

CYCLOPHOSPHAMID'İN İN VİVO KULLANIMINDAKİ KOMPLİKASYONLARININ B₁₂ VİTAMİNİ TARAFINDAN ÖNLENMESİ HAKKINDA EKSPERİMENTAL BİR ÇALIŞMA

Dr. İsmail Kara (x)

Dr. Hasan Gacar (xx)

ÖZET

Cyclophosphamid'in B₁₂ vitamini ile olan ilgisini araştırmak amacı ile 30 tavşan üzerinde yaptığımız çalışmada, 10 tanesi kontrol grubu olarak ayrıldı. Geriye kalan 20 tavşan 10'arlık iki gruba ayrılarak birinci gruba 7 gün müddetle 60/mg/kg Cyclophosphamid İ.P. olarak verildi. Enjeksiyonlardan evvel ve sonra deney hayvanlarının kulak venlerinden kan alınarak lökosit ve eritrosit sayımı yapıldı. İkisi arasındaki farklar kaydedildi.

İkinci grup deney hayvanlarına ise, birinci gruba olduğu gibi 7 gün müddetle 60 mg/kg¹ cyclophosphamid İ.P. olarak verildi. Cyclophosphamid ile birlikte 7 gün müddetle kulak veninden 10 mikrogram dozda B₁₂ vitamini İ.V. enjekte edildi. Enjeksiyondan önce ve sonraki alınan kandaki lökosit ve eritrosit sayımı yapılarak ikisi arasındaki farklar kaydedildi.

Bulgular yabancı ve yerli yayındakilerle mukayese edilerek, benzerlik ve farklılıklar araştırıldı.

GİRİŞ

Günümüzde insan sağlığını tehdit eden hastalıklardan en önemlisi ve yakalandığında ölüme kadar götürmesi nedeniyle en tehlikeli olanı şüphesizki kanser ve benzeri neoplastik hastalıklardır.

Enfeksiyon hastalıklarının antibiyotik ve kemoterapötik ilaçlarla tedavisinde başarılar sağlandıktan sonra birçok araştırmacılar neoplastik hastalıkların tedavisinde başarılar sağlandıktan sonra, araştırmacılar neoplastik hastalıkların tedavisine yönelik araştırmalar yapagelmektedirler (1,2,3,4). Fakat şimdiye kadar yapılan

(x) Atatürk Ü. Tıp Fakültesi Farmakoloji ve Tedavi Kürsüsü Dr. Asis.

(xx) A. Ü. Tıp Fakültesi Farmakoloji ve Tedavi Kürsüsü Profesörü ve Kürsü Başkanı

çalışmalar enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde elde edilen parlak neticeler kadar başarı sağlayamadı. Zira enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılan ilaçlar enfeksiyon ajanı mini canlıların metabolizmasına müdahale ederek onların üremesini durduruyor, yada onları öldürüyor. Bu ilaçlar insan hücrelerinin metabolizmasına, fonksiyonun morfolojisine, ya hiç yada az etki ederek, az zararlı ve yüzde oranı önemsiz oluyordu.

Kanser ve diğer malign hastalıklarda, sürekli çoğalan tümör hücreleri ise orijini normal vücut hücresi ve dokularından almaktadır. Tümör hücrelerinin metabolizmaları az çok farklarla insanın normal hücrelerine benzemektedir. Bu nedenle tümör hücrelerinin metabolizmalarına etki ederek onların ölümüne veya çoğalmasına engel olan kemoterapötik maddeler, normal vücut hücrelerinin metabolizmasında bozarak zararlı ciddi toksik etkiler yapabilmekte ve neoplastik hastalıkların tedavisinde yapılan çalışmalar başarısız kalmaktadır.

Son senelerde malign hastalıkların tedavisinde ilaçların, verildiğinde görülen yan etkilerini ortadan kaldırmayı ve ilaç tesirinin direkt malign hücreye yöneltmek amacı ile kombine ilaçlarla beraber denemeler yapılmaktadır (5).

Bizde bu çalışmamızda bazı malign hastalıkların tedavisinde çok faydalı etkisi olan cyclophosphamid, üzerinde çalışırken var olan toksik etkilerinin de kısmen azaltmak amacı ile B₁₂ vitamini ile beraber vermeyi düşündük.

