hydroxy metabolites in man. *International journal of clinical pharmacology, therapy, and toxicology*. 1990;28(7):298-302.
42. Jarrar YB, Jarrar Q, Abed A, Abu-Shalhoob M. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the expression of arachidonic acid-metabolizing Cyp450 genes in mouse hearts, kidneys and livers. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2019: 141;14-21.
43. Kothari HV, Lee WH, Ku EC. An alternate mechanism for regulation of leukotriene production in leukocytes: studies with an anti-inflammatory drug, sodium diclofenac. *Biochim Biophys Acta*. 1987; 921:502-11.
44. O'Neill LA, Lewis GP. Inhibitory effects of diclofenac and indomethacin on interleukin-1-induced changes in PGE2 release. A novel effect on free arachidonic acid levels in human synovial cells. *Biochem Pharmacol*. 1989; 38:3707-11.
45. Orido T, Fujino H, Hasegawa Y, Toyomura K, Kawashima T, Murayama T. Indomethacin decreases arachidonic acid uptake in HCA-7 human colon cancer cells. *J Pharmacol Sci*. 2008;108: 389-92.
46. Gan TJ. Diclofenac: an update on its mechanism of action and safety profile. *Current medical research and opinion*. 2010;26(7):1715-1731.
47. Ferreira SH, Nakamura M. I – Prostaglandin hyperalgesia, a cAMP/Ca<sup>2+</sup> dependent process. *Prostaglandins*. 1979;18: 179-90.

48. Burian M, Geisslinger G. COX-dependent mechanisms involved in the antinociceptive action of NSAIDs at central and peripheral sites. *Pharmacol Ther.* 2005;107: 139-54.
49. Warner TD, Giuliano F, Vojnovic I, et al. Nonsteroid drug selectivities for cyclooxygenase- 1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: a full in vitro analysis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999; 96:7563-8.
50. EMA (The European Medicines Agency). [https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/cvmp-assessment-report-under-article-303-regulation-ec-no-726/2004-risk-vultures-other-necrophagous-bird-populations-european-union-connection-use-veterinary\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/cvmp-assessment-report-under-article-303-regulation-ec-no-726/2004-risk-vultures-other-necrophagous-bird-populations-european-union-connection-use-veterinary_en.pdf). 11 December 2014 EMA/CVMP/721170/2014 (Erişim tarihi: 06.06.2022).
51. Brambilla G, Martelli A. Update on genotoxicity and carcinogenicity testing of 472 marketed pharmaceuticals. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research.* 2009;681(2-3):209-229.
52. Brambilla G, Martelli A. Genotoxicity and carcinogenicity studies of analgesics, anti-inflammatory drugs and antipyretics. *Pharmacol Res.* 2009; 60(1):1-17.
53. Liu X, Lee J, Ji K, Takeda S, Choi, K. Potentials and mechanisms of genotoxicity of six pharmaceuticals frequently detected in freshwater environment. *Toxicology letters.* 2012;211(1):70-76.
54. Vyas A, Purohit A, Ram H. Assessment of dose-dependent reproductive toxicity of diclofenac sodium in male rats. *Drug and chemical toxicology.* 2019;42(5):478-486.
55. Altındağ F, Rağbetli M Ç. The effect of maternal treatment with diclofenac sodium and thymoquinone on testicular parameters in rat offspring. *Revista Internacional de Andrología.* 2019.
56. [https://www.drugs.com/pregnancy/diclofenac.html#ref\\_pregnancy](https://www.drugs.com/pregnancy/diclofenac.html#ref_pregnancy) (Erişim Tarihi 31.01.2020).

57. Chan LY, Chiu PY, Siu SS, Lau TK. A study of diclofenac-induced teratogenicity during organogenesis using a whole rat embryo culture model. *Hum Reprod.* 2001 Nov;16(11):2390-3.
58. Elibol B, Oğur B, Doğru H. Prenatal exposure of diclofenac sodium alters the behavioral development of young Wistar rats. *Turkish Journal of Biology.* 2019;43(5):305-313.
59. Gökçimen A, Aydın G, Karaöz E, Malas MA, Öncü M. Effect of diclofenac sodium administration during pregnancy in the postnatal period. *Fetal diagnosis and therapy.* 2001;16(6):417-422.
60. NIH, 2021. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK501800/#top>. Drugs and Lactation Database (LactMed). Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2006. (Erişim tarihi: 15 Şubat 2021).
61. Sioufi A, Stierlin H, Schweizer A, Botta I, Degen PH, Theobald W ve ark. Recent findings concerning clinically relevant pharmacokinetics of diclofenac sodium. *Voltaren—New Findings*, eds Käss EH. Bern, Stuttgart, Vienna: Huber Publishers. 1982:19-30.
62. <https://www.rxlist.com/voltaren-drug.htm#clinpharm>(Erişim Tarihi 31.01.2020).
63. Aydın G, Gökçimen A, Öncü M, Çicek E, Karahan N, Gökalp O. Histopathologic changes in liver and renal tissues induced by different doses of diclofenac sodium in rats. *Turkish journal of veterinary and animal sciences.* 2003;27(5):1131-1140.
64. Netter P, Lambert H, Larcen A, Godbillon J, Gosset G. Diclofenac sodium-chlormezanone poisoning. *European journal of clinical pharmacology.* 1984;26(4): 535-536.
65. Smolinske SC, Hall AH, Vandenberg SA, Spoerke DG, McBride PV. Toxic effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in overdose. *Drug Safety,* 1990;5(4):252-274.
66. International Agency for Research on Cancer. Cisplatin; In Some Antineoplastic and Immunosuppressive Agents, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Lyon, France: IARC. 1981; 26: 151-164.

67. Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol.* 2014; 740: 364-378.
68. Frezza M, Hindo S, Chen D, Davenport A, Schmitt S, Tomco D ve ark. Novel metals and metal complexes as platforms for cancer therapy. *Curr Pharm Des.* 2010;16(16):1813-1825.
69. Rosenberg BH, Vancamp L, Trosko JE, Mansour VH. Platinum Compounds: A New Class of Potent Antitumour Agents. *Nature.* 1969; 222:385-386.
70. Lippert B. *Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug.* New York, USA: Wiley-VCH; 2006.
71. Dasari S, Njiki S, Mbemi A, Yedjou CG, Tchounwou PB. Pharmacological Effects of Cisplatin Combination with Natural Products in Cancer Chemotherapy. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(3): 1532.
72. Torres LS. *Cancer Drug Resistance Research Perspectives.* New York: Nova Science Publishers; 2007.
73. Zhu H, Luo H, Zhang W, Shen Z, Hu X, Zhu X. Molecular mechanisms of cisplatin resistance in cervical cancer. *Drug Des Devel Ther.* 2016; 10: 1885-1895.
74. Aldossary S. A. Review on Pharmacology of Cisplatin: Clinical Use, Toxicity and Mechanism of Resistance of Cisplatin. *Biomed Pharmacol J* 2019;12(1).
75. Ghosh S. Cisplatin: The First Metal Based Anticancer Drug. *Bioorganic Chemistry.* 2019;88: 102925.
76. Barabas K, Milner R, Lurie D, Adin C. Cisplatin: a review of toxicities and therapeutic applications. *Veterinary and Comparative Oncology.* 2008; 6(1):1-18.
77. O'Dwyer P J, Stevenson J P, Johnson S W. Clinical Pharmacokinetics and Administration of Established Platinum Drugs. *Drugs.* 2000; 59(4): 19-27.
78. Alder N A. Preclinical Studies. Prestayko A W. *Cisplatin: Current Status and New Developments.* USA: Academic Press; 1980.
79. Go R S, Adjei A A. Review of the Comparative Pharmacology and Clinical Activity of Cisplatin and Carboplatin. *J Clin Oncol.* 1999; 17(1): 409-22.
80. Budavari S. *The Merck index, an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals.* 11th ed. Rahway, New Jersey: Merck and Co; 1989.

81. [https://cdn.pfizer.com/pfizercom/products/material\\_safety\\_data/PZ01470.pdf](https://cdn.pfizer.com/pfizercom/products/material_safety_data/PZ01470.pdf). Pfizer; Cisplatin Injection Material Safety Data Sheet (Erişim Tarihi: 22.05.2022)
82. Loehrer P J, Einhorn L H. Cisplatin. *Annals of Internal Medicine*. 1984; 100(5): 704-713.
83. Dugbartey G J, Peppone L J, Graaf I A M. An integrative view of cisplatin-induced renal and cardiac toxicities: Molecular mechanisms, current treatment challenges and potential protective measures. *Toxicology*. 2016; 371: 58-66.
84. Rahimi A, Asadi F, Rezghi M, Kazemi S, Soorani F, Memariani Z. Natural products against cisplatin-induced male reproductive toxicity: A comprehensive review. *J Biochem Mol Toxicol*. 2021;36(3):e22970.
85. Hartmann JT, Lipp HP. Toxicity of platinum compounds. *Expert Opin Pharmacother*. 2003;4(6):889-901.
86. Boyd A, Cowie V, Gourley C. The use of cisplatin to treat advanced-stage cervical cancer during pregnancy allows fetal development and prevents cancer progression: report of a case and review of the literature. *Int J Gynecol Cancer*. 2009; 19(2):273-6.
87. ATCC (American Type Culture Collection): The Global Bioresource Center. [Erişim tarihi 3 Ocak 2017]. Erişim adresi: [https://www.lgcstandards-atcc.org/?geo\\_country=tr](https://www.lgcstandards-atcc.org/?geo_country=tr).
88. Masters JR. HeLa cells 50 years on: the good, the bad and the ugly. *Nature Reviews Cancer*. 2002;2:315-9.
89. Becit, M. Pknogenol ve kurkuminin çeşitli kanser hücre hatlarında cisplatin sitotoksitesine etkilerinin incelenmesi. [Yüksek lisans tezi] Ankara: Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2017.
90. Mossman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*. 1983;65(1-2):55-63.
91. Hansen CH, Brünner N. MTT-cell proliferation assay. *Cell Biology: a Laboratory Handbook*. 2nd Ed. Academic Press. San Diego. 1998.

