

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE
ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI**

Tez Yöneticisi
Yard. Doç. Dr. Erol BENLİER

**DOKSORUBİSİN EKSTRAVAZASYONUNDA
DOKSİSİKLİNİN ETKİSİ**

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Yasin ÜNAL

EDİRNE - 2007

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde bilgi ve deneyimleriyle eğitimime olan katkıları nedeniyle Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı ve tez hocam Sayın Yard. Doç. Dr. Erol Benlier'e, eğitimimde bilgi ve deneyiminden yararlandığım Sayın Yard. Doç. Dr. Hüsametdin Top'a, Sayın Prof. Dr. A. Cemal Aygıt'a, ve tezime olan katkılarından dolayı Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yard. Doç. Dr. Ufuk Usta'ya teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
GENEL BİLGİLER	3
DERİ ANATOMİSİ VE HİSTOLOJİSİ	3
YARA İYİLEŞMESİ.....	4
EKSTRAVAZASYON YARALANMALARI VE DOKSORUBİSİN.....	7
MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR.....	11
TETRASİKLİNLER.....	14
GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	17
BULGULAR.....	24
TARTIŞMA.....	30
SONUÇLAR.....	34
ÖZET.....	35
SUMMARY.....	37
KAYNAKLAR.....	39
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

DNA	: Deoksiribonükleik asid
ECM	: Extracellular matrix
HE	: Hematoksilen-eozin
MMP	: Matriks metalloproteinaz
MT-MMP	: Membran-tipi matriks metalloproteinazı
PDGF	: Platelet derived growth factor
TGF-β	: Transforming growth factor- β
TIMP	: Tissue inhibitor matrix metalloproteinases

GİRİŞ VE AMAÇ

Ekstravazasyon yaralanması özellikle kanser tedavisinde kullanılan ilaçların ve fizyolojik olmayan sıvıların damar dışına kaçıışı sonucunda dokularda yaptığı hasardır. Bu yaralanma yüzeysel cilt kayıplarından derin doku kayıplarına kadar varan farklı klinik tablolara yol açar (1,2).

Klinik olarak ekstravazasyon alanında lokal toksisite sonucu, ağrı, endurasyon ve eritem meydana gelir. Lokal inflamatuvar yanıt sonrası ülserasyon ve nekroz meydana gelebilir (3). Oluşacak nekroz birkaç gün, hatta 1 hafta görülmeyebilir, çünkü ilaç dokular içine diffüze olur ve inflamatuvar yanıt sonrası nekroz gelişmeye başlar. Küçük ülserler iyileşebilir, fakat büyük ülserler nekroze alanlar oluşturur, cerrahi eksizyon ve ciddi rekonstrüksiyon ameliyatları gerektirebilir (4).

Sis-platinum, doksorubisin, vinblastin, vinkristin bugün kullanılan vezikan ajanlardan bazılarıdır. Bu ajanlar arasında doksorubisin yaygın toksisite ve vucudun ekstravaze alandan toksinleri atamamasından dolayı ekstravazasyon hasarına en çok yol açan ajandır (1,5-7). Doksorubisin toprak mantarlarından elde edilen antrasiklin grubu bir antibiyotiktir. Sıklıkla hemotolojik malignensilerde, sarkoma, lenfoma, prostat karsinomu, tiroid, akciğer ve meme kanserlerinde kullanılır (5). Doksorubisin, deoksiribonükleikasit (DNA) çifte heliks yapısının merkezindeki çiftin arasına bağlanarak DNA replikasyonunu engeller. Bu olayın sonucunda serbest oksijen radikallerini meydana gelir, bu da takip eden hücre ölümüne sebep olur (5,8). Birkez hücre ölümü gerçekleştiğinde DNA-Doksorubisin kompleksi parçalanmış hücreler tarafından serbest bırakılır ve canlı hücreler tarafından yakalanır, bu olay tekrarlar ve progresif nekroz meydana gelir (9,10). Lökositler bu inflamatuvar yanıtta temel hücrelerdir (8-

10). Lökosit akımının önlenmesi lökosit bağlantılı inflamatuvar yanıtı ve doku hasarını azaltmada etkilidir. Doku içine lökosit akımını azaltmak için bazı maddeler kullanılmıştır. Fakat tam olarak çözüm olacak tedavi önerilememiştir.

Tetrasiklinler bakteriyel protein sentezini inhibe ederek antibiyotik olarak etki gösteren ilaçlar olarak bilinirler. Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalar tetrasiklinlerin birçok hücrel fonksiyonu etkileyen pluripotent ilaçlar olduğunu göstermiştir (11). Doksisisiklin ve diğer tetrasiklin türevlerinin matriks metalloproteinaz (MMP) inhibisyonu yolu ile dokuya lökosit ve makrofaj akımını azalttığı, kollajenazlar üzerine inhibisyon etkisi ile yara iyileşmesine etkili olduğu, damar intima kalınlaşmasını azalttığı, aortik anevrizmada, periodontal hastalıkta ve artritde doku yıkımını azalttığı, tümör hücre invazyonunu, tümör metastazını ve tümör anjiogenezisini inhibe ettiği gösterilmiştir (12). *In vitro* olarak osteosarkomda tümör hücrelerinin ve endotelial hücre proliferasyonunu inhibe ettiği, meme karsinom hücreleri, osteosarkom hücreleri ve makrofajlarda apoptozise neden olduğu ve kondrositlerin matriks sentezini azalttığı gösterilmiştir. Tetrasiklinlerin aynı zamanda nötrofiller üzerinden reperfüzyon hasarını önlediği gösterilmiştir (13). Doksisisiklin birçok hücrel fonksiyonu etkilemesi nedeniyle araştırmacılar tarafından birçok alanda kullanılır olmuştur. Ancak literatürde doksisisiklinin ekstrasvazyon hasarının engellenmesinde uygulanması ile ilgili herhangi bir çalışma yoktur.

Planlanan bu çalışmada doksorubisin ekstrasvazyonu ile oluşturulan doku nekrozuna, doksisisiklinin azaltıcı etkisi araştırıldı. Doksisisiklinin MMP inhibisyonu ile dokuya lökosit ve makrofaj akımını azaltıcı etkisi nedeniyle, oluşan inflamatuvar yanıtı engelleyerek nekrozu azaltabileceği düşünüldü.

Çalışma sonuçları ile doku nekrozunun azaltıldığı kanıtlanırsa, doksisisiklin preparatlarının, kolay bulunabilmesi, ucuz maliyeti olması nedeniyle birçok kanser türünde kullanılan doksorubisinin ekstrasvazyonu sonucu hastaların yaşam kalitesini düşüren doku nekrozu ve sonrasında gerekebilecek ameliyatlardan kurtulmasını sağlayacak bir tedavi yöntemi olacaktır.

GENEL BİLGİLER

DERİ ANATOMİSİ VE HİSTOLOJİSİ

Deri, yüzeysel epidermis ile bunun altında bulunan dermis tabakasından oluşur. Epidermis hücresel bir tabaka olup dışta yer alır. Epidermis 5 tabakaya ayrılır; *Stratum korneum*, *stratum lusidum*, *stratum granulozum*, *stratum spinozum*, *stratum bazale* (14). *Stratum korneum* genellikle sık sık dökülen ölü yassılaştırmış hücrelerin meydana getirdiği tabakadır. *Stratum lusidum*, *stratum korneumun* altında yer alan nispeten daha ince bir tabakadır. Büyük büyütmelelerde bu tabakada ileidin damlaları ve yassı hücrelerin sınırları görülür. *Stratum granulozum* hücreleri koyu boyanan keratohyalin granülleri içerir. Bu tabakanın altında polihedral şekilli hücrelerden oluşan *stratum spinozum* tabakası bulunur. Prizmatik hücrelerden oluşan ve bazal membran üzerinde yerleşen *stratum bazale* ise epiderminin en alt tabakasıdır. *Stratum spinozum* hücreleri dikensi çıkıntılar veya hücreler arası köprülerle birleşmişlerdir ki bunlar desmozom (*makula adherans*) olarak bilinir. Mitotik aktivite normal olarak *stratum spinozumun* derin katları ile *stratum bazalede* meydana gelir(15).

Dermis epiderminin hemen altında yer alır. Bu deri tabakası daha kalın ve damarlıdır. Dermisin yüzeysel tabakası epidermise doğru uzantılar oluşturur, bunlara dermal papilla denir. Dermisin papiller tabakası düzensiz, gevşek bağ dokudan oluşurken, daha derinde yer alan retiküler dermis ise sıkı bağ dokudan oluşur. Yüzeysel fasya ve yağ dokudan oluşan hipodermis veya derialtı dokusu derminin hemen altında yer alır. Dermisin bağ dokusu oldukça damarlı olup çok sayıda kan damarı ve sinirler içerir (15).

Vücutun farklı yerlerinde derinin histolojik yapısı birbirine benzemekle birlikte sadece epidermin kalınlığı değişiklik gösterir. Özellikle avuç içi ve ayak tabanı gibi alanlarda epidermis daha kalındır. Deri epidermisinde dört farklı hücre tipi vardır. En fazla bulunan hücre tipi keratinositlerdir. Epidermin bazal tabakasında yerleşen melanositler ise melanin pigmenti sentezler ve sentezledikleri bu maddeyi keratinositlere aktırırlar. Langerhans hücreleri, epidermal hücreler olup, vücudun immün cevabında rol alır. Bu hücreler yabancı antijenleri tanır ve antijen sunan hücreler olarak bilinirler. Epidermiste aynı zamanda az miktarda merkel hücreleri bulunmaktadır. Bu hücrelerin miyelinsiz aksonlarla birlikte yaptıkları oluşumların mekanoreseptör olarak görev yapmaktadır (15).

İnsan cildi bu özellikleri gösterirken çalışmanın yapıldığı farelerin cilt özelliklerinde bazı farklılıklar bulunur. Farelerin cilt katmanları ile ilgili yapılan çalışmalarda epidermis ve dermis altında kas tabakası olan *panniculus carnosus* tabakası bulunmakta, farelerde yağ bezleri ve yer yer subkutise uzanan kıl folikülleri bulunmakta fakat ter bezleri bulunmamaktadır. Farelerin derilerinden yapılan ölçümlerde derinin en kalın olduğu bölgenin sırt derisi olduğu bildirilmiştir (ortalama 842,6 µm) (16).

YARA İYİLEŞMESİ

Büyüme, rejenerasyon ve tamir yeni doku oluşumunu sağlayan işlemlerdir. İnsan embriyogenezi sırasında hücre tabakalarının bölünmesi, ayrı organ ve dokuları oluşturur. Bunlar, boyutlarını arttıırırlar fakat oldukça organize mimari yapılarını korurlar. Yara iyileşmesi üç mekanizmayı içerir; epitelizasyon, yara kontraksiyonu ve ekstraselüller matriks (ECM) sentezi. Tamir sırasında skar gelişimine götüren bir dizi olay vardır. Bunlar; fagositoz, kemotaksis, mitogenez ve ECM içeriği ile kollojen sentezi gibi koordine olarak tamamlanmış çeşitli hücrel aktivite gerektiren işlemlerdir.

Bazı özel durumlarda tamir işlemindeki hücrel işlem, düzensizleşir hipertrofik skar ve keloid oluşturan aşırı skarlanmaya neden olur (17).

Primer İyileşme

Primer iyileşme, oluşumundan sonra yara saatler içinde kapatılırsa meydana gelir. Yara kenarları sütür ya da diğer mekanik araçlar kullanılarak tekrar birleştirilir. MMP enzimleri, kollojen ve ECM parçalanmasını düzenler ve yarayı yeniden şekillendirir ve böylece nispeten dar bir skar bırakır. Epitelizasyon yara yüzeyini kapatarak bakteriyel invazyon için bariyer gibi etki eder.

Sekonder İyileşme

Sekonder iyileşmede tam kalınlıklı yara, kontraksiyon ve epitelizasyon ile kapanmaya bırakılır. Yara boyutları kontraksiyon ile azalır. Bu tür iyileşmede görülen yara kontraksiyonunda miyofibroblastların anahtar rol oynadığı düşünülür.

Tersiyer İyileşme

Kontamine, sınırları belli olmayan yaralar yara infeksiyonunu önlemek için açık bırakılırlar. Cilt ve subkutan dokular kapatılmazlar, normal doku savunma mekanizmaları geliştikten sonra yara debride edilir. İnflamatuar hücreler kontamine bakterileri yok eder. Yara kenarları birkaç gün sonra yaklaştırılır.

Kısmi Kalınlıklı

Epidermis ve dermisin yüzeysel kısmını içerir. Temel olarak epitelizasyon ile iyileşir. Dermal eklerdeki epitelyal hücreler, kıl follikülleri ve sebace bezler, açıktaki dermisi kapamak için replike olurlar (17).

Yara İyileşmesi Safhaları

Yara iyileşmesi, birbirini izleyen ve iç içe girmiş işlemler; fagositoz, kemotaksis, mitogenez, kollojen sentezi ve diğer matriks içeriklerinin sentezini içeren çeşitli hücrel aktivite tamamlanmasıdır (18).

Doku yaralanması: Doku yaralanması, kanama, koagülasyon, inflamasyon, hücre replikasyonu, anjiogenezis, epitelizasyon ve matriks sentezini başlatan olaydır.

Koagülasyon: Koagülasyon, hemostazise yol açar. Pıhtı içinde tutulan plateletler, hemostazda gerekli olduğu kadar normal inflamatuvar cevap içinde gereklidir. Plateletler mikrovasküler permeabiliteyi arttıran serotonin gibi vazoaaktif maddeleri depolayan dens cisimcikler içerir (18).

İntrensek ve ekstrinsek koagülasyon yolunun ürünü fibrindir. Bu, aynı zamanda fibrinojen olarak bilinen Faktör-1'den meydana gelir. Erken yara iyileşmesinde fibrin, hücrelerin göçebileceği matriks oluşturduğu için gereklidir. Fibrin ve fibronektin içeren pıhtı, plateletleri kan kaynaklı hücreleri ve plazma proteinlerini yakalar, fibrin ön matriksinin uzaklaştırılması yara iyileşmesine engel olur (18).