Bilindiği gibi Alkile edicilerle birlikte cyclophosphamid'in toksik ve yan etkilerinden önemli bir bölümü kanın şekilli elementleri ile bu kan hücrelerinin yapıldığı ve olgunlaştıkları sistemler üzerinde görülür. Toksik tesirlerle, yan tesirler bazı olgularda çok ciddi olup, hastaların, kullandığımız tedavi edici ilacın yaptığı etki sonucunda ağır bir tehlikeye girdiği görülür. Bu komplikasyon klinikçiler ve terapistler bakımından çok önemli bir sorundur.

Bu çalışmamızda bu tehlikeli komplikasyonun önceden önlenmesi için özellikle eritropoezde rolü olan B₁₂ vitamininin ne derece cyclophosphamid'in toksik etkilerini önleyebileceğini değerlendirmek istedik.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Araştırmamızda kullanılan 30 adet tavşan Ankara Hifzısıha orijinli olup, Kendi Enstitümüzde ürettiğimiz her iki seksten tavşanlardı. Vücut ağırlıkları 1.5-2 kg. ağırlığında olup 12 aylık sıhhatli normal beslenme şartlarında geliştirilmiş deney hayvanlarını teşkil ediyordu.

Deneye giren 30 tavşanı 10'ar adetlik gruplar halinde 3 grup halinde topladık. Birinci grup kontrol grubu olarak ayrıldı. Bu gruba sadece cyclophosphamid'in eritildiği tampon solüsyon İ.P. olarak verildi. İkinci grup 10 tavşana ise 7 gün süreyle 5 ml serum fizyolojik içinde 60 mg/kg dozunda İ.P. olarak cyclophospha-

mid verildi. Üçüncü grup 10 tavşana ise ikinci gruptaki tavşanlarda olduğu gibi cyclophosphamid verildi ve cyclophosphamid verildikten hemen sonra İ.V. olarak 10 mikrogram B12 vitamini 7 gün müddetle aynı saatlerde enjekte edildi. Bu işlemler tamamlandıktan sonra 30 tavşanın her birinden kulak venlerinden 0.8 ml. kan alınarak sıtrath şişelere kondu ve hemen lökosit ve eritrosit sayımları yapıldı.

BULGULAR

Deneye tabi tutulan 30 tavşan 10'ar adetlik gruplar halinde 3 grup halinde toplandı.

Cyclophosphamid verilen birinci grup deney hayvanları morfolojik olarak tetkik edildiğinde, günlük yiyeceklerini yemede bir isteksizlik ve daha sonraki günlerde ise yemlerini yemedikleri ve sularını içmedikleri görüldü. Hayvanlarda bir arada toplanmalar, hallerinde durgunluk ve ufak bir seste sıçramalar tespit edildi. Deney hayvanlarını deney sonucunda tarttığımızda vücut ağırlıklarında bir azalma tesbit edildi.

İkinci grup deneylerde, B₁₂ vitamini ile cyclophosphamid verdiğimiz deney hayvanlarının enjeksiyonunun bitiminde tarttığımızda daha önce tesbit ettiğimiz vücut ağırlıklarını muhafaza ettiği ve birinci grupta görülen diğer morfolojik bulguların bunlarda görülmediği tesbit edildi.

Cyclophosphamid verilen birinci grup tavşanların lökosit ve eritrosit sayıları tetkik edildiğinde, ilaç verilmeden önce yapılan sayımlara oranla mm³ de 600-2000 arasında lökositte bir azalma, eritrosit sayısında mm³ de 900 000-3 000 000 arasında bir düşme tesbit edildi. Bu sayımlarla ilgili kıyaslama Tablo-I de gösterilmiştir.

Cyclophosphamid'in B₁₂ vitamini ile verilmesine takiben yapılan kan sayımlarında lökositte m³ de 400-1000 arasında bir azalma, bazı deney hayvanlarında ise 400-2000 arasında bir artmanın olduğu tesbit edildi. Eritrositte ise mm³ de 500 000-1 000 000 arasında bir azalma, keza bazı hayvanlarda ise 400 000-1.500 000 arasında bir artmanın olduğu saptandı.