92. Liu Y, Peterson DA, Kimura H, Schubert D. Mechanism of cellular 3-(4, 5-dimethylthiazol 2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction. *Journal of Neurochemistry*. 1997;69(2):581-593.
93. Bozimowski, G. A Review of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs. *AANA journal*. 2015: 83(6).
94. Pantziarka P, Sukhatme V, Bouche G, Meheus L, Sukhatme VP. Repurposing Drugs in Oncology (ReDO)-diclofenac as an anti-cancer agent. *Ecancermedicalsecience*. 2016;11(10):610.
95. Cortina P, Gómez-Lechón M. J, Navea A, Menezo J. L, Terencio M. C, Diaz-Llopis M. Diclofenac sodium and cyclosporin A inhibit human lens epithelial cell proliferation in culture. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology*.1997;235(3):180-185.
96. Alok A, Adhikari J. S, Chaudhury N K. Radioprotective role of clinical drug diclofenac sodium. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 2013;755(2):156-162.
97. Wu, N, Du Z. Inhibitory effect of diclofenac sodium on the proliferation of rabbit corneal epithelial cells in vitro. *Yan ke xue bao= Eye science*. 2010;25(2):107-110.
98. Al-Nimer M SM, Hameed H G, Mahmood M M. Antiproliferative effects of aspirin and diclofenac against the growth of cancer and fibroblast cells: In vitro comparative study. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2015; 23: 483–486.
99. Endo H, Yano M, Okumura Y, Kido H. Ibuprofen enhances the anticancer activity of cisplatin in lung cancer cells by inhibiting the heat shock protein 70. *Cell Death & Disease*. 2014;5(1):1027.
100. Robledo-Cadena D X, Gallardo-Pérez J C, Dávila-Borja V, Pacheco Velázquez S C, Belmont-Díaz J A, Ralph S J ve ark. Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs Increase Cisplatin, Paclitaxel, and Doxorubicin Efficacy aganist Human Cervix Cancer Cells. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2020; 15:13(12):463.


- 101.** Dong H, Liu G, Jiang B, Guo J, Tao G, Yiu W ve ark. The effects of aspirin plus cisplatin on SGC7901/CDDP cells in vitro. *BIOMEDICAL*. 2014; 2: 344-348.
- 102.** Okamoto K, Ueda H, Saito Y, Narumi K, Furugen A, Kobayashi M. Diclofenac potentiates the antitumor effect of cisplatin in a xenograft mouse model transplanted with cisplatin-resistant cells without enhancing cisplatin-induced nephrotoxicity. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2021; 41:100417.
- 103.** Okamoto K, Ueda H, Saito Y, Narumi K, Furugen A, Kobayashi M. Anticancer effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs against cancer cells and cancer stem cells. *Toxicology in Vitro*. 2021; 74: 105155.



## 8. EKLER

### Ek-1

### DİJİTAL MAKBUZ




## Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen:	Fundanur Avdan
Ödev başlığı:	SERVİKS KANSER HÜCRELERİNDE DİKLOFENAK SODYUMUN S...
Gönderi Başlığı:	SERVİKS KANSER HÜCRELERİNDE DİKLOFENAK SODYUMUN S...
Dosya adı:	Fundanur_Avdan-Metin_Benzerlik_16.09.2022.pdf
Dosya boyutu:	982.73K
Sayfa sayısı:	71
Kelime sayısı:	15,339
Karakter sayısı:	102,561
Gönderim Tarihi:	16-Eyl-2022 11:46ÖÖ (UTC+0300)
Gönderim Numarası:	1901181154



Copyright 2022 Turnitin. Tüm hakları saklıdır.

Ek-2

## Tez Çalışması Orjinallik raporu

SERVİKS KANSER HÜCRELERİNDE DİKLOFENAK SODYUMUN  
SİSPLATİN SİTOTOKSİSİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
İNCELENMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

<b>%8</b>	<b>%8</b>	<b>%2</b>	<b>%</b>
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	<b>dspace.gazi.edu.tr</b> İnternet Kaynağı	<b>%2</b>
<b>2</b>	<b>docplayer.biz.tr</b> İnternet Kaynağı	<b>%1</b>
<b>3</b>	<b>acikbillim.yok.gov.tr</b> İnternet Kaynağı	<b>%1</b>
<b>4</b>	<b>www.drugs.com</b> İnternet Kaynağı	<b>%1</b>
<b>5</b>	<b>acikerisim.nku.edu.tr</b> İnternet Kaynağı	<b>&lt;%1</b>
<b>6</b>	<b>adumilas.adu.edu.tr</b> İnternet Kaynağı	<b>&lt;%1</b>
<b>7</b>	<b>pillintrip.com</b> İnternet Kaynağı	<b>&lt;%1</b>
<b>8</b>	<b>openaccess.iste.edu.tr</b> İnternet Kaynağı	<b>&lt;%1</b>

adudspace.adu.edu.tr:8080

## 9. ÖZGEÇMİŞ

### I. Bireysel Bilgiler

**Adı-Soyadı:** Fundanur Avdan