Erken inflamasyon: İyileşmenin sonraki fazı inflamasyondur. Kompleman aktivasyonu ve klasik moleküler kaskad ile başlar. Yaralanmanın 24-48 saati içinde yarada

granülosit infiltrasyonu oluşur. Kısa zaman içinde granülositler komşu kan damarlarının endotelial hücrelerine yapışır bu duruma marjinyasyon denir ve aktif olarak damar duvarında hareket etmeye başlarlar, bu işleme diapedezis denir. Granülositler, yaralanmış doku, plateletler, bakteriler ve inflamasyon ürünlerince salınan kimyasal haberciler ile yara yerine granülosit kemotaksisi olur. Granülositlerin temel fonksiyonu bakterileri ve yabancı kalıntıları yaradan uzaklaştırarak infeksiyonu önlemeye yardımcı olmaktır. Yarayı temizlemek ve infeksiyonu önlemek dışında normal iyileşme olayına katkısı çok azdır (18).

Geç inflamasyon: Makrofajlar yara iyileşmesinde yer alan çok önemli hücrelerdir ve gözlenen görevleri hücre tamirati için anahtar düzenleyici rol oynamalarıdır. Dolaşımdaki monositler ve doku makrofajları tükenirse yara iyileşmesinde yetersiz debritleme, fibroblast proliferasyonunda gecikme, yetersiz anjiogenez ve zayıf fibrozis gibi şiddetli değişiklikler meydana gelir. Yaralanmadan 48-72 saat sonra makrofajlar yara yerindeki en hakim hücreler durumuna gelirler. Makrofajlar fagositik hücrelerdir, fibroblastlar aracılığı ile ECM yapımı ve proliferasyonundan sorumlu olan büyüme faktörlerinin yapımı, düz kas hücre proliferasyonu ve anjiogenezle sonuçlanan endotelial hücre proliferasyonu ile görevlidirler.

Lenfositler inflamatuvar fazda yara bölgesine gelen son hücrelerdir (yaralanmadan 72 saat sonra). Lenfositlerin yara iyileşmesi üzerine etkileri tam olarak bilinmemektedir.

Fibroblast göçü-kollojen sentezi: Başarılı iyileşme yaraya mezenkimal hücrelerin göçünü gerektirir. Yaradan ECM'ye fibroblast göçü büyüme faktörleri tarafından uyarılır. Yara yerinde 7. günde baskın hücreler fibroblastlardır. Yaralanmadan sonra 5. ve 7. günlerde fibroblastlar kollajen sentezlemeye başlar ve 2.- 3. haftaya kadar artarak devam ederler.

Tip 1 kollajen kemik, cilt ve tendonda majör yapısal komponenttir. Tip 2 kollajen kırıkta dominanttır. Tip 3 kollajen tip 1 kollajen ile ilişkili olarak doku tipine göre farklı oranlarda bulunur. Tip 4 kollajen bazal membranda bulunur. Tip 5 kollajen korneada bulunur. Kollajenler yara iyileşmesinin bütün fazlarında anahtar komponentlerdir.

Anjiogenez: Anjiogenez yeni damarlanmaların olduğu fazdır. “Transforming growth factor- β ” (TGF- β) indirekt olarak anjiogenezi iletir ve makrofajları çeker. Plateletler anjiogenezi uyaran makrofajlar ve granülositleri yaraya çeken “Platelet derived growth factor” (PDGF)'yi salgırlar. Makrofajlar anjiogenezde anahtar rol oynarlar.

Epitelizasyon: Epitel diferansiyasyonunun major fonksiyonu internal ve eksternal yapılar arasında bariyer oluşturmaktır. Epitel tabakalarında ayrılma sıvı kaçışına ve cilde bakteri penetrasyonuna izin verir. Epitel hücrelerinin mitozu yaralanmadan 48 -72 saat sonra başlar. Bazal lamina intakt ve yara nemli ise, yara kirli değilse epitel gelişimi süratli olur (18).

Remodeling fazı: Kollajen sentezi 21. günde azalarak dengeli bir hal alır. Fibroblastlar granüositler ve makrofajlar tarafından yapılan özel MMP'ler kollajen miktarını azaltır. MMP aktivitesi azalır ve metalloproteinaz inhibitörleri TGF- β tarafından artırılır. Fibronektinler yara kontraksiyonuna neden olan matriks molekülleridir. Bazal lamina ve stromada yer alan makrofajlar, epitel hücreleri ve fibroblastlar fibronektinleri üretirler (18).

Yara İyileşmesinde Matriks Metalloproteinazları

Matriks metalloproteinazlar yara iyileşmesinin anjiogenezis, inflamasyon ve fibrozis aşamalarında etkilidir (11,19). MMP'lerden MMP-2 ve MMP-9 jelatinazlar, anjiogenez ve yara iyileşmesinden sorumludurlar (20-25). Özellikle atimik timuslu farelerde ve fetal fare modellerinde skarsız yara iyileşmesi üzerine etkili bulunmuştur (24). Fibroblastlar ve keratinositler MMP salınımını tetikler ve sonuç olarak ECM degradasyonu ve onun kompozisyonunu sağlar (25). Genelde yaralanmadan sonra 7. gün MMP-2'nin, 24. gün ise MMP9'un pik yaptığı tespit edilmiştir (26). Kronik yara sıvılarında MMP2 ve MMP9 düşük ve bu proteinazların inhibitörleri olan "Tissue inhibitor matrix metalloproteinases" (TIMP) yüksek olarak bulunmuştur (25). ECM'nin yıkımı, yara iyileşmesi, embriyonik gelişim, morfogenez, üreme ve dokuların rezorbsiyonu ve remodelingi için gereklidir. MMP'lerin bu süreçlerde asıl rolü oynadığı düşünülmektedir (11,13).

EKSTRAVAZASYON YARALANMALARI VE DOKSORUBİSİN

Ekstravazasyon yaralanması yüzeysel cilt kayıplarından ekstremitte kayıplarına kadar varan farklı klinik tablolara yol açar. Klinik önemleri; cilt ve doku defekti oluşturmaları, tendon, sinir ve eklemler çevresinde skar oluşumuna neden olarak fonksiyonel ve kozmetik defektler oluşturmalarından kaynaklanmaktadır. Hastalarda ekstravazasyon sonrası oluşan defektler küçük ise sekonder şekilde iyileşebilmektedir. Daha büyük hasarlar greft, flep veya serbest flep gerektirebilecek kayıplara yol açabilmektedir (4). Ekstravazasyon yaralanmasının tüm kemoterapi yan etkilerinde %2-5 arasında belirtilmiştir (1,2). Bu durum ekonomik ve moral kayıplara yol açarak hastaların hayat kalitesinde düşmeye yol açar. Başlangıçta ekstravazasyon sonrası ağrı, hiperemi ve ödem meydana gelebilir. Ülserasyon veya nekroz birkaç gün, hatta 1 hafta görülmeyebilir, çünkü ilaç dokular içine diffüze olur (3,4).

Ignoff ve Freidman (1) tarafından ekstravaze ajanlar üç bölümde kategorize edilmişlerdir.

Vezikan Ajanlar

Ekstravaze olduklarında lokal nekroz meydana getiren ajanlardır. Bunlar arasında arginin, klordiazepoksit, diazepam, digoksin, mitramisin, mustine, nitrojen mustard, nitrogliserin, paklitaksel, pentamidine, fenitoin, plikamisin, daunorubisin, doksorubisin, etoposide, vinblastine, vinkristine, vindesine, vinorelbine, aktinomisin D, dakarbazine, meklorethamine, mitomisin-C, sisplatin, fluorourasil, ifosfamide, mitoksantrone, karmustine, teniposid, aminofilline, kalsiyum, dekstroz 10%, nafsillin, parenteral nutrisyon, potasyum, radyokontrast madde, dobutamin, dopamin, epinefrin, norepinefrin, fenilefrin, tiopental sayılabilir.

İrritanlar

Nekroz olmadan yanma veya ılımlı inflamasyon oluşturan maddelerdir.

Kan ürünleri, karmustine, siklofosfamid, etanol, nafsillin, propilene glikol, streptozosin, streptokinaz, teniposid, tetrasikline.

Nonvezikan Ajanlar

Belirgin vezikan veya irritan etkileri olmayan ajanlardır. Asparajinaz, bleomisin sulfat, Sitarabine, etaposid, methotraksat, tioguanine.

Kemoterapötiklerin etkilerini kolay anlaşılabilir hale getirmek, ülserasyon ile ekstravazasyon arasındaki ilişkiyi şemalaştırabilmek için vezikan ajanlarda, nükleik asit düzeyinde doku hasarı meydana getirenler ve nükleik asit etkili olmayanlar şeklinde bir gruplama da yapılabilir. Nükleik asit etkili olmayanlar hızlı bir doku hasarı meydana getirirler ama çabucak metabolize olarak etkilerini kaybederler. Bu tip yaralanmalar yanıklara benzer. İyileşme süreci normal doku iyileşmesi ile bire bir benzer. Tersine nükleikasit etkili olanlar ise akut bir doku hasarı meydana getirmezler ama DNA düzeyinde uzun süreli etkileri vardır.

Vezikan ajanlar kendi içlerinde hücre destrüksiyon mekanizmalarına göre sınıflandırılmışlardır (1,5).

Hiperozmotik ajanlar: Kalsiyum ve potasyum gibi katyonik solüsyonlar hücre içi inhibisyon ve hücre şişmesine yol açarak hücreyi patlatırlar. Özetle ozmolaritesi serumdan (281-289 mOsmol/lit) daha yüksek olan sıvılar hücre membranını geçen kuvvetlerin imbalansına yol açarak hücre ölümüne yol açarlar.

Lokal doku iskemisi: Bazı vazoaaktif ajanlar, yoğun vazokonstrüksiyon ile doku nekrozuna yol açarlar. İskemik nekroz, dopamin, dobutamin, epinefrin, norepinefrin,

metaraminol ve vazopressin için rapor edilmiştir. Kalsiyum ve potasyum gibi katyonlar uzamış depolarizasyon ve mikrovasküler düz kasların kontraksiyonuna sekonder olarak iskemik doku nekrozuna yol açabilirler.

Direk hücrel sitotoksisite: Vezikan kemoterapötik kanser ajanları, sitotoksik ajanların örnekleridir. Fenitoin yeteri kadar dilüe edilmeden veya çok hızlı uygulandığında, yumuşak dokularda birikerek şiddetli nekroza yol açmaktadır. Tiopental ise lokalize intimal hasar meydana getirerek küçük damarların trombozuna sebep olmaktadır.

Risk Faktörleri

Ignoff ve Friedmann (1) ekstrasazyon yaralanmaları ile birliktelik gösteren pek çok risk faktörü belirlemişlerdir.

Hastaya ait faktörler: Yaşlı, kanser tedavisi alan, yatağa bağımlı, yaygın vasküler hastalığı olan kişiler, kola veya koltuk altı bölgesine radyoterapi almış insanlar, azalmış kan akım hızı ve venlerin kötü yapısı, venlerdeki elastikiyetin azalıp, kırılabilirliğin artması nedeniyle yüksek ekstrasazyon riski altındadırlar.

Farmakolojik faktörler: Ekstravaze olan ajanın; yoğunluğu, hipertonsitesi, fizyolojik pH'da olmaması, vazokonstrüksiyon ile doku iskemisi yapan nitelikte olması ve dokuyu etkilediği süre, nihai hasarın miktarını belirlemektedir.

Radyolojik faktörler: Radyasyon terapisi ile daha önce hasarlanmış olan bir deri, adriamisine veya başka bir vezikan ekstrasazyon yaralanması olayına maruz kaldığında radyasyon hasarı reaktif olur ki; bu olaya hatırlama fenomeni adı verilir

İyatrojenik faktörler: İntravenöz kateterlerin yerleştirilmesi, tecrübesiz kişilerce yapıldığında, damar çeperi kateter yerleştirilmeden önce pek çok kez delinebilmektedir. Bu da ekstrasazyon riskini artırmaktadır.

Enjeksiyon alanı: Altında kritik yapıların olduğu ince derili alanlarda yaralanmalar daha kötü olmaya eğilimlidir. Antekubital fossa, bilek ve el dorsali, kalıcı sinir ve tendon hasarına yol açabileceği için tehlikeli bölgelerdir.

Damara yapılan girişim sayısının yüksek olması: Aynı bölgeye ne kadar çok girişim yapılırsa damarın travma ve ekstrasazyon riski de o kadar fazla olacaktır.

Kateter tipi: Verilen sıvının viskozitesine, kimyasal içeriğine; kateterize edilecek damarın çapına, çeper kalınlığına uygun kateter seçimi yapılmalıdır. Uygulanacak bölge ve kateter sterilizasyonuna dikkat edilmelidir.

Vezikan ajanlar arasında doksorubisin ekstravazasyon hasarına en çok yol açan ajandır (1,4-7).

Klinik uygulamalarda ve hayvan modellerinde yapılan çeşitli tedaviler ile ülser büyüklüğü azaltılmaya çalışılmıştır. Bazı çalışmalarda ekstravaze olan ajana yönelik antidotlar denenmiştir (27-29). Ekstravazasyon yaralanmasının tedavisinde destekleyici tedbirlerin yanı sıra, erken cerrahi eksizyon (4,30), hiperbarik oksijen tedavisi (31-33), hasar yapan maddenin seyreltilmesi ve dışarı alınması gibi bazı yöntemler kullanılmaktadır (3,4,30). Ekstravazasyon yapan maddelerin etkilerinin giderilmesi için bir takım maddelerin doku içine verilmesi, yıkama (flush-out) ve/veya yağ emme (liposuction) ile maddenin en azından bir kısmının doku dışına alınarak seyreltilmesine çalışılmıştır (3,28-30,34,35). Vargel ve ark. (36) granulosit makrofaj-koloni stimule edici faktör ve granulosit koloni stimule edici faktörü ülser boyutlarını küçültmek amacıyla kullanılmışlardır. Vezikan kemoterapötik ajanların çoğu insan dokusuna lokal olarak toksik ve sıklıkla ekstravazasyon alanında nekrotik ülser yapıcı olarak rapor edilmiştir (1,3-5).