Bu olguların toplu olarak değerlendirilmesini yapacak olursak, 14 tavşanda lökositlerdeki azalmaya karşılık 4 deney hayvanında bir artma saptandı, eritrositlerdeki durum ise 13 hayvanda bir azalma ve 5 deney hayvanında artma tesbit edildi. Diğer iki tavşanda teknik nedenlerle sayım yapılamadı. Bunlara ait bilgiler Tablo- II' de gösterilmiştir.

Tablo: 1- Endoxan Verilmeden Önce ve Sonraki Lökosit, Eritrosit Mukayesesi

Sıra No:	Tavşan Tecrübeye Başlamadan Önce Alınan Kanda:		60 mg/kg i.P. Cyclophosphamide		Tecrübedeki Deney Hayvanında Alınan Kanda			Fark						
	Lökosit	Eritrosit	16.1.74	17.1.74	18.1.74	19.1.74	20.1.74	21.1.74	22.1.74	Tarih	Lökosit	Eritrosit	Lökosit	Er. İrosi
1.	6.800	4.640.000	+	+	+	+	+	+	+	23.1.1974	—	—	—	—
2.	3.400	5.000.000	+	+	+	+	+	+	+	"	1.400 (-)	3.160.000(-)	2.000	1.840.000
3.	5.600	6.750.000	+	+	+	+	+	+	+	"	600 (-)	2.300.000(-)	5.000	4.450.000
4.	3.500	4.530.000	+	+	+	+	+	+	+	"	1.100 (-)	3.240.000(-)	2.400	1.290.000
5.	5.000	4.100.000	+	+	+	+	+	+	+	"	1.300 (-)	3.200.000(-)	3.700	900.000
6.	4.800	4.840.000	+	+	+	+	+	+	+	"	1.300 (-)	3.100.000(-)	3.500	1.740.000
7.	3.200	3.500.000	+	+	+	+	+	+	+	"	2.500 (-)	3.000.000(-)	700	500.000
8.	3.000	4.180.000	+	+	+	+	+	+	+	"	2.300 (-)	2.860.000(-)	2.700	1.320.000
9.	4.700	4.000.000	+	+	+	+	+	+	+	"	—	—	—	—
10.	5.200	6.900.000	+	+	+	+	+	+	+	"	1.200 (-)	3.400.000(-)	4.000	3.500.000

Tablo II- Endoxan verilmeden önce ve Endoxan B₁₂ Vitamini Verildikten Sonraki Lökosit Eritrosit Mukayesesi

Sıra No:	Yaşan Tecrübeye Başlamadan önce Alınan Kanda		10 Mikrogram B ₁₂ İ.V. + 60 mg/kg Cyclophosphamide İ.P.				Tecrübede Deney Hayvanında Alınan Kanda			Fark Eritrosit
	Lökosit	Eritrosit	Tarih	Lökosit	Eritrosit	Lökosit	Eritrosit	Lökosit		
1.	3.300	5.540.000	18.2.74	2.900	2.900.000	400(-)	2.900.000	400(-)	2.640.000(-)	
2.	5.600	3.860.000	17.2.74	6000	4.040.000	400(+)	4.040.000	400(+)	180.000(+)	
3.	5.200	4.780.000	16.2.74	7000	5.558.000	1.800(+)	5.558.000	1.800(+)	778.000(+)	
4.	5.200	5.000.000	15.2.74	2600	4.300.000	600(-)	4.300.000	600(-)	700.000(-)	
5.	3.000	5.410.000	14.2.74	6.000	8.030.000	3.000(+)	8.030.000	3.000(+)	2.620.000(+)	
6.	3.600	4.620.000	13.2.74	1.600	2.600.000	2.000(-)	2.600.000	2.000(-)	2.020.000(-)	
7.	3.800	3.560.000	12.2.74	2.400	3.000.000	1.400(-)	3.000.000	1.400(-)	560.000(-)	
8.	6.700	4.550.000		5.600	3.200.000	1.100(-)	3.200.000	1.100(-)	1.350.000(-)	
9.	4.200	4.270.000		3.500	6.560.000	700(-)	6.560.000	700(-)	2.290.000(+)	
10.	4.800	3.750.000		7.000	4.150.000	2.200(+)	4.150.000	2.200(+)	4.000.000(+)	

TARTIŞMA

Hücrede dezoksiribonükleik asidi (DNA)'yı alkile ederek hücre bölünmesini durduran, özellikle bu etkisini neoplastik hastalıklarda süratle çoğalan hücrelerde gösteren ilâçlar içinde cyclophosphamid'in özel bir yeri olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından saptanmıştır. Klinikte ve araştırmalarda benzer sitotoksik ilâçlar için de önemli üstünlüklere sahip olan cyclophosphamid'in güçlü güvenilir terapötik etkileri yanında ciddi toksik etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Biz bu araştırmamızda Cyclophosphamid'in tavşanlar üzerinde lökosit ve eritrositlerin yapımını ve olgunlaşmasında B₁₂ vitamini arasındaki ilişkileri tesbit etmeye çalıştık.

