

Doksorubisinin Ekstraoküler Adaledeki Etkisi Üzerine Deneysel Bir Çalışma

Seyhan B. ÖZKAN *, Deniz CAN **, Atiia KAYA***, Hasan BİLGİLİ****, Hüseyin ÜSTÜN*****, Aysu K. ARSAN*****, Meltem F. SÖYLEV*****, Sunay DUMAN

ÖZET

Bazı şaşılık olgularında uygun ekstraoküler adalenin zayıflatılmasında etkisi kalıcı olan bir ajan gereksinimi ortaya çıkmaktadır. Bu amaçla antineoplastik bir antibiyotik olan doksorubisinin (DKR), köpek ekstraoküler adalesi üzerindeki etkisi araştırıldı. DKR enjekte edilen adalelerde meydana gelen histopatolojik değişiklikler kontrol grubu ile karşılaştırıldı. DKR'nin ekstraoküler adalede toksik hasar ile uyumlu değişikliklere yol açtığı, ancak atrofi gelişmediği gözlemlendi. Bu çalışmanın sonuçları "kemodenervasyon" için gereken daha yüksek dozların ekstraoküler adalede tolere edilemeyeceği ve DKR'in uygulanan dozlardaki etkisinin "kemomiyektomi" şeklinde olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Doksorubisin, Ekstraoküler adale, Kemodenervasyon, Kemomiyektomi

T Klin Oftalmoloji 1996, 5: 328-332

SUMMARY

AN EXPERIMENTAL STUDY ABOUT THE EFFECT OF DOXORUBICIN ON EXTRAOCULAR MUSCLE

In some cases of strabismus, weakening of the appropriate extraocular muscle with a permanent agent becomes necessary. For this purpose the effect of doxorubicin (DXR) -an antineoplastic antibiotic- on extraocular muscle was investigated. The histopathological changes in DXR injected muscles were compared with controls. It was demonstrated that DXR caused a toxic damage in extraocular muscle, whereas atrophy was not observed. The results of this study suggested that for the applied doses the effect of DXR was "chemomyectomy" and that higher doses for "chemodeneration" could not be tolerated in extraocular muscle.

Key Words: Chemodeneration, Chemomyectomy, Doxorubicin, Extraocular muscle,

T Klin J Ophthalmol 1996, 5 : 328-332

Geliş Tarihi: 20.12.1995

Giriş

Yard. Doç. Dr. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları ABD, AYDIN
** Op.Dr. S.B. Ankara Hastanesi Göz Kliniği Uzmanı,
Yard. Doç. Dr. A.Ü. Veterinerlik Fakültesi Cerrahi ABD,
**** Araş. Gör. A.Ü. Veterinerlik Fakültesi Cerrahi, ABD.
***** Dr. S.B. Ankara Hastanesi Patoloji Kliniği Şefi,
***** Op.Dr. S.B. Ankara Hastanesi Göz Kliniği Başasistanı,
***** Op.Dr. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları ABD, Öğr. Gör., İZMİR
***** Op. Dr. S.B. Ankara Hastanesi Göz Kliniği Şefi, ANKARA

Yazışma Adresi; Seyhan B. Özkan
Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi
Göz Hastalıkları Anabilim Dalı,
AYDIN

Ekstraoküler adalelerin tıbbi tedavi ile zayıflatılmasına yönelik çeşitli ajanlar denenmiş ve Scott'un (1) önerdiği botulinum A toksini (BTA) klinikte kullanım alanı bulmuştur. Günümüzde hem çocukluk çağı hem de erişkin yaş grubunda BTA çeşitli şaşılık tiplerinin tedavisinde başarılı olarak kullanılmaktadır. BTA'nın etkisinin geçici olması bazı olgularda avantaj oluştururken bazan da dezavantaj olarak karşımıza çıkmaktadır. Örneğin çeşitli nedenlerle cerrahi tedavi önerilmeyen kronik bir 6. sinir paralizisinde gözlerin doğrultusunu düzgün tutabilmek için tekrarlayan BTA enjeksiyonları gerekli olmaktadır (2). Bu da yapılan tedavinin ekonomik açıdan çok yüksek maliyetlere çıkmasına yol açmaktadır. Bu tip olgularda yani gözdeki kaymanın kontrolünün ancak antagonist adalenin total paralizi ile

mümkün olabildiği olgularda etkisi kalıcı olan bir ajan çözümü sağlayabilir.