Doksorubisin ilk olarak 1967 yılında antineoplastik olarak sunulmuş olan toprak mantarlarından elde edilen antrasiklin grubu bir antibiyotiktir. Doksorubisin daha çok hematolojik malignansilerde, sarkoma, lenfoma, prostat karsinomu, tiroid, akciğer ve meme karsinomlarında kullanılır. Doksorubisinin plazmadan atılımı üç fazda olmaktadır. Birinci fazda hızlı (5 dakika), ikinci fazda yaklaşık 60 dakika ve üçüncü fazda 30 saat süren bir atılım meydana getirmektedir (37). Yaygın toksisite ve vücudun ekstravaze alandan toksinleri atamamasından dolayı doksorubisin ekstravazasyon hasarı ile sık ilişkilidir. Doksorubisin ribonükleik asit sentezini engeller ve DNA çift heliks yapısının merkezindeki çiftin arasına bağlanarak DNA replikasyonunu engeller. Bu olayın sonucunda serbest oksijen radikallerini meydana getirir. Bu durum takip eden hücre ölümüne sebep olup, S fazındaki hücreler doksorubisinin etkisine en duyarlı olanlardır (8,33). Doksorubisine bağlı toksisitenin patogenezinde; serbest radikal oluşumunun, antioksidan enzimlerde azalmanın ve lipid peroksidasyonunda artmanın rol oynayabileceği düşünülmektedir (1,2). Patogeneizde sorumlu tutulan serbest radikaller süperoksit, hidroksil radikalleri ve nitrik oksittir. Bir kez hücre ölümü gerçekleştiğinde DNA-Doksorubisin kompleksi parçalanmış hücreler tarafından serbest bırakılır ve canlı hücreler tarafından yakalanır, bu olay tekrarlar ve progresif nekroz meydana gelir. Bu doku nekrozu bir defa bu şekilde meydana geldiğinde yaklaşık 15. güne kadar progresif olarak ilerler. Lökositler bu inflamatuvar yanıtta temel hücrelerdir. Lökosit akımını önlemek lökosit bağlantılı inflamatuvar yanıtı ve doku hasarını azaltmaktadır. Bu

inflatuar yanıt sonucu olarak bazı matriks molekülleri degrade olur ve konnektif doku yıkımı ve remodelingini sağlayan MMP'ler aktive olabilir.

MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR

Matriks metalloproteinazlar aynı zamanda matriksin'ler olarak da isimlendirilirler. MMP'ler ECM'nin çeşitli komponentlerini yıkabilme yeteneğine sahip çinko (Zn^{+2}) bağımlı endopeptidaz grubu proteazlardır. Omurgalılarda yirminin üzerinde MMP tanımlanmıştır (Tablo 1) (13).

Tablo 1. Omurgalılarda tanımlanmış bazı MMP'ler (13)

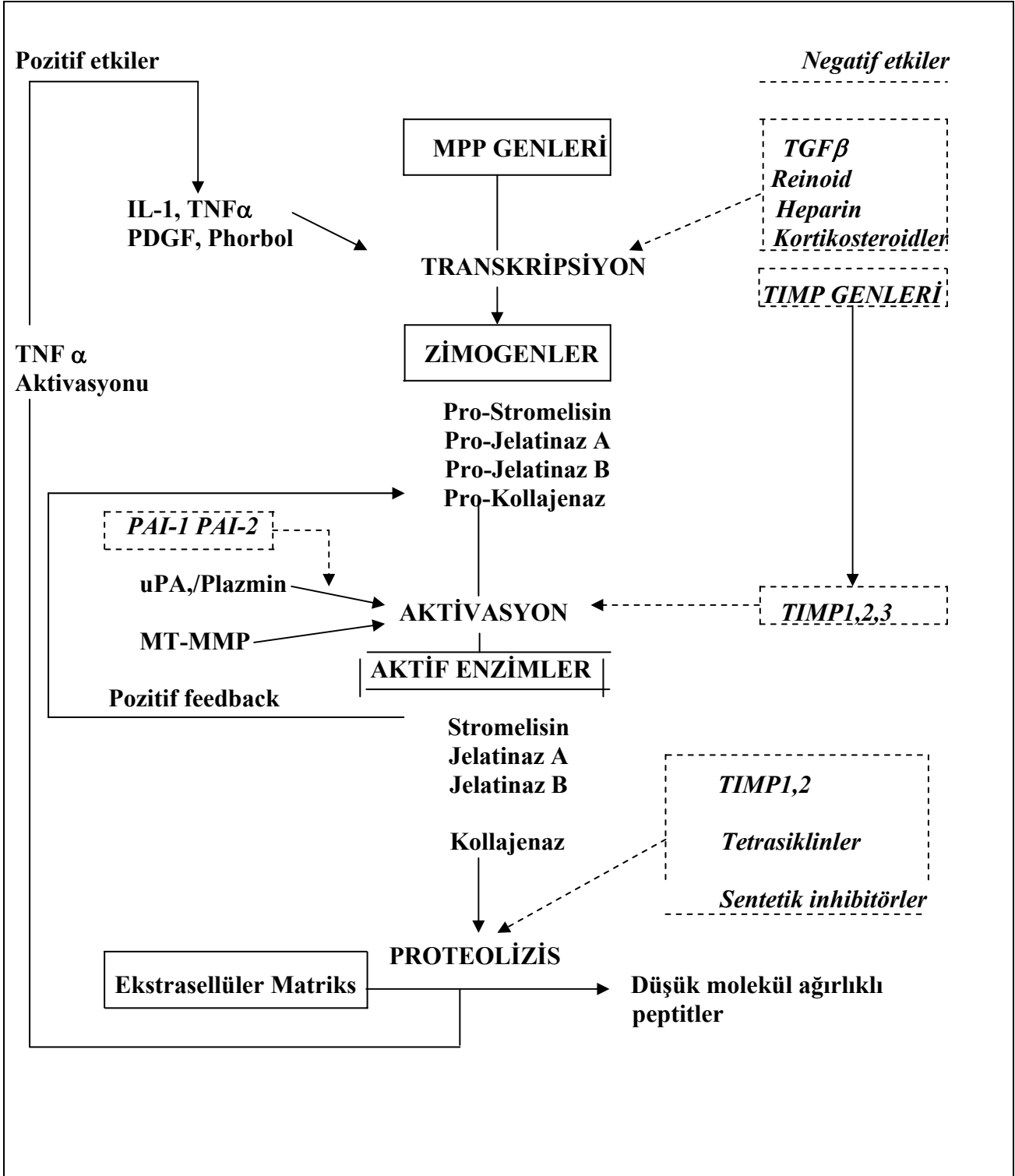
Matrilisinler	Matrilisin (MMP-7) Matrilisin-2 (MMP-26)
Kollajenazlar	Kollajenaz-1 (MMP-1) Kollajenaz-1 (MMP-8 lökosit like) Kollajenaz-1 (MMP-13)
Stromelisinler	Stromelisin-1 (MMP-3) Stromelisin-2 (MMP-10) Metalloelastaz (MMP-12) Stromelisin-3 (MMP-11)
Jelatinazlar	Jelatinaz-A (MMP-2) Jelatinaz-B (MMP-9)
Membran-tipi MMP'ler	MT1-MMP (MMP-14) MT2-MMP (MMP-15) MT3-MMP (MMP-16) MT4-MMP (MMP-17) MT5-MMP (MMP-24) MT6-MMP (MMP-25)

Matriks metalloproteinazlar yapısal ve/veya substrat özelliklerine göre kendi içlerinde en az 5 alt gruba ayrılırlar. MMP'lerin en basit yapısal alt sınıfı matrilisindir ve bir sinyal peptid, bir propeptid domain ve çinko bağlayıcı alanı kapsayan katalitik "domain"den oluşur (20). Kollajenazlar ek olarak, tip I, II, III ve diğer fibriler kollajenlerin doğal sarmal yapılarını yıkan, prolinden zengin menteşe bölgesi vasıtasıyla katalitik "domain"e bağlanmış basit hemopeksin benzeri "domain" içeren küçük "domain" yapılar bulundurlar (38,39). Stromelisinler kollajenazlara benzer yapısal "domain"lere sahip olup matrilisinler gibi geniş substrat özellikleri bulunur ve proteoglikanlar, fibronektin ve laminini kapsayan çoğu ECM proteinlerini yıkarlar (39). Jelatinazlar katalitik "domain"leri içinde fibronektin tip-II'nin üç kez tekrarını içeren ek bir bölge içerir. Bu onlara gelatin ve aynı zamanda tip-IV, V, VII ve X

kollajen, fibronektin ve laminini yıkmak için bir üstünlük sağlar (38,39). MMP'lerin beşinci büyük alt grubu membran tipi MMP'lerdir (MT-MMP). Bu MMP'ler glikozilfosfatidilinozitol tutunma noktaları veya C-terminal transmembran "domain"leri vasıtasıyla hücre yüzeyine tutunur ve diğer ECM substratları kadar jelatin, fibronektin ve aggrecan'ı yıkarlar (39).

Tüm MMP'ler öncül enzimler olarak sentezlenir ve çoğu inaktif pro-MMP'ler olarak salınırlar. MMP'lerin katalitik "domain"leri enzim aktivitesinin açığa çıkması ve stabilitesi için gerekli ek bir yapısal Zn^{+2} ve iki-üç adet kalsiyum (Ca^{+2}) iyonu içerir (13). MMP'lerin kontrol mekanizması üç seviyede çalışır; transkripsiyon, latent proenzimlerin aktivasyonu ve proteolitik aktivitenin inhibisyonudur (Şekil 1) (40).

Ekstrasellüler matriks morfogenez ve gelişim esnasında gerekli olan hücrel çevre oluşumu için önemli makromoleküllerdir (41). MMP'ler yara iyileşmesinin anjiogenezis, inflamasyon ve fibrozis aşamalarında etkilidir (19). Fibroblastlar ve keratinositler MMP salınımını tetikler ve sonuç olarak ECM yıkımını ve onun kompozisyonunu sağlar. Yapılan deneysel çalışmalarda keratinositlerin 5 kat fazla MMP9 salgıladığı ve fibroblastların genellikle MMP2 salgıladığı saptanmıştır (26). MMP'ler pek çok normal biyolojik sürece (embriyonik gelişim, blastokist implantasyonu, organ morfogenezi, sinir büyümesi, ovülasyon, servikal dilatasyon, doğum sonrası uterus involüsyonu, endometrial siklus, saç folükülü döngüsü, kemik remodelingi, yara iyileşmesi, anjiogenez, apoptoz vb) ve patolojik sürece (artrit, kanser, kardiyovasküler hastalık, nefrit, nörolojik hastalık, kan-beyin bariyerinin yıkımı, periodontal hastalık, cilt ülserasyonu, gastrik ülser, korneal ülserasyon, karaciğer fibrozisi, amfizem, fibrotik akciğer hastalığı vb) katılır (11,13,41). Akut ve kronik iskemili hastalarda MMP seviyeleri ölçülmüş, kronik iskemili hastalarda MMP9 yüksek bulunmuş, bu sonucun aterosklerozis ve iskemi ile ilişkili olduğu düşünülmüştür (42). MMP'lerin asıl işlevi çoğu hastalığın progresyonu ve doku resorpsiyonu sırasında ECM'nin uzaklaştırılması olsa da, ECM makromoleküllerinin özgün proteolizisi ile bazı biyolojik fonksiyonları değiştirebilmesi de dikkat çekicidir (13).



Şekil 1. Metalloproteinazların kontrol mekanizması (40)

TETRASİKLİNLER

Tetrasiklinler yapıca birbirine çok benzeyen ve tetrasiklik bir bileşik olan naftasenkarboksamidden türeyen geniş spektrumlu antibiyotiklerdir. *Streptomyces aureofaciens*'den 1948'de izole edilen tetrasiklinler grubundan ilk antibiyotik olan klortetrasiklinin bulunmasından sonra, 1953'de klortetrasiklinin dehalojenizasyonu ile tetrasiklinler izole edilerek tedaviye sokulmuştur. Diğer *streptomyces* türlerinden izolasyonla ya da yarı sentetik yolla değişik tetrasiklin türevleri elde edilmiştir.

Orta yarı ömürlü tetrasiklinler: Klortetrasiklin, oksitetrasiklin, tetrasiklin, limesilin, demeklosiklin. Doğal ekstraksiyonla elde edilirler.

Uzun yarı ömürlü tetrasiklinler: Doksisiklin, minosiklin, metilensiklin. Yarı sentetik antibiyotiklerdir.

Yapılarında dört halka içerdiklerinden tetrasiklin adını almışlardır. Hepsinde karboksamid ortak yapısı bulunur. R, R1, R2 ve R3 pozisyonuna farklı köklerin gelmesiyle birbirlerinden ayrılırlar (43).

Etki Mekanizması

Tetrasiklinler bakteriyostatik etkili maddelerdir. Tetrasiklinler bakteriyostatik etkilerini bakteri hücreesindeki ribozomların 30 S alt ünitelerine reversibl bir şekilde bağlanarak, böylece 50 S alt birimlerinin akseptör noktasına (A noktasına) aminoasil transfer RNA'nın bağlanmasını bloke ederek ve peptid zincirine aminoasid eklenmesini olanaksız duruma getirerek gösterirler. Protein sentezini inhibe eden antibiyotikler içinde en az selektif olandır (44). Ancak günümüzde yapılan son çalışmalar, doksisiklin ve diğer tetrasiklin türevlerinin güçlü MMP inhibitörü olduklarını, antibiyotik etkileri dışında birçok hücresel foksiyonu etkileyen pluripotent ilaçlar olduğunu göstermiştir (11). Kimyasal olarak modifiye edilmiş tetrasiklinler ile yapılan çalışmalar antibiyotik ve anti-MMP etkisinin molekülün farklı bölgelerinde olduğunu göstermiştir. Buna göre tetrasiklinlerin antibiyotik etkileri A halkasının karbon-4 pozisyonundaki dimetilamino grubunda, anti-MMP aktivitesi karbon-12 hidroksil ve karbon-11 karbonil oksijen grubunda bulunmaktadır (44).