Birinci gurup hayvanlarda cyclophosphamid verildikten sonra kulak ve ninden alınan kanda sayım yapıldığında, lökosit ve eritrositlerin sayısında bariz bir azalmanın olduğu tesbit edildi. Burada cyclophosphamid nükleik asid sentezi üzerine etki etmekte kan levhası üzerinde bir lökopeni şeklinde tezahür etmektedir.

Literatürde CHR. Roth (6)'da sıçarlara 30 mg/kg cyclophosphamid'i İ.V. olarak 11 gün müddetle vermiştir. Beyaz küre hücrelerinde % 54 oranında düşmenin olduğunu tesbit etmiştir. Aynı doz 5 gün tekrar verildiğinde beyaz küre hücrelerinin depresyona uğradığını göstermiştir. Sıçarlara 30-110 mg/kg dozlar arasında I.P. olarak 4 hafta müddetle verdiği beyaz küre hücrelerinin yukarıdaki % 65 civarında olduğunu tesbit etmiştir.

Biz birinci grup deney hayvanlarında, tavşanlarda verdiğimiz cyclophosphamid'den sonra alınan kanda lökositlerin mm³ te 600-2000 civarında düştüğünü tesbit ettik. V. Gimenez Tebar ve arkadaşları (8) ve W.G. Thurman ve arkadaşları (9) da yaptıkları araştırmalar da cyclophosphamid kullanıldığında lökopeninin mm³ de 200-2500 civarında olduğunu tesbit etmişlerdir. Diğer bir araştırmacı G. Gaprio ve arkadaşları (7) da yaptıkları tecrübelerde lökositlerin 200-1000 civarında düştüğünü tesbit etmişlerdir. Araştırmacıların bulmuş olduğu bu bulgular bizim deney hayvanlarında bulduğumuz bulgulara uymakta olup aradaki fark verilen dozla ilgilidir. İkinci gurup deney hayvanlarında cyclophosphamid ile birlikte B₁₂ vitamini verdiğimiz, enjeksiyondan önce ve sonra hayvanlardan alınan kanda: Deneye tabi tutulan 10 tavşanın 6 sında lökositte mm³ te 400-1000 arasında bir azalma, 4 deney hayvanında da mm³ de 400-2000 arasında bir artma, eritrositte mm³ te 5 deney hayvanında 400 000-1500 000 arasında bir artmanın olduğu tesbit ettiğimiz olgulardandı.

N. Moller B-livenkrona (10) da köpekler üzerinde yaptığı tecrübeye cyclophosphamid verdiği deney hayvanlarında kemik iliğinde depresyon tesbit etmiş ve bu depresyonun B₁₂ vitamini vermek suretiyle ortadan kaldırmıştır.

Diğer taraftan W. Gimenez ve arkadaşları (8) ve keza H. Saitmacher (11) de yaptıkları araştırmalarda, B₁₂ vitamini ve folik asid vermekle ortadan kaldırmışlardır.

İ. Kantemir (12) fareler üzerinde yaptığı araştırmada, cyclophosphamid in tek başına ve B₁₂ vitamini verildiği zaman lökosit ve eritrositlerde bulmuş olduğu bulgular bizim bulmuş olduğumuz bulguları teyid etmektedir. Cyclophosphamid genel olarak yüksek ve toksik dozlarda, kemik iliğinde aşıkâr depresyon yapmaktadır. Depresyona bağlı kan hücrelerinin sayısında azalmalar görülmektedir. Bizim bulgularımızda da saptadığımız gibi bazı hayvanlarda kan hücrelerinin sayısında azalma yerine aksine artma görülmektedir. Bunun kısa süreli ön uyarıya bağlı bir bulgu mu olduğu henüz aydınlatılmamıştır. Biz bu hususta bir karara varamadık. Bu konuda yapılacak araştırmalar koruyucu aydınlatılacağı kanısındayız.