Doksorubisin (DKR) akciğer, meme, tiroid, över tümörleri ve hematolojik malignansilerin tedavisinde kullanılan geniş spektrumlu bir antineoplastik antibiyotiktir (3). Nükleer DNA ve RNA ile bağlanıp nükleik asit ve protein sentezini inhibe eder, serbest radikallerin sentezini ve sarkoplazmik retikulumdan Ca salınımını engeller (4). DKR kuvvetli bir kardiomyotoksik ajandır (5). Bu toksisitenin iskelet kasını da etkilediği ve bunun, ilacın doku konsantrasyonunun bir sonucu olduğu deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (6,7). Sistemik olarak verildiğinde DKR'in gastrocnemius kasındaki konsantrasyonunun kardiyak kasın %17'si düzeyinde olduğu saptanmıştır (6).

DKR kemodenerjasyon ve kemomyektomi şeklinde etki eden ve retrograd aksonal transportu olan bir ajandır (8-11). Adale spazmına bağlı patolojilerde DKR'in kullanılabilirliğini araştırmak üzere çeşitli deneysel ve klinik araştırmalar yapılmıştır. Bu da oftalmolojide benign esansiyel blefarospazm ve hemifasiyal spazm üzerine olmuştur (6,7). DKR'in uygulama alanında adale hücre ölümüne, periferel duysal ve motor sinire enjeksiyonun ise nöronal hücre ölümüne yol açtığı gösterilmiştir (12,13).

Bu çalışmada DKR'in doza bağımlı olarak ekstraoküler adale üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

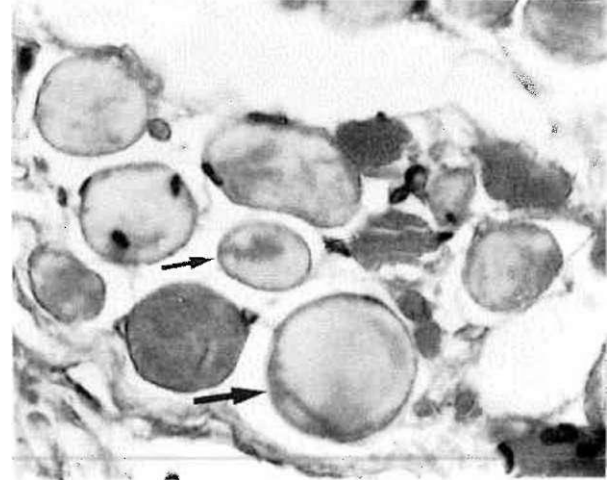
Gereç ve Yöntem

Deney hayvanı olarak 8 köpek kullanıldı. Her deneğin bir gözü enjeksiyon için, diğer gözü ise kontrol olarak kullanıldı. Sonuçların komşu doku invazyonundan etkilenmesini önlemek amacıyla her deneğin yalnızca bir ekstraoküler adalesine enjeksiyon uygulandı. DKR 1 ml'de 0.5mg olacak şekilde serum fizyolojik ile sulandırılarak 0.5 ile 1 mg arasında değişen dozlarda verildi. Hedef dokuya tam olarak ulaşabilmek amacıyla ketamin anestezisiyle konjonktiva diseksiyonu uygulandıktan sonra rektus adalesine ulaşıldı ve ilacın enjeksiyonu insülin enjektörü ile görüş altında uygulandı (şekil 1). Etraf dokuya ilacın bulaşması halinde bol serum fizyolojik ile irrigasyon yapıldı. Enjeksiyonun tendinöz sahanın arkasında, kas dokusu içine yapılmasına özen gösterildi. Konjonktiva 7/0 vicryl ile kapatıldı. Dört köpeğin diğer gözüne hiçbir enjeksiyon uygulanmadı. Diğer 4 köpeğin DKR yapılmayan gözünde bir rektus adalesine SF enjeksiyonu yapıldı.