Tetrasiklinlerin anti-MMP aktivitesine dayanarak yapılan çalışmalarda doksisiklin ve diğer tetrasiklin türevlerinin yara iyileşmesi üzerine etkili olduğu (13), lökosit akışını azaltarak doku hasarını azalttığı (11,44,45), damar intima kalınlaşmasını azalttığı (44,46) aortik anevrizma (47), periodontal hastalık (11,41), artritte doku yıkımını azalttığı (48), tümör hücre invazyonu, tümör metastazı (49,50) ve tümör anjiogenezisini inhibe ettiği (21,22,51)

gösterilmiştir. Myokard infarktüsü sonrası doksisisiklin kullanımı ile MMP inhibisyonu sağlanmış ve muhtemel doku hasarı azaltılmıştır (52).

Doksisisiklin'in MMP inhibisyon mekanizması tam olarak anlaşılmamıştır. Yapılan çalışmalar bu mekanizmaların; Pro MMP'lerin oksidatif inhibisyonu, doksisisiklinin doğrudan enzimle ilişkili Zn^{+2} veya Ca^{+2} ya bağlanarak aktif bölgeyi bloke etmesi, proenzimi aktivasyon esnasında parçalanmaya yatkın hale getiren yapısal değişiklikleri indüklemesi, MMP mRNA transkripsiyonunun inhibisyonu, ekstrasellüler aktivasyon esnasında pro-MMP zimojenin yıkılması ve MMP koruyucu alfa-1p'nin inhibisyonu, indirekt olarak serin proeazların (PNL elastaz) aktivite azalması ile olabileceğini varsaymaktadır (11). Tetrasiklinlerin periodonditis ve kemik rezorpsiyonu azaltılması amacıyla onların yakın zamanda tespit edilen intrensek-antienflamatuvar aktivitelerinden faydalanılmıştır (45). Tetrasiklinler kollejenazlar üzerine olan etkileri ve antienflamatuvar özellikleri nedeniyle romatoid artrit de kullanılmıştır. Doksisisiklinin lökosit, makrofaj ve kondrosit kollejenazı invitro olarak inhibe ettiği belirtilmiştir (48).

Tetrasiklinlerin diğer antienflamatuvar mekanizmaları çeşitli aşamalarda meydana gelmektedir. Bu mekanizmalardan biri araşidonik asit ve prostoglandin E2 inhibisyonu ile inflamatuvar hücre yıkımının engellemesidir. Ayrıca lökosit tip kollejenaz (MMP8) inhibe ederek nitrik oksit ve L arginin metabolizması etkileyerek antienflamatuvar etki gösterdikleri düşünülmektedir (11,13).

Tedavide Kullanımları

Tedavide kullanılan antibiyotikler içinde tetrasiklinler en geniş spektrumlu olanlardır. Günümüzde tetrasiklinlerin başlıca endikasyonları klamidya, mikoplazma, brusella, leptospira, aktinomiçes ve riketsiya gibi mikroorganizmalardan meydana gelen infeksiyonlarla sınırlanmıştır. Ancak diğer antibiyotiklere alerji oluşması durumlarında duyarlılık testi yapılarak, sıradan infeksiyonlara karşı kullanılabilirler (43).

Rezistans

Tetrasiklinlere karşı rezistans oluşumu, penisilinlere karşı olduğu gibi, genellikle yavaş ve çok aşamalı şekilde olur. Bir tetrasikline rezistans geliştiren mikroorganizma, diğer tetrasiklinlere de genellikle rezistans geliştirmiştir (43).

Farmakokinetik

Tetrasiklinler oral veya parenteral olarak verilirler. Lokal uygulama için merhem ve damla formları bulunur. Oral verilişlerinden sonra doksisisiklin ve minosiklin (%90-100) dışındaki tetrasiklin türevleri sindirim kanalından genellikle düzensiz ve tam olmayan (%60-70) bir absorpsiyona uğrarlar. Sindirim kanalından tetrasiklinlerin başlıca absorbe olduğu yerler, mide ve ince barsaklardır. Karaciğerde metabolize olurlar. Başlıca eliminasyon yolları böbreklerdir (43).

Yan Etkileri

- 1- Gastrointestinal sistem bozuklukları: Sindirim mukozasına iritan etkileri sonucunda bulantı, kusma ve diyare oluşabilir.
- 2- Karaciğer bozuklukları: Yüksek dozda oral ve özellikle parenteral tetrasiklin uygulanması durumunda ağır sarılık tablosu geliştiği bildirilmiştir.
- 3- Böbrek bozuklukları: Böbrek hastalarında protein sentezini inhibe ederek ve bir katabolik etki oluşturarak üremi tablosunu ağırlaştırabilirler.
- 4- Dişlerde renklenme yapabilirler
- 5- Allerjik belirtiler: Ürtiker gibi.
- 6- Hematolojik bozukluklar
- 7- Fotosensibilizasyon
- 8- Psödötümör serebri (43)

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı ve Patoloji Anabilim Dalı tarafından etik kurul onayı (ek 1) alındıktan sonra Ağustos 2006- Eylül 2006 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Araştırma Birimi'nde yapıldı. Deneyde bu laboratuarda üretilen 40 adet 300-350 g ağırlığında erişkin erkek *Wistar-Albino* cinsi sıçanlar kullanıldı. Denekler 21 ± 1 °C ısıda, 12 saat karartılıp 12 saat aydınlatılan ve % 50-60 oranında nemlendirilen bir ortamda tutuldular. Deney gününe kadar sıçanların beslenmesinde standart pellet yem ve şehir içme suyu kullanıldı. Çalışma, kontrol grubunda on, diğer üç grupta onar adet sıçandan oluşan dört grupta toplam 40 adet sıçan üzerinde yapıldı (Tablo 2).

Tablo 2. Gruplar

Gruplar		Tedavi	Gün sayısı
1. Grup	n=10	Bir gün önce po. doksisisiklin tedavisine başlanan grup	16
2. Grup	n=10	Aynı gün po. doksisisiklin tedavisine başlanan grup	15
3. Grup	n=10	Bir gün sonra doksisisiklin tedavisine başlanan grup	14
4. Grup	n=10	Kontrol grubu	–

Po: Peroral

ANESTEZİ VE CERRAHİ İŞLEMLER

Cerrahi işlem öncesinde deneklere 15 mg/kg dozunda xylazin hidroklorür (Rompun[®], Bayer-İstanbul) ve 70 mg/kg dozunda ketamin hidroklorür (Ketalar[®], Pfizer-İstanbul) kas içine uygulanarak anestezi sağlandı. Tüm sıçanların sırt cildi traşlandıktan sonra %10 povidon iyot çözeltisi ile temizlendi. Çalışmadaki sıçanlara 1 mg doksorubisin 1 cc izotonik içinde sırt

bölgesine intradermal olarak 28 numara iğne ile yapıldı. Tedavi uygulanan deney grubundaki sıçanlara cerrahi işlemden hemen sonra orogastrik sonda ile sıçanlarda etkinliği Bendeck ve ark. (44) tarafından daha önce kanıtlanmış 30 mg/kg/gün dozunda doksisiklin (Monodox[®], Deva-İstanbul) verildi. Doksisiklin cerrahi işlemden bir gün sonra içme suyuna katılarak yine aynı dozda olmak üzere 15 gün süreyle verildi. Nekroz gelişimleri izlendi. Nekroz alanları 7, 10, 12 ve 15. günlerde dijital kamera ile kaydedildi (Olympus Camedia 8080 japan). Nekroz alanı tüm gruplarda görüntü analiz programı kullanılarak değerlendirildi ve kaydedildi (UTHSCSA Image Tool Version3.00 San Antonio Teksas).

Biopsi materyali 15. günde tüm nekrotik dokuları ve çevresindeki sağlıklı dokuyu içerecek şekilde elde edildi ve her grup için histopatolojik inceleme yapıldı.

Deney sırasında denek kaybı olmadı. Nekrotik dokuların biyopsileri alındıktan sonra tüm denekler yüksek doz intraperitoneal pentobarbütal sodyum ile sakrifiye edildi.



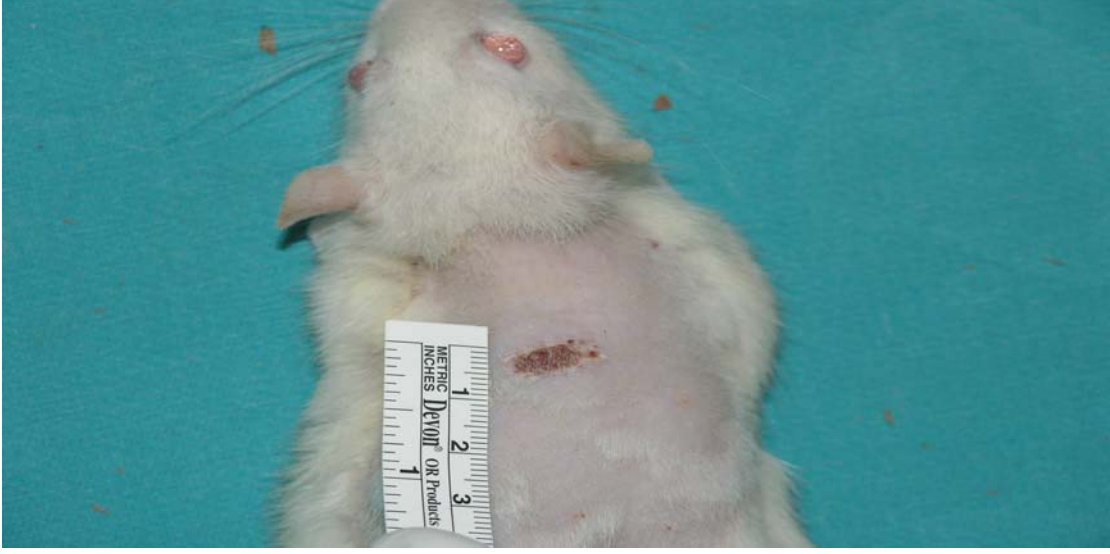
Şekil 2. Ratlar uyutulduktan sonra sırt bölgeleri traşlandı



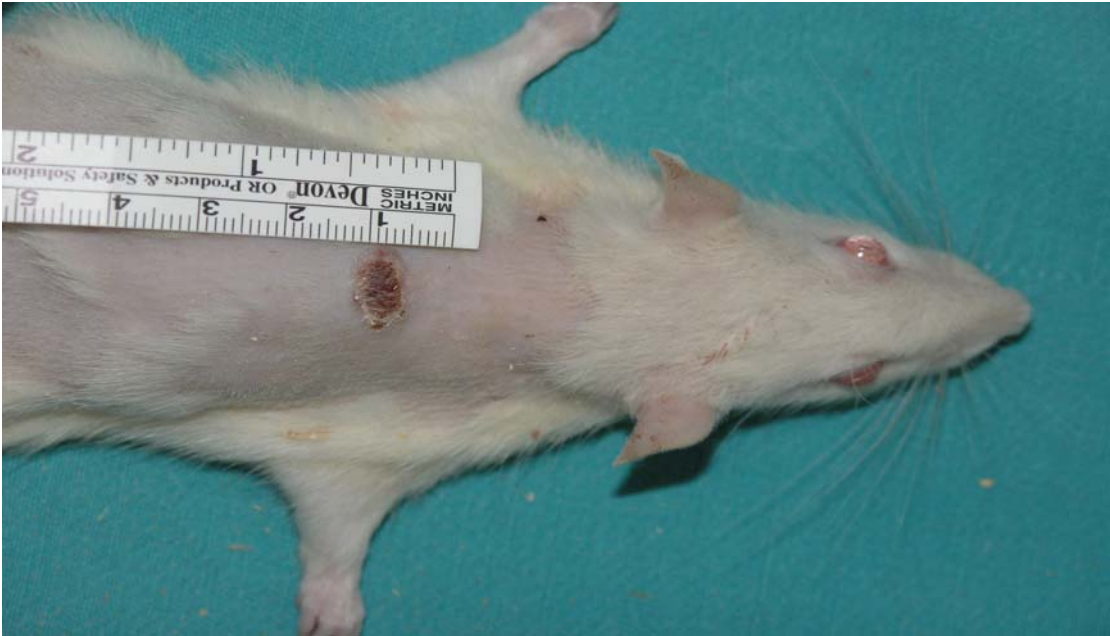
Şekil 3. İntradermal doksorubisin enjeksiyonu sırasında



Şekil 4. İntradermal enjeksiyon sonrası, hiperemi ve bül oluşumu



Şekil 5. Bir hafta sonra tedavili grupta nekroz oluşumu görülmekte. Yan tarafında görülen cetvel ile milimetrik standart oluşturularak dijital fotoğraf üzerinden alan ölçümü yapıldı



Şekil 6. Tedavili grupta 10 gün sonra nekroz oluşumu ölçüm için görünmekte



Şekil 7. Tedavili grupta 12. günde nekroz alanı görülmekte



Şekil 8. Tedavili grupta 15.günde nekroz alanı en büyük boyutlarında görülmekte



Şekil 9. Nekrotik alanlar 15. gün nekroz alanı çevresindeki ülserasyon ve sağlıklı çevre doku ile birlikte çıkarıldı

HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Metod

Makroskopik olarak subkutan dokuyu içeren dermal biyopsilerin tamamının merkezinde yuvarlak, çok köşeli veya oval sınırlı krutlu nekroz alanı görüldü. Nekroz alanları 1. 2. ve 3. gruplarda 4. gruba oranla belirgin olarak küçük izlendi. Tüm biyopsilerden alınan parçalar nekrozun ortasından geçecek şekilde tam kat olarak alınmaya özen gösterildi. Alınan parçalar %10 formaldehit içerisinde 24 saatlik tespit edildikten sonra, 16 saat boyunca alkol dehidratasyonuna tabi tutuldu. Parafin bloklara gömülen parçalardan elde edilen 5 mikron kalınlığındaki kesitler hematoksilin-eozin boyaları ile boyanmış ve ışık mikroskobu (Nikon E600-Japan) altında incelendi. İnceleme sırasında genel histopatolojik değerlendirme yanı sıra, tüm gruplarda bulunan nekroz alanlarının her iki yanındaki sağlam doku alanlarının her birinde toplam 10 büyük büyütme alanında ekstrasvaze nötrofil lökositler sayıldı (53,54).

