

Tavşan Modelinde Ekstraoküler Uygulanan Mitomycin C'nin Toksik Etkileri

TOXIC EFFECTS OF EXTRAOCULARLY APPLIED MITOMYCIN C IN A RABBIT MODEL

Sema ORUÇ*, Diclehan ORHAN**, Mehmet ORHAN***, Murat İRKEÇ****

* Yrd.Doç.Dr., Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları AD, AYDIN

** Uz.Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD,

*** Doç.Dr., Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları AD,

**** Prof.Dr., Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları AD, ANKARA

Özet

Glokom filtrasyon cerrahisinde başarı oranını arttırmak için kullanılan mitomycin C'nin intraoküler toksik etkilerini araştırmayı amaçladık. Klinikte MMC kullanılan olgularda uzamış hipotoni sıklıkla gözlenmektedir. 0.2 mg/ml ve 0.4 mg/ml konsantrasyonlarında MMC tavşan gözlerinde sklera üzerine uygulandı ve 15. günde gözler enükle edildi. Histopatolojik değişiklikler ışık mikroskopisi ile değerlendirildi. Kornea, lens, silier cisim ve retinayı içine alan tüm intraoküler yapılar normaldi. Bu deneysel modelde, MMC'nin uygulanan dozlarda intraoküler toksik etkisinin olmadığı sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Glokom filtrasyon cerrahisi, Mitomycin-C, Histopatoloji, Tavşan model

T Klin Oftalmoloji 2000, 9:83-86

Summary

We performed a prospective study to determine the intraocular toxic effects of mitomycin-C (MMC), which is widely used to increase the success rate of glaucoma filtering surgery. Clinically, severe prolonged postoperative hypotony has been a frequent complication of glaucomatous filtration surgery in which MMC was used. We placed MMC, in concentrations of 0.2 mg/ml, and 0.4 mg/ml on the intact sclera of rabbits and enucleated the eyes after 15 days. Examination of all of the eyes by light microscopy revealed normal intraocular structures, including the cornea, lens, ciliary body, and retina. In this experimental model, MMC appeared non-toxic at these doses of administration.

Key Words: Glaucoma filtering surgery, Mitomycin-C, Histopathology, Rabbit model

T Klin J Ophthalmol 2000, 9:83-86

Sklerostomi sahasında fibroblast proliferasyonu sonucu aköz humor drenajının obstrüksiyonu, glokom filtrasyon cerrahisinin başarısızlığına yol açmaktadır (1-3). Antifibroblastik proliferatif aktivitesi olan antimetabolitler normal yara iyileşmesi cevabını değiştirmek ve cerrahi başarı oranını arttırmak için kullanılmaktadır (4-9). Bu antimetabolitlerden birisi de mitomycin-C (MMC) olup cerrahi prognozu kötü olan hastalarda intraoperatif olarak uygulanmaktadır (10,11).

MMC trabekülektomide filtrasyon sahasında subkonjonktival skar dokusu oluşumunu azaltarak başarı oranını artırırken, çeşitli komplikasyonlara yol açabilmektedir. Pterijium cerrahisinde topikal MMC kul-

lanımını takiben skleral ve korneal ülserasyon, skleromalasi, nekrotizan sklerit, üveit, skleral kalsifikasyon gibi toksisiteye bağlı komplikasyonlar bildirilmiştir (12). MMC'nin diğer bir yan etkisi ise hipotonik makülopatiye yol açmasıdır (13). MMC'nin dışa akımı arttırmasına ek olarak silier epitelde aköz humor üretimini de azaltabileceği öne sürülmektedir. Bu hipotezi ve ek olarak MMC'nin oküler toksisitesini değerlendirebilmek için tavşanların sklerasına değişik konsantrasyonlarda MMC uyguladık ve özellikle silier epitel olmak üzere tüm globu ışık mikroskopisi ile 15. günde inceledik.