SONUÇ

I. Literatürde B₁₂ vitamininin cyclophosphamid'in kemik iliği ve kan hücreleri üzerindeki toksik etkilerini önleyebildiğine dair az da olsa birkaç araştırma mevcuttur.

II. B₁₂ vitamini ile cyclophosphamid arasındaki bizim bulgularımızla literatür bulguları arasındaki farklılığın neden ileri geldiğini aydınlatılması için bu konuda ileride yapılacak daha çok sayıdaki çeşitli araştırmalarla ortaya konulabileceği kanısındayız.

III. Neoplazik hastalıkların tedavisinde çok değerli bir ilaç olan cyclophosphamid'in çok ciddi toksik tesirlerindeki olduğunun düşünülmesi ve tedavi altındaki hastalarda sık sık toksik etkilerine ait klinik ve laboratuvar tetkikleriyle tedavinin kontrollü şekilde uygulanması faydalı olacağı kanısında olup, profilaktik olarak B₁₂ vitaminine fazla güvenilmemesi uygun olur kanısındayız.

SUMMARY

(The experimental study, in order to research the relation between cyclophosphamide and B₁₂ vitamine).

This study was alone, in order to research the relation between cyclophosphamide and B₁₂ vitamin. We used 30 rabbits including 10 controls. The first group 10 rabbits were injected 60 mg/kg cyclophosphamide İ.P. daily for seven days. Red blood cells and white blood cells were count before and after injections, and recorded.

The second group animale were injected with 60 mg/kg cyclophosphamide İ.P. and 10 microgram B₁₂ vitamin İ.V. daily for 7 days and were count before and after injections, and recorded.

The findings were discussed with Turkish and other literatures

KAYNAKLAR

1. Gilman, A. The initial clinical trial of nitrogen mustard, A.M.J. Surg., 1963, 105, 574-578.
2. Rhoads, C. P., Nitrogen Mustards in treatment of neoplastic disease. Official statement, J. Am. Med. Ass. 1946, 131, 656-658.
3. Goth, A., (Tercüme): Kaymakçalan, Ş., Kayaalp, S. O. ve Burhan K. Kıran, Tıbbi Farmakoloji, prensipler ve kavramlar. A.Ü. Tıp Fakültesi, 1971, 708-711-598-602.
4. Goodman, Louis S., The Pharmacological Basis of Therapeutics. Fourth Edition. 1970, 1356-1357.
5. Aranstein, H.R.V.,: Metabolic function of vitamin B₁₂, Proc. Internal. Cong. Biochem, 4 th. cong. Vienna, 1959, 11: 286-301.
6. Roth CHR., : Studies on leucopenia occurring during cytostatic treatment. Medical Unit of Münster University Hospital, 1963. Lubeck.
7. Carprio. G., Pellegis G., and Dipetro S., The behavior of the blood picture of patients during treatment with high doses of cyclophosphamide and autotransplantation of bone marrow. Milan/Italy. Meamatto. Arch. 48. 1963, 349-360.
8. Gemenez Tebar V., and Jimeno Garcia J.M., Clinical case ovarian carcinoma Department of obstetrics and gynaecology of the hospital de San Carlos Madrid/Spain. Pract. Med-quir. Intern. (Barcelona). 7.1965. 32: 5-10.
9. Thurman, N. G., Fernbach D. j., Sullivan M. P., and the editorial staff of the pediatric Unit of the south west cancer chemotherapy study group. Houston, Tex/USA. Cyclophosphamide treatment in neuroblastoma of children New Eng. j. Med. 270. 1964. 336-340.
10. Blivenkrone-Moller. N.-endoxan Asta Chemotherapy given in relation to dog operations for cancer of the abdominal organs. Department of surgery of the Kommune. Hospital Aarhus, Denmark. Acta. Chir. Scandinav. 119, 1960, 389-396.
11. Saitmacher H., Radiological Unit Marburg University Hospital, Clinical Report on new cytostatic preparation (Endoxan), strahlent her, 107, 1958, 94-111.
12. Kantemir İ., Cyclophosphamide'e karşı farelerin tahammülü. A.Ü. Tıp Fakültesi Mecmuası, Sayı. IV. 1965, 778-797.