İSTATİSTİKSEL İNCELEME

Verilerin değerlendirilmesi Trakya Üniversitesi Tıp Fakóltesi Dekanlığı Bilgi İşlem Merkezi'nde bulunan S0064 Minitab Release 13 (lisans numarası wcp 1331.00197) programı ile yapıldı. Nekrozların Planimetrik ölçüm sonuçları Kolmogrov –Simirnov testi ile normal dağılıma uygunluğu test edildi. Tek yönlü Anova testi ile gruplar arasında fark tespit edildi ve fark olan gruplar kendi aralarında Bonferoni testi ile karşılaştırıldı. Fark, p değeri 0.05'den küçük olduğunda anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

İntradermal doksisisiklin enjeksiyonu sonrası 2-3 günde lokal ödem gözlemlendi. Eritem, büll formasyonu, yüzeysel ülserasyon gibi nekrotik değişiklikler 3-5 gün arasında gözlemlendi. Belirgin ülserasyon genelde 7. günde gelişti, 15. güne kadar ilerledi.

Deneysel çalışma sonucunda gruplardaki nekroz alanlarının ölçümlerine ve histopatolojik nötröfil sayımına ait sonuçlar Tablo 3 ve 4' de görülmektedir.

Onbeş gün sonunda nekrozun yüzey alanı ortalaması 1. grupta $61.21 \pm 15.89 \text{ mm}^2$, 2. grupta $77.99 \pm 22.49 \text{ mm}^2$, 3. grupta $120.48 \pm 29.17 \text{ mm}^2$, kontrol grubunda $129.74 \pm 28.55 \text{ mm}^2$ idi. Nekroz yüzey alanları karşılaştırıldığında kontrol grubu ile 1. grup ve 2. grup arasında önemli fark saptandı ($p < 0.001$). Grup 3 ile kontrol grubu nekroz yüzey alanları karşılaştırıldığında ortalama değerler daha düşük olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Grup 1 ile Grup 2 arasında istatistiksel önemli fark saptanmamıştır. Grafikte tüm gruplarda mevcut ortalama ülser boyutları, standart deviasyonları ile birlikte görülmektedir (Şekil 10). Grupların nötröfil sayımlarının ortalama ve standart deviasyonları görülmektedir (Şekil 11).

Histopatolojik olarak sayılan nötrofillerin Grup 1, Grup 2 ve Grup 3'de kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu saptandı ($p < 0.001$).

Histopatolojik incelemede epidermis, dermis ve subkutanöz dokuda koagulatif nekroz görüldü. Nekroz derinliği hakkında kantitatif bir değer verilemedi. Ülserasyon nedeniyle izlenmeyen epidermisin yerini tamamen fibrinopürülan nitelikteki eksudanın aldığı görüldü. Nekroz tüm gruplarda vertikal olarak cildin altında kas dokusunu içeren derin dokuya kadar ilerlemişti (Şekil 12). Grup 2, 3 ve 4'de nekrotik kas liflerinin arasında distrofik kalsiyum

birikimleri gözlemlendi. Nekrozun derinliği tüm gruplarda benzer olmakla beraber Grup 1 ve 2' de derinliğin daha az olduğu görüldü. Tedavi alan tüm gruplarda nekroza komşu alanlarda inflamatuvar hücreler azalmış olup, kontrol grubunda nötrofil lökositlerden zengin mikst tipte hücre infiltrasyonu, ödem ve granülasyon dokusu oluşumu nekroza komşu alanlarda yoğun olarak izlendi (Şekil 15-16). Kontrol grubunda intra-perivasküler inflamatuvar mikst tipte hücre, yoğun vasküler konjesyon ve eşlik eden tromboz görülmektedir(Şekil 16). Grup 1 ve 2' de kontrol grubuna göre inflamatuvar yanıtın, kapiller nekroz ve vasküler trombozisin azaldığı gözlemlendi (Şekil 13). Grup 2 de bu bulgular biraz daha fazla idi (Şekil 14). Ayrıca Grup 1 ve 2' de ciddi damar duvarı hasarı ve etkilenmiş damar sayısı diğer gruplara oranla daha az görüldü. Tüm gruplarda perinekrotik dokularda eritrosit ekstrasvazasyonu ve buna eşlik eden nötrofil lökositlerden zengin, lenfosit, monosit ve mast hücrelerini de içeren mikst tipte iltihabi hücre infiltrasyonu izlendi. Bu infiltrasyon özellikle 4. Grup ratlarda oldukça belirgin ve yine bu grup sıçanlarda kapiller duvarlarda daha sık fibrinoid nekroza rastlandı.

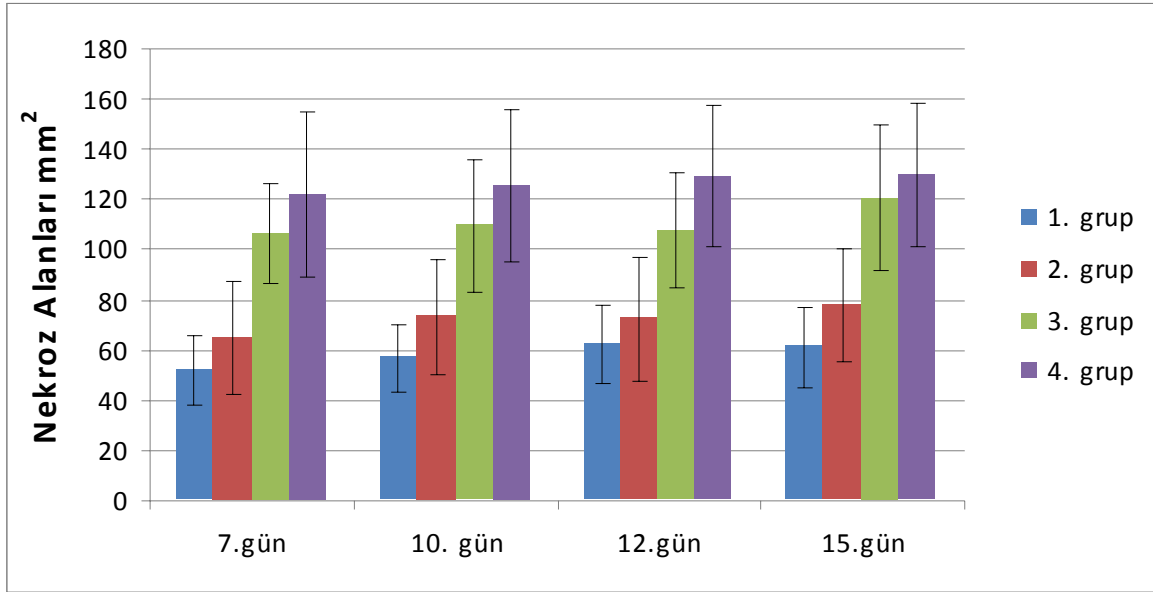
Tablo 3. Gruplara ait nekroz ölçümlerinin günlere göre ortalama değerleri, standart hataları, grupların en düşük ve en yüksek değerleri

Nekroz ölçümü	Gruplar	Sayı	Ortalama	Standart hata	En düşük değer	En yüksek değer
7. gün	1	10	52,01	13,67	31,16	72,79
	2	10	64,65	22,48	41,79	120,81
	3	10	106,35	20,24	75,40	134,69
	4	10	122,09	33,20	59,45	169,93
	Total	40	86,28	36,90	31,16	169,93
10. gün	1	10	56,87	13,41	33,24	86,21
	2	10	73,30	22,68	47,76	120,21
	3	10	109,60	26,67	75,40	167,20
	4	10	125,69	30,36	80,00	180,54
	Total	40	91,37	36,24	33,24	180,54
12. gün	1	10	62,00	15,52	37,38	84,94
	2	10	72,47	24,70	48,31	130,24
	3	10	107,60	22,81	75,40	148,93
	4	10	129,34	28,43	80,08	177,30
	Total	40	92,85	35,36	37,38	177,30
15. gün	1	10	61,21	15,89	38,78	81,79
	2	10	77,99	22,49	52,79	130,02
	3	10	120,48	29,17	70,95	150,72
	4	10	129,74	28,55	96,58	190,23
	Total	40	97,35	37,37	38,78	190,23

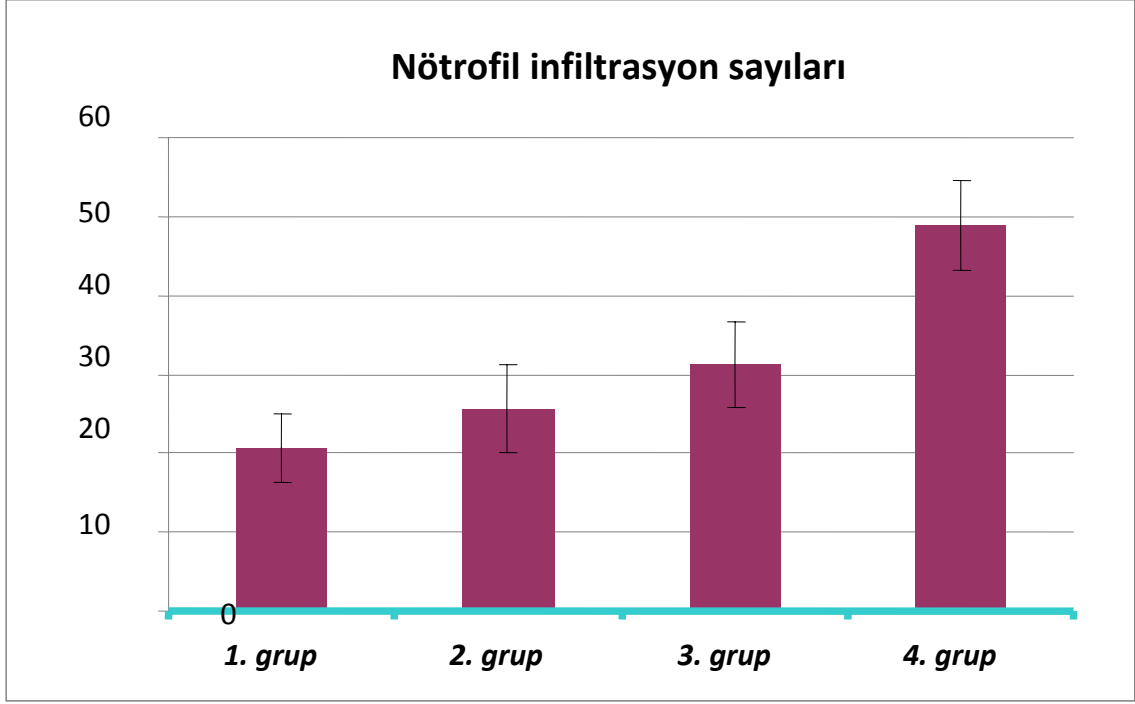
Tablo 4. Gruplara ait nötrofil sayıları

	gruplar		ortalama	Standart hata	En düşük sayı	En fazla sayı
ölçülen nötrofil sayısı*	1	10	20,70	4,39	14,00	28,00
	2	10	25,60	5,52	18,00	36,00
	3	10	31,20	5,39	23,00	38,00
	4	10	48,80	5,73	40,00	56,00
	Total	40	31,57	11,89	14,00	56,00

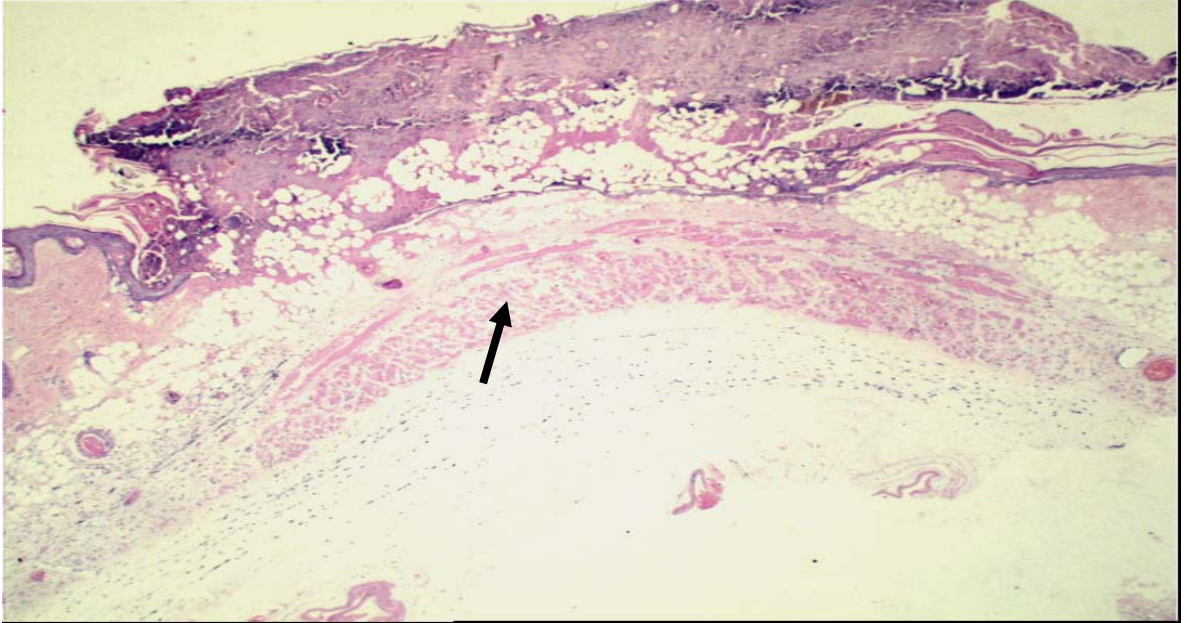
*Nötrofil sayıları, nekroz alanının her iki tarafında ayrı ayrı beş mikroskopik alanda sayılarak ortalamalarının alınması ile elde edildi.