Materyel ve Metod

Bu çalışmada ağırlıkları 2 -3 kg arasında değişen 10 adet albino tavşan kullanıldı. Tavşanlara intramusküler ketamine hydrochloride (25 mg/kg) ve xylacine hydrochloride (5 mg/kg) ile anestezi uygulandı. Saat 12 hisasından, limbusa 8 mm mesafeden konjunktivaya in-

Geliş Tarihi: 08.04.1999

Yazışma Adresi: Dr.Sema ORUÇ
Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi
Göz Hastalıkları AD, AYDIN

sizyon yapıldı ve limbal tabanlı konjonktival flap hazırlandı. 10 tavşan 2 gruba ayrıldı. İlk gruptaki 5 tavşanın sağ gözlerine 0.2 mg/ml, ikinci gruptaki 5 tavşanın sağ gözlerine ise 0.4 mg/ml konsantrasyonda MMC emdirilmiş sponge, sklera ile konjonktiva arasına yerleştirildi. Beş dakikadan sonra sponge kaldırıldı. Tüm saha dengeli tuz solüsyonuyla bol miktarda yıkandı. Konjonktiva 8/0 ipek ile suture edildi. Opere gözler polimisin pomad ile kapatıldı. Sol gözler kontrol grubu olarak alındı. Tavşanlar 15 inci günde intravenöz pentobarbital ile feda edildi ve gözler enükle edildi.

Enükleasyondan hemen sonra gözler %10 tamponlu formaldehit solüsyonuna konuldu. Dokular parafinize edildi. 5µm kesitler alınarak Masson trichrome ve hematoxylen-eosin ile boyanarak ışık mikroskopisi ile değerlendirildi. Kornea kalınlığı mikrometre ile ölçüldü.

Sonuçların istatistiksel analizi Student's t testi ile yapıldı.

Sonuçlar

2 farklı konsantrasyonda MMC uygulanan gözler ile kontrol grubu gözlerdeki histopatolojik değişiklikler ışık mikroskopisi ile değerlendirildi. Her üç grupta kornea, lens, silier cisim ve retinayı içine alan tüm intraoküler yapılar normal olup skleral kalsifikasyon, incelme, ülserasyon veya nekroz gözlenmedi. Aynı şekilde korneada ülserasyon, stromal skar veya perforasyon tespit edilmedi (Şekil 1). Kornea endoteli ve silier cisim epitelinde hiçbir histopatolojik değişiklik saptanmadı (Şekil 1,2). Korneanın ortalama kalınlığı 0.2 mg/ml MMC uygulanan gözlerde $410 \pm 25 \mu\text{m}$, 0.4 mg/ml uygulanan gözlerde $405 \pm 30 \mu\text{m}$, kontrol grubunda ise $400 \pm 32,5 \mu\text{m}$ olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (Tablo 1).

Tartışma

Fibroblast migrasyonu ve proliferasyonunu takiben kollagen ve mukopolisakarit sentezi sonucu fistüleze sahanın kapanması glokom filtrasyon cerrahisinde başarısızlığa yol açmaktadır (1-3). Geçen 15 yılda antimetabolitlerin kullanılması glokom cerrahisinde devrim yaratmıştır (4-11). İlk kullanılan antimetabolit olan 5-Fluorouracil'in korneada epitel defekti, blebten sızıntı, geçici iridosiklit ve endoftalmi gibi komplikasyonlara yol açması primer trabekülektomilerde kullanımını sınırlamaktadır (14-16).

Streptomyces caespitosus mantarından izole edilen antimetabolit antibiyotik özelliği olan MMC son yıllarda filtrasyon cerrahisinde başarı ile kullanılmaktadır (10,11). MMC'nin subkonjontival ve tenon kapsülü fibroblastlarına antiproliferatif etkisi olduğu tavşan ve insanlarda gösterildi (7,8). MMC'nin peroperatuar



Şekil 1. MMC uygulanan gözde korneanın histopatolojik görüntüsü (hematoksilen-eosin x20).



Şekil 2. MMC uygulanan gözde silier epitelin histopatolojik görüntüsü (hematoksilen-eosin x20).

0.5 mg/ml konsantrasyonda 5 dk topikal kullanımı ile 5-FU'in postoperatif multipl lokal enjeksiyonunun aynı etkinlikte olduğu gözlendi (11).