Altı hafta beklendikten sonra köpekler feda edildi. Enjeksiyon yapılan ve kontrol gözlerdeki ekstraoküler adaleler mümkün olduğunca uzun kesilerek çıkarıldı.



Şekil 1. Konjonktiva diseksiyonundan sonra SR adalesine DKR enjeksiyonu.



Şekil 2. Normal köpek ekstraoküler adalesinde tekli (büyük okla işaretli) ve çoklu (küçük okla işaretli) innervasyon gösteren adale lifleri (x200).

Sekiz adet deney grubu, 8 adet kontrol grubuna ait materyal formol içinde tespitli olarak patoloji laboratuvarına gönderildi. Ekstraoküler kas materyalinden enine ve boyuna ikişer kesit alındı. Enjeksiyon bölgesi ve bunun arkasındaki bölge ayrı ayrı örneklendi. Alınan örnekler rutin takipten sonra parafine gömüldü ve 5 mikrometrelilik kesitler hazırlandı. Her kesite hematoxilen eozinden başka trikrom özel boyası uygulandı. Işık mikroskopisi ile yapılan patolojik incelemede kriter olarak sitoplazmik vaküolizasyon, miyofibriler organizasyon bozukluğu, nekrotik kas hücrelerinin varlığı hyalin fib-

DOKSORUBİSİNİN EKSTRAOKÜLER ADELEDEKİ ETKİSİ ÜZERİNE DENEYSEL BİR ÇALIŞMA

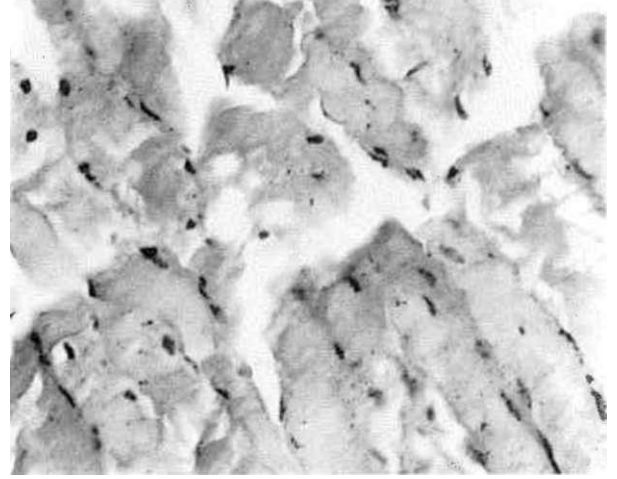
rillerin varlığı, fragmantasyon, disolüsyon, adale lifi boyutunda anormal varyasyon olması ve fibrozis kullanıldı. Herbir kriter 0 ile 3 arasında derecelendirildi. "0" normal kas dokusunu göstermekteydi.

Bulgular

Köpekler feda edildikten sonra ekstraoküler adalenin çıkarılması sırasında ikisi 0.5mg, biri ise 1 mg DKR uygulanmış olan 3 gözde ileri derecede yapışıklık olduğu gözlemlendi. Yine 0.5 mg ilaç enjekte edilmiş olan bir gözde ise ekstraoküler adale, şaşılık kroşesi takıldıktan sonra çok az bir çekme sonucunda kooptu.