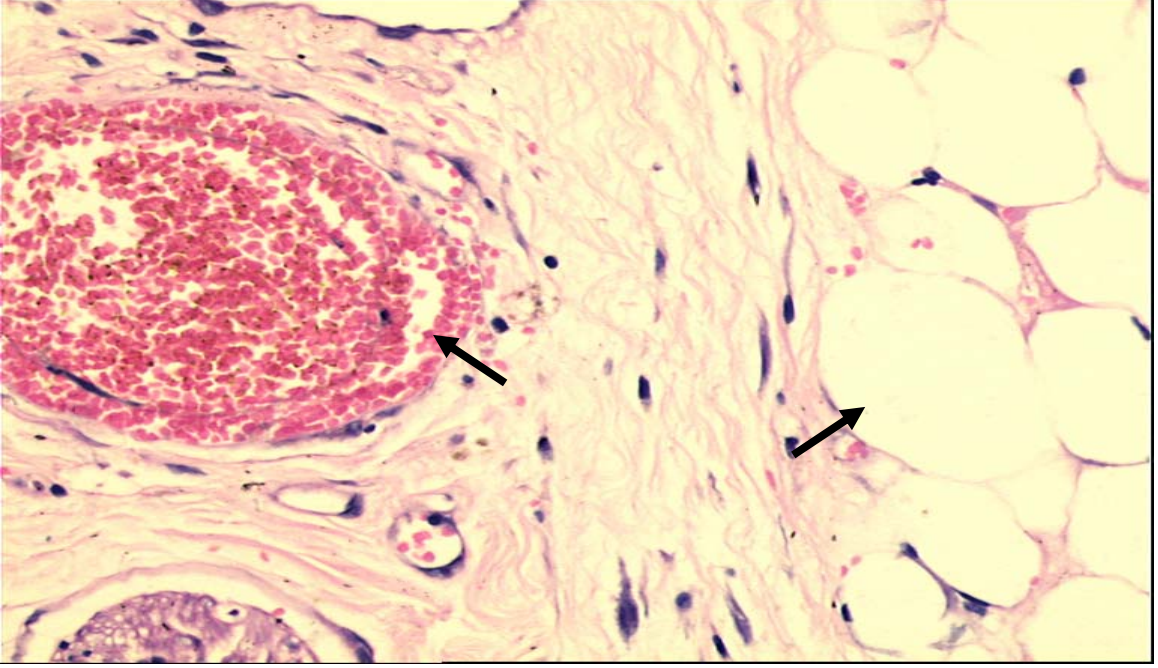
Şekil 10. Grupların ortalama nekroz alanı ölçümleri, standart deviasyonları ile birlikte görülmektedir



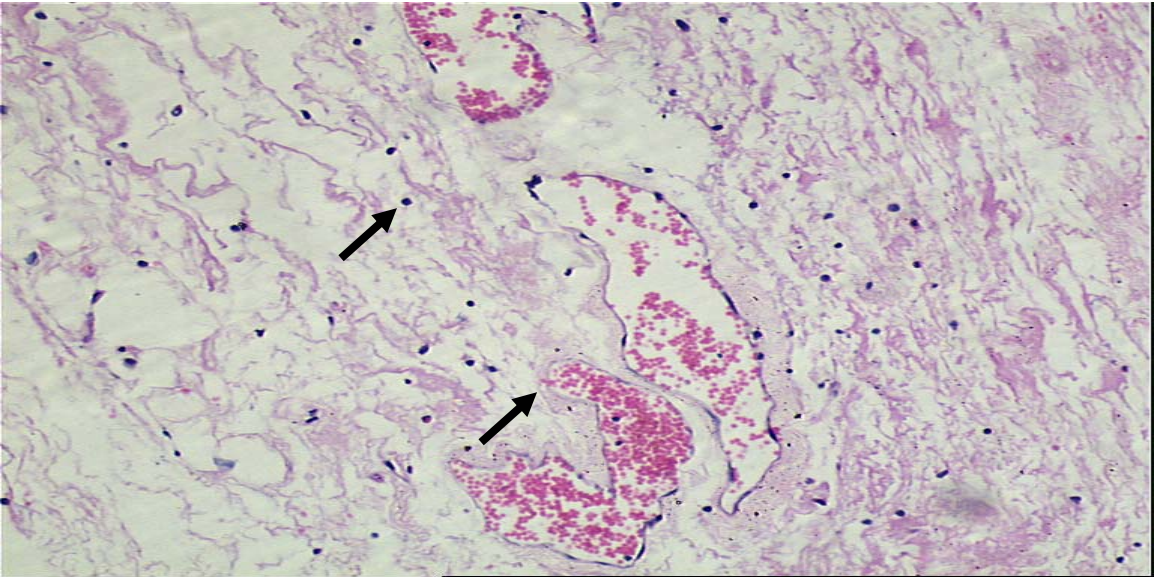
Şekil 11. Grupların nötrofil ölçümleri tedaviye 1 gün önce başlanan grupta en düşük olarak bulundu



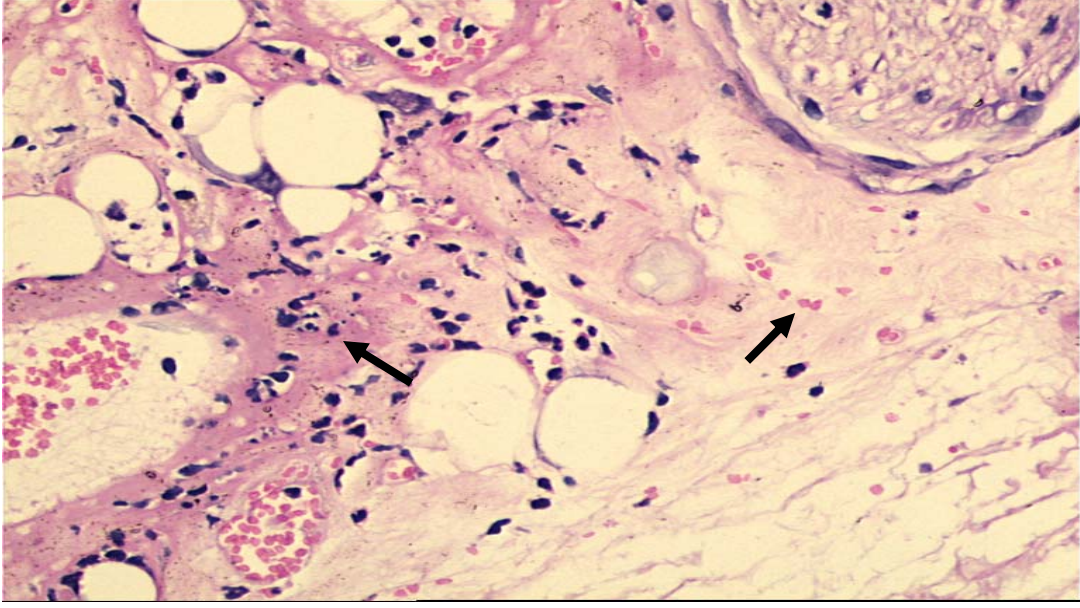
Şekil 12. Cilt altı yağ ve kas dokusunu da içine alan derin nekroz (H&E x 12.5 büyütme)



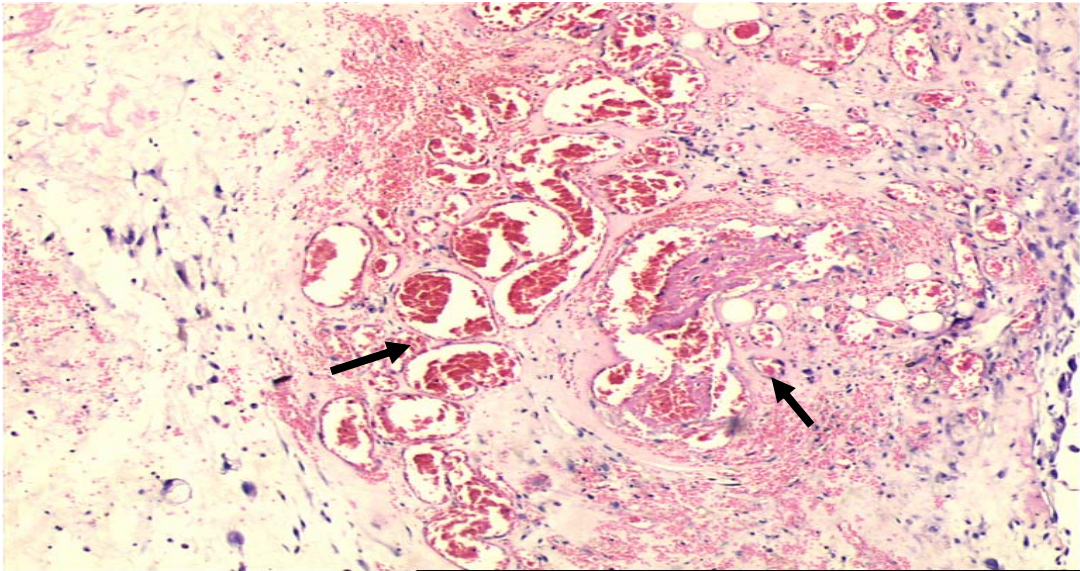
Şekil 13. Grup 1' de konjesyon halinde damar bulunduran, iltihap hücresi içermeyen yağ ve bağ dokusu (H&E x 200 büyütme)



Şekil 14. Grup 2' de damarlarda konjesyon ve dilatasyon, gevşek, ödemli bağ dokusunun içinde seyrek mikst tipte iltihap hücreleri (H&E x 100 büyütme)



Şekil 15. Grup4' de konjesyon halindeki damarların etrafında ekstravaze eritrositler ve bol miktarda nötrofil lökosit, seyrek lenfosit (H&E x 200 büyütme)



Şekil 16. Grup 4 yoğun vasküler konjesyon ve eşlik eden tromboz, damarların etrafındaki bağ dokusunda yoğun ödem (H&E x 100 büyütme)

TARTIŞMA

Kemoterapötik ajanların kaza sonucu ekstrevasyonu kanserli hastaların tedavisinde hayat kalitesini düşüren bir komplikasyondur. Kemoterapötiklerin damar içi kompartmandan intersitisyel alana kaçıışı ile ekstrevasyon başlar. Deri, deri altı, kas, tendon, sinir gibi dokular ekstrevasyon olan sıvının niteliğine ve miktarına bağlı olarak etkilenir (1,2). Ekstrevasyon sonrası uzun tedaviler ve ameliyatlar gerekebilir. Bu komplikasyon zaten kanser tedavisi nedeniyle hayat kalitesi düşmüş olan hastalarda fonksiyon ve moral olarak kayıplara yol açar. Dokularda hasara yol açan bu ilaçların nekrotizan etkilerinden kaçınmanın en iyi yolu, ekstrevasyonun engellenmesidir (3,4,6).

Son yıllarda kanser tedavilerinde doksorubisin içeren protokollerin artması ile bu kazalarda artmıştır. Doksorubisin çeşitli tümörlerin tedavisinde kullanılan antitümoral bir ajandır. Yaygın toksik spektrumundan dolayı ilacın ekstrevasyonu cilt nekrozu ile sonuçlanır (9,10). Bunlara ek olarak radyasyon terapisi ile daha önce hasarlanmış olan deri, adriamisin veya başka bir vezikan ajan ekstrevasyonuna maruz kaldığında radyasyon hasarı reaktif olur ki; bu olaya hatırlama fenomeni “Recall Phenomenon” adı verilir (55). Adriamisine reaksiyon infüzyon alanında veya daha uzak alanlarda tanımlanmıştır. Kemoterapötik ajanların ekstrevasyonu sonrası nekroz meydana gelip gelmemesinde etken olan bazı faktörler belirlenmiştir. Ajan ekstrevasyon olduğunda, konsantrasyonu, dozu, ekstrevasyon alanı, konak cevabı, geç farketmek ve tedavi uygulamasının tipi etkilidir (1). Vezikan ajanlar, iritan veya nonvezikan ajanlara göre daha yüksek oranda cilt nekrozuna sebep olabilir (1,2,4,6,9). Nekroz inspeksiyon ile geç farkedilir, çünkü 7-10 günde belirgin olur, bu da tedavinin gecikmesine sebep olur. Klinik olarak ekstrevasyon yaralanması

kendini bül, eritem, ağrı ve nihayetinde nekrozla gösterir. En sık ülserasyon alanları, antekubital alan, önkol, el bileğinin volar yüzü, el dorsumu ve göğüs duvarıdır (5,6). Başlangıçta küçük olan lezyon ilerler ve daha kötü hal alır, çünkü DNA-Doksorubisin kompleksi serbest kaldığında canlı hücreler tarafından tutulur ve lezyon progresyon gösterir. Bu ilerleme 15. güne kadar devam eder. Ekstravazasyon hasarı meydana geldiğinde genellikle yapılan tedavi hemen intravenöz infüzyonun durdurulması, etkilenmiş ekstremitenin elevasyonu, sıvın aspirasyonu ve aralıklı buz uygulamasıdır (3-6,56,58).