Tablo 1. Çalışma ve kontrol gruplarındaki kornea kalınlığı

	Kornea kalınlığı (µm)
MMC (0.2 mg/ml)	410±25
Kontrol	400±32,5
P	> .05
MMC (0.4 mg/ml)	405±30
Kontrol	400±32,5
P	> .05

MMC: Mitomycin C

MMC'nin oküler toksik etkileri üzerine çeşitli çalışmalar mevcuttur. Peyman tavşan vitreuslarına 1, 2, 4, 8 µgr MMC enjekte ederek 2 µgr dozun histopatolojik ve elektroretinografik değerlendirme sonucunda retina üzerine toksik etkisi olmadığını gösterdi (17). Wilson ve ark. tavşan gözlerinde en az 19 gün 0.2 mg/ml konsantrasyonda topikal MMC kullanımının belirgin oküler toksik etkiye neden olmadığını bildirdiler (18). Buna karşın insanlarda pterijium eksizyonunu takiben MMC'nin 0.2-1 mg/ml arasındaki konsantrasyonlarda topikal kullanımının konjonktival hiperemi, korneada epitel defektleri, semblefaron, skleral ülserasyon, skleral nekroz ve kalsifikasyon gibi yan etkilere yol açtığı saptandı (12). Bizim çalışmamızda ise bu yan etkilerin hiçbirisi gözlenmedi. Bu da MMC'nin glokom filtrasyon cerrahisinde bu dozlarda güvenle kullanılabilirliğini göstermektedir.

Glokom filtrasyon cerrahisinde sklerostomi alanında fibroblast proliferasyonunu önleyen ajanların etkinliğini ve toksisitesini saptamak için deneysel tavşan modelinde iki yöntem uygulanabilir. İlkinde sklera üzerine antifibroblastik ajan uygulandıktan sonra sklerektomi yapılmaktadır (4,19). İkincisinde ise sklera üzerine antifibroblastik ajan uygulanmakta ve sklerektomi yapılmamaktadır (20,21). Çalışmamızda filtran cerrahi kornea endotelini ve silier epitelini etkileyebileceğinden ve sonuçlar üzerine olumsuz etkileri olabileceğinden ikinci yöntem tercih edildi.

MMC kullanılan olgularda hipotonik makulopati gözlenmektedir. Mietz ve ark. çalışmalarında MMC'nin ekstraoküler uygulanmasından sonra transmisyon elektron mikroskopisi ile silier epitelde intrasellüler değişiklikler gözlemlendi. MMC'nin silier epitele toksik etkisinin uzamış hipotoniye neden olabileceğini öne sürdüler (20). Heaps ve ark. ise tavşanlarda MMC'yi subkonjonktival enjekte ettiler ve silier epitelde elektron mikroskopide doza bağımlı lokalize değişiklikler saptadılar (22).

Bizim çalışmamızda ise kontrol grubu ile çalışma grubu arasında silier epitelde herhangi bir histopatolojik değişiklik saptanmadı. MMC'nin silier epitelde aköz üretimini azaltabileceği ve buna bağlı olarak uzamış hipotoniye yol açabileceği hipotezini destekleyebilmek için aköz humor dinamiğinin ve kan-aköz bariyerinin incelendiği çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, deneysel modelde MMC'nin farklı konsantrasyonlarda ekstraoküler uygulanmasının intraoküler toksik etkisinin olmadığı gözlemlendi. MMC'nin intraoperatif topikal uygulanmasının kullanım kolaylığı sağlanması ve ciddi yan etkisinin olmaması diğer antimetabolitlere üstün olduğunu göstermektedir. Ancak uzamış hipotoniye hangi mekanizmayla yol açtığına anlaşılabilmesi için daha ileri çalışmalara gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