Örneklerin patolojik değerlendirme sonuçları tablo 1'de özetlenmiştir. Serum fizyolojik verilmiş veya hiçbir ajanın enjekte edilmediği olgularda normal ekstraoküler adale morfolojisi gözlenmiştir. Örneklerin patolojik değerlendirme sonuçları Tablo 1'de özetlenmiştir. Hiçbir örnekte atrofi saptanmamıştır.

DKR enjekte edilen adalelerin tümünde miyofibril organizasyon bozukluğu olduğu ve bunun enjeksiyon sahasının arkasındaki adale bölgesinde de azalarak devam ettiği saptanmıştır. Trikrom boyasıyla 6 gözde hyalin liflerde artma olduğu belirlenmiştir. Yedi gözde enjeksiyon sahasında adale liflerinde fragmantasyon ve disolüsyon olduğu görülmüştür (Şekil 3). DKR enjekte edilen tüm rektus adalelerinde değişen derecelerde fibrozis ortaya çıkmış, ve bunun enjeksiyon sahasının arkasını da daha az düzeyde olmak üzere etkilediği belirlenmiştir (Şekil 4). Adale lifi boyutunda anormal



Şekil 3. Ekstraoküler adalede fragmantasyon ve disolüsyon (x200).

varyasyon enjeksiyon yapılan adalelerin tümünde görülmüştür (Şekil 5). Fibrozis ve adale lifi boyutunda anormal varyasyon enjeksiyon sahasının arkasında daha az düzeyde bulunmuştur.

Tartışma

DKR'in enjekte edildiği sahada ekstraoküler adale hasarı yaptığı gözlenmiştir. Bu etki enjeksiyon yerinde en fazla olup etraf dokuya azalarak yansımaktadır. Histopatolojik incelemede DKR'in ekstraoküler adalede toksik dejeneratif değişiklikler yaptığı görülmektedir. Ortaya çıkan patolojik bulgular verilen dozdaki etkinin

Tablo 1. Doksorubisin Enjeksiyonu yapılan ve kontrol grubundaki ekstraoküler adalelerdeki histopatolojik bulgular.

No.	Adale	Doz (mg)	Sitoplaz. Vakuol.		Miyofibril. disorganiz.		Nekrotik kas hüç.		Hyalin lifler		Fragmant. disolüs.		Fibrozis		Kas boyutu varyasyonu	
			E	A	E	A	E	A	E	A	E	A	E	A		
1	SR	0.5	-	-	++	+	-	-	+	-	+	-	++	+	++	+
2	LR	0.5	-	-	++	+	-	-	+	-	+	-	++	-	++	+
3	İR	0.5	-	-	+++	+	-	-	+	-	+	-	++	+	++	+
4	LR	0.5	-	-	++	+	-	-	++	-	-	-	++	+	++	+
5	İR	1.0	+	-	+++	++	-	-	+	-	+	-	+++	++	+++	++
6	LR	0.5	-	-	++	+	-	-	+	-	+	-	++	+	++	+
7	MR	0.5	++	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	++	+
8	SR	0.5	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	++	+
9	SR	SF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	LR	SF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	MR	SF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	LR	SF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	İR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	İR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	LR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	İR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

E: Enjeksiyon sahası

A: Enjeksiyon sahasının arkasındaki bölge

SF: Serum fizyolojik

MR: Medial rektus

LR: Lateral rektus

SR: Superior rektus

İR: Inferior rektus



Şekil 4 ., Ekstraoküler adalede fibrozis (x100).



Şekil 5, . Ekstraoküler adale lifi boyutunda anormal varyasyon (x200).

kemomiyektomi olduğunu düşündürmektedir. DKR'-nin enjekte edildiği alanda adale lifi kaybı ve fibrozis ortaya çıkmaktadır ancak denervasyon bulgusu olan atrofi görülmemektedir. Buna dayanarak olgularımızda kemodenervasyonun bu düşük dozlarda ortaya çıkmadığını düşünmekteyiz. Daha önceki gözlemler orbikularis oküli adalesinde kemomiyektomi dozunun kemodenervasyon dozundan daha düşük olduğu yönündedir (14).