Çeşitli kemoterapötik ajan ekstravazasyonunda literatürde çok sayıda lokal injeksiyon ve topikal antidotlar önerilmiştir; bunlar dimetilsülfoksit (27,28), deksarozone (27,29,57,59), lokal bikarbonat (60), hyaluronidaz (61), heparin (34), granulosit makrofaj-koloni stimule edici faktör ve granulosit koloni stimule edici faktör (36), C vitamini ve salindir (3,30). Bu antidotlardan deksarozane DNA topoizomeras II enzim inhibisyonu etkisi nedeniyle kullanılmıştır. Önerilen antidotların her zaman bulunur maddeler olmaması kullanımlarını zorlaştırmaktadır. Kullanılan bu tedavilerin ortak amacı ekstravaze olan sıvının konsantrasyonunu azaltmak ya da zararlı etkisini en aza indirmektir. Damar dışına kaçan sıvının konsantrasyonunu azaltmak için yıkama işleminde yeni insizyon yerleri açmak gerekmektedir ve yeni bir travma yaratır. Ayrıca ekstravazasyon sonrası sülük uygulaması yapılarak ekstravaze olan maddenin konsantrasyonunun azaltılması sağlanmıştır (62). Tıbbi sülüğün ekstravazyondan hemen sonra temin edilememesi ve sülük uygulamasının enfeksiyona yatkınlığı arttıracığı göz önünde tutulmalıdır. Doku içinde ekstravaze olan sıvının konsantrasyonunu azaltmak ve cilt altındaki maddenin gerginliğinden dolayı oluşacak basıncı azaltmak amacı ile kanül ile emme yöntemi kullanılmıştır. Bu işlemde basınç ile travmayı artırır ve doku nekrozunun armasına sebep olabilir, ayrıca yeni bir enfeksiyon yaratılmaması için steril şartlarda yapılmalıdır. Ekstravazasyon sonrası nekroz alanını azaltmak için yapılan hiperbarik oksijen tedavisi ile olumlu sonuçlar alınmıştır (31,32). Bu tedavinin her yerde mümkün olmaması ve pahalı bir tedavi olması faydalarını sınırlamaktadır.

Doksorubisinin oksijen radikalleri üzerinden yaptığı etkiyi azaltmak amacıyla çeşitli antioksidanlarda kullanılmıştır (63). Ekstravazasyonun yaptığı progresif hasarın akrep-yılan zehirlerine benzer hasar meydana getirdiği düşünülmüş ve bu inflamatuvar mekanizmasının engellenmesi amacıyla deneysel olarak dapson kullanılmıştır (64).

Bunların çoğu lokal enflamasyonun azaltılması, nötralizasyon ve vezikan ajanların dilüsyonu içindir. Erken cerrahi debrütman minimal ülserin maksimal iyileşmesi için en etkili yöntem olarak görünmektedir (30). Fakat ekstravaze olan alanın sınırlarının tam olarak

belirlenememesi ve ne kadar dokunun eksize edileceğinin tam olarak bilinmemesi önemli bir engeldir. Ekstravazasyon yaralanmasında tüm bunlar tamamen yeterli değildir ve bu yüzden daha efektif metodların geliştirilmesine ihtiyaç vardır.

Ekstravazasyonda doksorubisinin yaptığı lokal toksik hasar gibi, konak cevabı da diğer önemli etkidir. Yüksek immün cevap daha büyük nekroza yol açar. Ekstavazasyon progresyonunda hücrelerin ölümünde DNA-Doksorubisin kompleksi dominant etkili görünmesine rağmen, güçlü lökosit bağlantılı inflamatuvar yanıt, çevre dokuların bu kompleksten zehirlenmesine yol açabilir. Bu yüzden lökosit bağlantılı inflamatuvar mekanizmanın inhibisyonu ekstravazasyon hasarını azaltabilir.

Doksisiklin tetrasiklin grubunda yer alan bir antibiyotiktir. Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalar tetrasiklinlerin birçok hücrel fonksiyonu etkileyen pluripotent ilaçlar olduğunu göstermiştir. Doksisiklin ve diğer tetrasiklin türevlerinin MMP inhibisyonu ile dokuya lökosit ve makrofaj akımını azalttığı, kollejenazlar üzerine baskılayıcı etkisi ile yara iyileşmesine etkili olduğu, damar intima kalınlaşmasını azalttığı, aortik anevrizma, periodontal hastalıkta ve artritisde doku yıkımını azalttığı, tümör hücre invazyonunu, tümör metastazı ve tümör anjiogenezisini inhibe ettiği gösterilmiştir (11,13,41,51).

Doksisiklin MMP inhibisyonu sayesinde anjiogenez ve dokulara lökosit akımını azaltır, bu sayede inflamatuvar yanıtı azaltır. Tetrasiklinler aynı zamanda makrofajlar ve mezengial hücrelerdeki nitrik oksit sentezi için mRNA'nın destabilizasyonunu ve salınımını inhibe eder, tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) ve reaktif oksijen türevlerini azaltır (11).

Deneysel çalışmalarda özellikle MMP2 ve MMP9'un ECM degradasyonu ile yara iyileşmesinde önemli olduğu saptanmıştır. ECM degradasyonunda asıl rolü MMP'lerin oynadığı düşünülmektedir (13,41). MMP'ler ECM degradasyonu ile pek çok normal biyolojik sürece (embriyonik gelişim, organ morfogenezi, sinir büyümesi, yara iyileşmesi, endometriyal siklus vb) ve patolojik sürece (artrit, kanser, kardiyovasküler hastalık, periodontal hastalık, cilt ülserasyonu, vb) katılır (11,13). Bu biyolojik ve patolojik süreçlerde MMP'lerin proteolitik aktiviteleri endojen olarak makroglobulin ve doku tipi-MMP (TIMP) inhibitörleri tarafından kontrol edilir (13,38,40). Endojen inhibitörler dışında birçok eksojen MMP inhibitörü gösterilmiştir. Eksojen inhibitörler TGF, retinoid, heparin, kortikosteroidler, tetrasiklinler, sentetik MMP inhibitörleri, deksametazon, kateşin'dir (11,40,46).

Tetrasiklinlerin aynı zamanda nötrofiller üzerinden reperfüzyon hasarını engellediği gösterilmiştir (11). Doksisiklinin birçok hücrel fonksiyonu etkilemesi nedeniyle araştırmacılar tarafından ilgi çekici bir ilaç olmuştur. Litaratürde yara iyileşmesi (41,42),

kıkırdak ve kemik rezorpsiyonu (45,65), damar hasarı (20,44), aterom plaklarının oluşmasının engellenmesi, myokard enfarktüsü sonrası ventrikül hipertrofinin engellenmesi (52), gibi birçok klinik ve deneysel çalışmada kullanılmıştır. Ancak doksisiklinin ekstrevasyon hasarının engellenmesinde uygulaması ile ilgili herhangi bir çalışma yoktur.

Çalışmamızda doksisiklinin doksorubisin hasarını azaltmaktaki etkisini araştırdık. Doksisiklin doksorubisin hasarından önceki gün ve aynı gün kullanıldığında ülser alanını ve inflamatuvar hücreleri önemli derecede azaltmıştır. Doksisiklinin bu pozitif etkisi ekstrevasyon alanı çevresindeki inflamatuvar yanıtı azaltması ile ilişkili olabilir. Gruplar içinde 1 gün önce (Grup 1) ve aynı gün (Grup 2) tedaviye başlanan grupların histopatolojik incelemesinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında çevre dermiste inflamatuvar infiltrasyonun derecesinin bariz azaldığı saptandı. Bu sonuç doksisiklinin en iyi etkiyi doksorubisin hasarından önceki gün ve aynı gün tedaviye başlananlarda gösterdiğini ortaya koymuştur.

Ekstrevasyon sıçanlarda insanlardan farklı etki gösterebilir. Çünkü insanlarda ekstrevasyonun damar dışına kaçışta cilt altına kaçtığı ve daha kolay yayılım gösterdiği unutulmamalıdır. Bu araştırmada daha önceki yapılmış modellerde en uygun sonucu intradermal uygulamalar verdiği için enjeksiyon intradermal olarak uygulandı. Nekroz alanı ölçümlerinde dijital ortamda planimetre programı kullanılarak ölçüldü ve insan hataları en aza indirildi. Doksisiklinin ekstrevasyon sonucu oluşan nekrozu önleyici etkilerini araştırmak için doksorubisinin intradermal enjeksiyonu sonucu oluşan doku nekrozu histopatolojik olarak incelendi. Bu çalışmanın sonucunda doksisiklinin özellikle bir gün önce ve aynı gün tedavi edilenlerde ekstrevasyon hasarına bağlı nekrozu azaltabileceği görüldü. Bununla birlikte, bu çalışma doksorubisin ekstrevasyonunun medikal tedavisinde doksisiklinin düşük maliyet ve kolay uygulanması nedeniyle yaygın olarak kullanılabilirliğini göstermiştir.

Kanser kemoterapisi nedeniyle tedavi gören hastalarda meydana gelen ekstrevasyon sonucunda oluşabilecek cilt ve altındaki dokuların nekrozlarını azaltabilmek, gerekebilecek ameliyatların önüne geçebilmek için ucuz maliyetli, kolay kullanılabilir olan doksisiklinin faydalı olabileceği görüşündeyiz.

SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik Estetik ve Rekonstrüktif Cerrahi Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilen çalışmada wistar albino tipi sıçanlarda deneysel doksorubisin ekstrevasyonu sonucu oluşan nekrozun doksisisiklin kullanımı ile azaltıcı etkisi araştırıldı. Elde ettiğimiz bulgular ışığında aşağıdaki sonuçlara varıldı:

1- Doksisisiklin nekroz alanını anlamlı olarak azalttı. Bununla birlikte nekroz çevresinde nötrofil sayımlarında da belirgin azalma saptandı.

2- Yıllardır antibiyotik olarak kullanılan doksisisiklin son yıllarda MMP inhibitörü etkisi nedeniyle gündeme gelmiştir.

3- Ekstrevasyon hasarını ve oluşacak nekrozu azaltmakta birçok tedavi yöntemi tarif edilmiştir, bunların birçoğu uygulaması zor, bir kısmı da efektif bulunmamıştır ve bu konuda tam bir görüş birliği sağlanamamıştır. Doksisisiklin tedavisi nekroz miktarını azaltıcı etkisiyle, güvenle ve kolay kullanılabilir, maliyeti ucuz bir tedavi yöntemi olabileceği görüşündeyiz.

ÖZET

Ekstravazasyon özellikle kanser hastalarında sık görülmektedir. Sık kullanılan bir kemoterapi ajanı olan doksorubisinin ekstravazasyonu sonrası tam kat cilt nekrozu kanser hastalarının önemli morbidite kaynağıdır. Bu yaralanmalarda literatürde birçok tedavi seçenekleri önerilmesine rağmen, bu gibi lezyonların tedavisi hakkında tam bir tedavi protokolü oluşturulamamıştır. Bu çalışmanın amacı sıçan ekstravazasyon modelinde doksisisiklin ile tedavinin etkilerini belirlemektir.

Bu çalışmada 300-350 gr ağırlıklarında 40 Wistar-Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar 4 gruba ayrılarak, 3 gruba 30 mg/kg doksisisiklin oral olarak uygulandı. Grup 1 (n=10): Hasardan 1 gün önce tedaviye başlandı. Grup 2 (n=10): Hasar ile aynı gün tedaviye başlandı. Grup 3 (n=10): Yaralanmadan sonraki gün tedaviye başlandı. Grup 4 (n=10): Kontrol grubu(tedavisiz). Enjeksiyon öncesi ketamin hydrochloride ve xylazine kullanılarak anestezi uygulandı. Sıçanların tümüne 1 mg doksorubisin, 1cc izotonik içinde intradermal olarak enjekte edildi. Yaralanmadan 7, 10, 12 ve 15 gün sonra enjeksiyon yerinde ülser boyutu görüntü analiz programı ile ölçüldü. Onbeşinci günün sonunda biopsi materyali tüm nekrotik dokuları ve çevresindeki sağlıklı dokuyu içerecek şekilde elde edildi. Doku kesitleri histopatolojik olarak incelendi, komşu sağlam dokuda nötrofil sayımı yapıldı.

Nekroz alanlarının ölçümünde Grup 1 ve 2' de nekroz boyutu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha küçüktü ve bu istatistiksel olarak anlamlı idi. Grup 3' te ise nekroz boyutlarında kontrol grubu ile önemli derecede istatistiksel fark saptanmadı. Nötrofil sayımları Grup 1, 2 ve 3' te Grup 4 (kontrol)' e göre anlamlı olarak daha azdı.

Bu veriler doksisisiklinin doksorubisin ekstravazasyonu ile oluşan hasarı tedavi edici

özelliđi olduğunu ve ekstravazyondan bir gün önce veya aynı gün verildiđinde daha efektif olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: ekstravazyon, doksorubisin, doksisiklin, matriks metalloproteinaz

THE EFFECT OF DOXYCYCLINE ON DOXORUBICIN INDUCED EXTRAVASATION INJURY

SUMMARY

Extravasation injury is frequently seen particularly in cancer patients. Full-thickness skin necrosis after extravasation of the widely used chemotherapeutic agent doxorubicin is a significant source of morbidity in cancer patients. Although, various treatment options have been proposed for this type of injury, there is no consensus regarding the management of such lesions. The aim of this study was to determine the effectivity of doxycycline as a treatment in a rat extravasation model.

Forty Wistar-Albino rats, weighing 300 to 350 g, were used in this study. The rats were divided to in four group and doxycycline 30 mg/kg/day was administred to three group via oral route between 0 and 15 days. Group 1 (n=10): One day before the injury they took treatment . Group 2 (n=10): Same time they took treatment whith injury . Group 3 (n=10): One day after the injury they took treatment. Group 4 (n=10): Control group (no treatment). The rats were anesthetized with ketamine hydrochloride and xylazine. All rats received a 1 mg of doxorubicin in 1 cc of saline via intradermal flank injection. At the end of seventh, tenth, twelfth and fifteenth days, the size of ulcers at the injection site were measured via image analysis program. A biopsy specimen, including necrotic tissue with adjacend healthy tissue, was obtained at the end of the fifteenth day. Biopsy specimens were evaluated histopatologically and neutrophil counts were obtained at the adjacent normal tissue.

In group 1 and 2 there were statistically significant difference in the size of necrosis when compared with the control Group. There was no statistically significant difference in

the size of necrosis in grup 3 when compared with the Group 4 (control). There was statistically significant difference in Groups 1, 2 and 3 the neutrophils counts when compared with Group 4 (control) . The data suggest that doxycycline more effective in treatment of doxorubicin injury when administered at the same day or the day before doxorubicin extravasation.