- Skuta GL, Parrish PK. Wound healing in glaucoma filtering surgery. *Surv Ophthalmol* 1987; 32:149-70.
- Addicks EM, Quicley HA, Green W, Robin AL. Histologic characteristics of filterings blebs in glaucomatous eyes. *Arch Ophthalmol* 1983; 101:705-98.
- Joseph JP, Miller MH, Hitchings RA. Wound healing as a barrier to successful filtration surgery. *Eye* 1988; 2(suppl):113-23.
- Lee DA, Leong KW, Panek WC, Eng CT, Glasgow BJ. The use of bioerodible polymers and 5-fluorouracil in glaucoma filtration surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1988; 29:1692-97.
- Kay JS, Fryczkowski AW, Litin BS, Chvapil M, Jones MA, Herschler J. Delivery of antifibroblast agents as adjuncts to filtration surgery, II: delivery of 5-fluorouracil and bleomycin in a collagen implants: a pilot study in the rabbit. *Ophthalmic Surg* 1986; 17:796-801.
- McGuigan LJB, Cook DJ, Yablonski ME. Dexamethasone, D-Penisillamine and glaucoma filter surgery in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1986; 27:1755-57.
- Lee DA, Lee TC, Cortes AE, Kitada S. Effects of mithramycin, mitomycin, daunorubicin and bleomycin on human subconjunctival fibroblast attachment and proliferation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990; 21:2136-44.
- Yamamoto T, Varani J, Soong HK, Lichter PR. Effects of 5-Fluorouracil and mitomycin-C on cultured rabbit sunconjunctival fibroblast. *Ophthalmology* 1990; 97:1204-10.
- Heuer DK, Parrish RK II, Gressel MG, Hodapp E, Desjardins DC, Skuta GL, Palmberg PF, Nevarez JA, Rockwood EJ. 5-fluorouracil and glaucoma filtering surgery: III. Intermediate follow-up of a pilot study. *Ophthalmology* 1986; 93:1537-46.
- Kitazawa Y, Kawase K, Matsushita H, Minobe M. Trabeculectomy with mitomycin. A comparative study with 5-fluorouracil. *Arch Ophthalmol* 1991; 109:1693-8.
- Skuta GL, Beeson CC, Higginbotham EJ, Lichter PR, Musch DC, Bergstrom TJ, Klein TB, Falck FY Jr. Intraoperative mitomycin versus postoperative 5 fluorouracil in high risk glaucoma filtering surgery. *Ophthalmology* 1992; 99:438-44.
- Rubinfeld RS, Pfister RR, Stein RM, Foster CS, Martin NF, Stoleru S, Talley AR, Speaker MG. Serious complications of topical mitomycin-C after pterygium surgery. *Ophthalmology* 1992; 99:1647-54.

- 13.Zacharia PT, Deppermann SR, Schuman JS. Ocular hypotony after trabeculectomy with mitomycin C. *Am J Ophthalmol* 1993; 116:314-26.
- 14.Knapp A, Hever DK, Stern GA, Driebe WT Jr. Serious corneal complications of glaucoma filtering surgery with postoperative 5-fluorouracil. *Am J Ophthalmol* 1987; 103:183-7.
- 15.Franks WA, Hitchings RA. Complications of 5-fluorouracil after trabeculectomy. *Eye* 1991; 5:385-9.
- 16.Ticho U, Ophir A. Late complications after glaucoma filtering surgery with adjunctive 5-fluorouracil. *Am J Ophthalmol* 1993; 115:506-10.
- 17.Peyman GA, Greenberg D, Fishman GA, Fiscella R, Thomas A. Evaluation of toxicity of intravitreal antineoplastic drugs. *Ophthalmic Surg* 1984; 15:411-3.
- 18.Wilson MR, Lee DA, Baker RS, Goodwin LT, Wooten F. The effects of topical mitomycin-C on filtration surgery in rabbits. *J Ocul Pharmacol* 1991; 7: 1-8.
- 19.Bergstrom TJ, Wilkinson SW, Skuta GL, Watnick RL, Einer WM. The effects of subconjunctival mitomycin-C on glaucoma filtration surgery in rabbits. *Arch Ophthalmol* 1991; 109: 1725-30.
- 20.Mietz H, Addicks K, Diestelhorst M, Krieglstein GK. Extraocular application of mitomycin C in a rabbit model: cytotoxic effects on the ciliary body and epithelium. *Ophthalmic Surg* 1994; 25:240-4.
- 21.Mietz H, Addicks K, Bloch W, Krieglstein GK. Long-term intraocular toxic effects of topical mitomycin C in rabbits. *J Glaucoma* 1996; 5:325-33.
- 22.Heaps RS, Nordlund JR, Gonzalez-Fernandez F, Redick JA, Conway BP. Ultrastructural changes in rabbit ciliary body after extraocular mitomycin C. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39:1971-5.