DKR'in intravenöz uygulamasında, etraf dokuya sızma olduğu takdirde doku nekrozu ve ülserasyona neden olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada kullanılan dozlarda hiçbir denekte konjonktiva, Tenon kapsülü ve sklerada nekrotik bir etki görülmemiştir. Dokuların çıkarılması sırasında görülen yapışıklıklar kriter olarak ele alınmamıştır çünkü ekstraoküler adalelere ilacı ve-

rebilmek için yapılan cerrahi diseksiyonun bu yapışıklıklarda etkisi olabileceği düşünülmüştür.

Enjeksiyon alanının arkasında ilaca bağlı patolojik değişikliklerin azalmış olması, etkinin enjeksiyon bölgesinde sınırlı kaldığını düşündürmektedir. Bu da klinik kullanım açısından olumlu bir bulgu olarak kabul edilmelidir. Eğer daha büyük bir alanı etkileyen bir fibrozis oluşsaydı bu durum, adalenin fonksiyonu azalsa bile aksi yöne hareketini kısıtlayan, restriktif bir faktör olarak karşımıza çıkacaktı. DKR'in etkisinin lokal enjeksiyonda sınırlı kaldığı ve doku konsantrasyonuna bağlı olduğu fare peritonuna enjeksiyondan sonra diafram adalesinde de gösterilmiştir (7).

0.5 mg'lık doz uygulanan bir adalede, kroşe geçirildikten sonra minimal çekme ile adalenin kopması ekstraoküler adalede daha yüksek dozların kullanımının uygun olmayacağını düşündürmektedir. Fragmentasyon ve disolüsyonun görülmesi ekstraoküler adalede toksik hasarı düşündürmektedir. Kas hücre nekrozunun akut dönem bulgusu olan sitoplazmik vakuolizasyon yalnızca, 1 mg'lık doz verilen adalede görülmüştür. Geç dönem fibrozis bulgusu olan hyalinizasyon ise hafif ve orta derecede olmak üzere örneklerin çoğunda ortaya çıkmıştır. Deneklerin hepsinde görülen miyofibriler disorganizasyon, kronik dönemde daha belirginleşen bir toksik hasar bulgusudur. Fragmentasyon, disolüsyon ve adale lifi çapında anormal değişkenlik ise kronik dönem bulgularıdır.

DKR kemomiyektomi ve kemodenervasyon amacıyla blefarospazmda insanlarda kullanılmıştır (14). Bu çalışmada DKR'in birikici etki yaptığı ve bazı olgularda cilt ülserlerine yol açtığı, ancak bu ülserlerin 3 haftada düzeldiği bildirilmiştir. Ancak blefarospazmda ortaya çıkan iyileşmenin kalıcı olup olmadığı henüz bilinmemektedir. Bilgilerimize göre DKR'in ekstraoküler adalede kullanımı konusunda herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

Ekstraoküler adalelerde kalıcı paralitik etki yapabilecek bir ajan, tekrarlayan enjeksiyonu gereksinimi olan hastalarda veya adalenin kesip bırakılması endikasyonu olan bazı ileri, komitan olmayan kaymalarda kullanım alanı bulacaktır. Çalışmamızın sonuçları DKR'in kullanılan dozlarda köpek gözünde tolere edilebildiğini göstermektedir ve bu doz ile ortaya çıkan etki kemodenervasyondan çok kemomiyektomi şeklindedir. Belli bir alanda büyük oranda kas lifi kaybı söz konusudur, ancak kemomiyektominin ekstraoküler adalenin fonksiyonunu ne ölçüde etkilediği bilinmemektedir. DKR ile insan orbikularis adalesi üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda BTA'dakine benzer bir oranlanmanın uygun olduğu düşünülmüş ve 0.5 ve 1 mg'lık dozlar çalışma için seçilmiştir.