Key words: extravasation, doxorubicin, doxycycline, matrix metalloproteinase

KAYNAKLAR

1. Ignoffo RJ, Friedman MA. Therapy of local toxicities caused by extravasation of cancer chemotherapeutic drugs. *Cancer Treat Rev* 1980;7:17-27.
2. Riyami A. Complications of intravenous infusions. *J.Irish Medical Association* 1968;61:23-5.
3. Gault D.T. Extravasation injuries. *Br J Plast Surg* 1993;46:91-6.
4. Scuderi N, M.G.Onesti Antitumor agents: Extravasation, management, and surgical treatment. *Ann Plast Surg* 1994;32:39-44.
5. Rudolph R, Stein RS, Pattillo RA. Skin ulcers due to adriamycin. *Cancer* 1976;38:1087-94.
6. Mansoor S. K, Holmes D. Reducing the morbidity from extravasation injuries. *Ann Plast Surg* 2002;48:628-2.
7. Seyfer AE, Solimando DA Jr. Toxic lesions of the hand associated with chemotherapy. *J Hand Surg [Am]*. 1983;8:39-42.
8. Silvestrini R, Gambarucci C, Dasdia T. Biological activity of adriamycin in vitro. *Tumori* 1970;56:137-48
9. Barden GA. Venous extravasation of doxorubicin HCl with secondary skin ulceration. *South Med J* 1980;73:1543-4.
10. Bowers DG, Lynch JB. Adriamycin extravasation. *Plast Reconstr Surg* 1978;61:86-92.
11. Golub LM, Lee HM, Ryan ME. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown by multiple non-antimicrobial mechanisms. *Adv Dent Res* 1998;12:12-26.

12. Steffan L. Tetracycline inhibit human synovyal Collogenaz in vivo and in vitro. J Lab Clinic Med 2002;139(5):295-302.
13. Nagase H, Woessner JF. Matrix metalloproteinases. J Biol Chem 1999;274(31):491-4.
14. Snell R.S (Çeviri Mehmet Yıldırım) Klinik Anatomi. Nobel. 5th ed. Istanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 1998: 4-5.
15. Eroschenco V.P (Çeviri: Ramazan D.) Fonksiyonel ilişkileri ile Histoloji atlası.9th ed. Ankara: Palme Yayıncılık. 2000;136-46.
16. Gül M, Eşrefoğlu M, Seyhan M. Winstar Albino sıçan derisinin histomorfometrik özellikleri Türkiye klinikleri J.Dermatoloji 2005;15:136-41.
17. Grab and Smith. Plastic Reconst. Surgery. 5th Ed. New York: Lippincott –Reaven; 1997: 3-12.
18. David L.Brown, Gregory H Borshel, Michigan Manual of Plastic Surgery. 1th ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2004:3-8
19. Petra L, Jansen R R, March J. Dermato regulation of MMP-2 gene transcription in dermal wound. J.Invest Dermato 2007;10:1038.
20. Rundhaug JE. Matrix metalloproteinases and angiogenesis. J Cell Mol Med 2005;9(2):267-85.
21. Konukoğlu D, Turhan M.S. Anjiogenezin temel moleküler mekanizmaları ve tümör anjiogenezi. Cerrahpaşa Tıp Dergisi 2005;36:42-8
22. Tamargo RJ, Bok RA, Brem H. Angiogenesis inhibition by minocycline. Cancer Res 1991;16:217-25.
23. Chia S, William W.S, Xingli Z, Michael T. Differential expression of matrix metalloproteinases and their tissue-derived inhibitors in cutaneous wound repair. Plast ReconstrSurg 2000;105:638-47.
24. Jessica A, Barbara G. Matrix metalloproteinase 9 is upregulated during scarless wound healing in atymic nude mice. Matrix Bio 2006;25(8)505-14.
25. Ziv MP, Eric D, Phelps B. Matrix metalloproteinases and the ontogeny of scarless repair: The other side of the wound healing balance. Plastic Recons Surg 2002;110:801-811
26. Grezegorz S, Yvonne M, Kouros S. Interaction of keratinocytes and fibroblasts modulates the expression of matrix metalloproteinases -2 and -9 and their inhibitors. Mol cell Biochem 2005;55:209-16.
27. Bos AM, Wandergraft WT. A new conservative approach to extravasation of antracyclines with dimethylsulfoxide and dexrazoxane. Acta oncologica 2001;40;541-2.

28. Schrijvers DL. Extravasation: a dreaded complication of chemotherapy. *Ann Onco* 2003;14:26-30.
29. Langer SW, Sehested M, Jensen PB. Treatment of anthracycline extravasation with dexrazoxane. *Clin Cancer Res* 2000;6(9):3680-6.
30. Yılmaz M, Demirdover C, Mola F. Treatment options in extravasation injury: an experimental study in rats. *Plast Reconstr Surg* 2002;109:2418-26
31. Akta S, Toklu AS, Olgaç V. Hyperbaric oxygen therapy in adriamycin extravasation: an experimental animal study. *Ann Plast Surg* 2000;45:167.
32. Uzunismail A, Kurul S, Elbüken E, Savcı N, Öztürk N. Sitostatik ekstravazasyonunda hiperbarik oksijen tedavisinin yeri. *Türk Onkoloji Dergisi* 1993;8:1284.
33. Monstrey SJ, Mullick P, Narayanan K, Ramasastry SS. Hyperbaric oxygen therapy and free radical production: an experimental study in doxorubicin (Adriamycin) extravasation injuries. *Ann Plast Surg* 1997;38:163-8.
34. Askar İ, Erbaş MK, Gürlek A. Effects of heparin fractions on the prevention of skin necrosis resulting from adriamycin extravasation: an experimental study. *Ann Plast Surg* 2002; 49: 297.
35. Vandeweyer E, Heymans O, Deraemaeker R. Extravasation injuries and emergency suction as treatment. *Plast Reconstr Surg* 2000;105:109.
36. Vargel İ, Erdem A, Ertoy D, Pınar A, Erk Y, Altundağ MK, Güllü I. Effects of growth factors on doxorubicin induced skin necrosis: documentation of histomorphological alterations and early treatment by GM-CSF and G-CSF. *Ann Plast Surg* 2002 4: 646.
37. Kayaalp O. Kanser Kemoterapisinin esasları ve antineoplastik ilaçlar. *Tıbbi Farmakoloji*. 25th ed. Ankara. Hacettepe –Taş; 2005:391-2
38. Lee M-H, Murphy G. Matrix metalloproteinases at a glance. *J Cell Science* 2004;117: 4015-6.
39. McCawley LJ, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: They're not just for matrix anymore! *Cur Opin Cell Biol* 2001;13:534-40.
40. Dollery CM, McEwan JR, Henney AM. Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease. *Circ Res* 1995;77:863-9.
41. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases. *Circ Res* 2003;92:827-39.
42. Oliver B, Murielle G, İris B. Basement membrane remodeling in skeletal muscles of patients with limb ischemia involves. *J Vasc Res* 2007;44:202-13.
43. Kayaalp O, *Tıbbi Farmakoloji*, 7th ed. Ankara Güneş kitabevi; 1994:734-43.

44. Bendeck MP, Conte M, Zhang M, Nili N, Strauss BH, Farwell SM. Doxycycline modulates smooth muscle cell growth, migration, and matrix remodeling after arterial injury. *Am J Pathol* 2002;160(3):1089-95.
45. Bazerra MM, Brito GA, Ribeiro RA, Rocha FA. Low-dose doxycycline prevents inflammatory bone resorption in rats. *Braz J Med Biol Res* 2002;35(5):613-6.
46. Islam MM, Franco CD, Courtman DW, Bendeck MP. A nonantibiotic chemically modified tetracycline (CMT-3) inhibits intimal thickening. *Am J Pathol* 2003;163:1557-66.
47. Curci JA, Mao D, Bohner DG, Allen BT, Rubin BG, Reilly JM et al. Preoperative treatment with doxycycline reduces aortic wall expression and activation of matrix metalloproteinases in patients with abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg* 2000;31:325-42.
48. Greenwald RA, Golub LM, Lavietes B, Ramamurthy NS, Gruber B, Laskin RS et al. Tetracyclines inhibits human synovial collagenase in vivo and in vitro. *J Rheumatol* 1987;14:28-32.
49. Seftor RE, Seftor EA, De LJ, Kleiner DE, Leferson J, Stetler-Stevenson WG et al. Chemically modified tetracyclines inhibit human melanoma cell invasion and metastasis. *Clin Exp Metastasis* 1998; 16: 217-25.
50. Fife RS, Sledge GW. Effects of doxycycline on cancer cells in vitro and in vivo. *Adv Dent Res* 1998; 12: 94-6.
51. Marie GS, Baoqian Z. CMT-3, a chemically modified tetracycline, inhibits bony metastases and delays the development of paraplegia in a rat model of prostate cancer. *Ann N Y Acad Sci* 1999;30(878):678-82.
52. Ariel T, Micah SF, Israel M. Effect of matrix metalloproteinase inhibition by doxycycline on myocardial healing and remodeling after myocardial infarction. *Cardiovasc Drugs Ther* 2005;19:383-90.
53. Oğuz Ç, Levent B, Fadil A, Ayten K. Neutrophil-mediated injury in ischemic skin flaps: Amelioration of ischemic injury by cyclosporine in rat. *Ann Plast Surg* 1996;37:66.
54. Oğuz Ç, Levent B, Bolayırılı M, Sengül R. Involvement of neutrophils in ischemia reperfusion injury of inguinal island skin flaps in rats. *Plast. Recons Surg* 1998;102:153-160.
55. Julia V, Marlene T, Markus R. Cutaneous recall phenomenon at the site of previous doxorubicin extravasation after second-line chemotherapy. *JNCL Correspondes* 2007;99/2: 177-8.
56. Ener R.A, Meglathery M. Extravasation of systemic hemato-oncological therapies. *Annals of Oncology* 2004;15:858-862.

57. Loth TS, Eversmann W. Treatment methods for extravasations of chemotherapeutic agents: a comparative study. *J Hand Surg [Am]* 1986;11:388-96.
58. Hoşnuter M, Babuççu O, Kargı E, Işıkdemir A, Tekerekođlu B. Yaşlılarda sık görülen bir medikal travma: ekstrevasyon yaralanmaları *Türk Geriatr Derg* 2005;8(2):101-6.
59. Langer S.W, Sehedded M, Jensen PB. Dexorazone is a potent and spesifik inhibitor of antracycline induced subcutaneous lesions in mice. *Annals of Oncology* 2001;12:405-410
60. Bartkowski-Dodds L, Daniels JR. Use of sodium bicarbonate as a means of ameliorating doxorubicin-induced dermal necrosis in rats. *Cancer Chemother Pharmacol*1980;4:179-181.
61. Disa JJ, Chang RR, Mucci SJ, Goldberg NH. Prevention of adriamycin-induced full-thickness skin loss using hyaluronidase infiltration. *Plast Reconstr Surg* 1998;101:370-4.
62. Erođlu L, Orak İ, Şimşek T. Ekstrevasyon yaralanmasında tıbbi sülük kullanımı. *Türk Plast Rekonstr Est Cer Derg.* 2004;12(3):208-211
63. Bekerecioglu M, Kutluhan A, Demirtas I, Karaayvaz M: Prevention of adriamycin-induced skin necrosis with various free radical scavengers. *J Surg Res* 1998;75:61-5.
64. Sommer NZ, Bayati S, Neumeister M, Brown RE. Dapsone for the treatment of doxorubicin extravasation injury in the rat. *Plast Reconstr Surg* 2002;109:2000.
65. Steinmeyer J, Deaufeldt S, Taiwo YO. Pharmacological effect of tetracyclines on proteoglycanases from interleukin-1-treated articular cartilage. *Biochem Pharmacol* 1998; 55:93-100.

EKLER



T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ETİK KURUL KARARLARI

Oturum Sayısı: 10

Karar Tarihi: 22.06.06

3-Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 22.06.2006 tarihinde “**Doksorubisin ekstravazasyon hasarının doksisisiklin ile tedavisi:deneysel bir çalışma**” adlı TÜTFEK-2006/094 protokol no.lu Araş.Gör.Dr.Yasin ÜNAL'ın tez çalışmasını incelemek üzere toplandı.Yrd.Doç.Dr.Ufuk USTA çalışmacılardan olması nedeniyle katılmadı ve çalışmanın incelenmesine geçildi.

Yapılan inceleme sonunda çalışmanın Fakültemiz Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalında yapılacağı, Yrd.Doç.Dr.Erol BENLİER'in yürütücüsü olduğu; araştırma protokolünün amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve Trakya Üniversitesi Araştırma Projeleri (TÜBAP) tarafından desteklenmesi koşuluyla yapılabileceğine mevcudun oybirliğiyle karar verildi.

Ünvanı/Adı/Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ Başkan	Farmakoloji	T.Ü.T.F. Farmakoloji A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Ümit N. BAŞARAN Başkan Yardımcısı	Çocuk Cerrahisi	T.Ü.T.F. Çocuk Cerrahisi A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Betül Biner ORHANER Üye	Çocuk Sağ. ve Hst.	T.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hst. A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Dilek MEMİŞ Üye	Anesteziyoloji	T.Ü.T.F. Anesteziyoloji A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Betül Uğur ALTUN Üye	Endokrinoloji	T.Ü.T.F. İç Hst. A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Hakan ERBAŞ Üye	Biyokimya	T.Ü.T.F. Biyokimya A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	Katılmadı
Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA Üye	Patoloji	T.Ü.T.F. Patoloji A.D.	E	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	
Ecz. Emine SAKMAN Üye	Eczacı	T.Ü.T.F. Başhekimliği	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Filiz AKATA
Dekan

posta Adresi:
Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
Küllüpoğlu Yerleşkesi
2030 EDİRNE

Tel : (0284) 235 76 41 (9 Hat) Fax: (0284) 235 76 52