DOKSORUBİSİNİN EKSTRAOKÜLER ADELEDEKİ ETKİSİ ÜZERİNE DENEYSEL BİR ÇALIŞMA

DKR'in klinik kullanımı açısından bazı sakıncalar söz konusu olabilir. Bunlardan birisi olan lokal tümörögenезis etkisi konusunda fazla bilgi yoktur. Ancak intravenöz enjeksiyondan sonra sızıntı olan bölgelerde böyle bir durum bildirilmemiştir. Bunun dışında ajanın kullanıldığı kişi ilerde DKR'i sistemik olarak kullanırsa birikici bir etki olup olmayacağı bilinmemektedir.

DKR'in klinik olarak ekstraoküler adalelerde kullanılması öncelikle orbikülaris oküliye yapılan enjeksiyonların uzun dönem sonuçlarının ortaya çıkması ile mümkün olacaktır. Çünkü ajanın esas kullanıldığı endikasyonu etkisinin kalıcı olmasıdır. Buradaki deneysel çalışmanın sonuçları etkinin kalıcı tipte olduğunu düşündürmektedir. Bu konuda deneysel olarak ilacın ekstraoküler adalenin kuvvetini azalttığını araştıran başka çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

1. Scott AB. Botulinum toxin injection of eye muscles to correct strabismus. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1981; 79:734-770.
2. Repka MX, Geoffrey CL, Orrison NA. The efficacy of botulinum neurotoxin A for the treatment of complete and partially recovered chronic sixth nerve palsy. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 1994; 31:79-83.
3. Carter SK. Adriamycin-A review. *J Natl Cancer Inst* 1975;55:1265-1274.
4. Zorzato F, Salviati G, Facchinetti T, Volpe P. Doxorubicin induces calcium release from terminal cisternae of skeletal muscle: A study on isolated sarcoplasmic reticulum and chemically skinned fibers. *J Biol Chem* 1985; 260:7349-55.
5. Lenaz L, Page JA. Cardiotoxicity of adriamycin and related anthracyclines. *Cancer Treat Rev.*1976;3:141-144.
6. Doroshow JH, Tallent C, Scheshter JE. Ultrastructural features of adriamycin induced skeletal and cardiac muscle toxicity. *Am J Pathol* 1985;118:288-297.
7. Mc Loon LK, Wirtschafter JD. Doxorubicin chemomyectomy. Injection of monkey orbicularis oculi results in selective muscle injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*1988;29:1854-1859.
8. Baker L, Wirtschafter JD. Experimental doxorubicin myopathy: a permanent treatment for eyelid spasms? *Arch Ophthalmol* 1987;105:1265-1268.
9. Yamamoto T, Iwasaki Y, Konno H. Retrograde axoplasmic transport of adriamycin: An experimental form of motor neuron disease. *Neurology* 1984; 34:1299-1304.
10. Van der Kooy D, Zito KA, Roberts DCS. Evidence on the retrograde neurotoxicity of doxorubicin. *Neurosci Lett* 1985;53:215-218.
11. Bigotte L, Olsson Y. Degeneration of trigeminal ganglion neurons caused by retrograde axonal transport of doxorubicin. *Neurology* 1987;37:985-989.
12. Kato S, Yamamoto T, Iwasaki Y, et al. Experimental retrograde adriamycin trigeminal sensory ganglionectomy. *J Neurosurg* 1988;69:760-765.
13. Bigotte L, Olsson Y. Cytotoxic effects of adriamycin on mouse hypoglossal neurons following retrograde axonal transport from the tongue. *Acta Neuropathol* 1983;61:161-168.
14. Wirtschafter JD. Clinical doxorubicin chemomyectomy, an experimental treatment for benign essential blepharospasm and hemifacial spasm. *Ophthalmology* 1991;98:357-366.