

CONTRIBUCIONES ORIGINALES

**EFFECTOS DE LA APLICACION INTRAOCULAR
DE CICLOFOSFAMIDA EN EL CONEJO**

FLORENCIO ANTILLÓN,* ALFREDO GÓMEZ LEAL ‡
y SERGIO ARGUINZONIZ §

Se sabe que la asociación de radioterapia con quimioterapia permite reducir las dosis de ambas en el tratamiento del retinoblastoma. Así como que la aplicación regional de quimioterapia permite reducir aún más estas dosis.

Para conocer los efectos sobre los tejidos oculares normales se aplicó ciclofosfamida intraocular en un ojo de 19 conejos y agua bidestilada como testigo en el ojo contralateral. El estudio histopatológico demostró que no había diferencia en los cambios histológicos entre los ojos problema y los ojos testigo, por lo que se concluye que la ciclofosfamida no afecta particularmente los tejidos oculares normales.

El retinoblastoma es un tumor intraocular maligno, que se origina en la retina, se presenta en la infancia con relativa frecuencia y es capaz de producir la muerte por extensión directa o metástasis. Cuando es posible salvar la

* Hospital de Pediatría. Centro Médico Nacional. Instituto Mexicano del Seguro Social.

‡ Hospital General. Centro Médico Nacional. I.M.S.S.

§ Hospital de Oncología. Centro Médico Nacional. I.M.S.S.

vida a estos niños, muchas veces hay que mutilarlos y en caso de bilateralidad producir ceguera que es una de las invalideces más limitantes. En la lucha por conservar los ojos de estos pacientes se han utilizado múltiples métodos, entre los que cabe mencionar la irradiación en diferentes formas, quimioterapia sistémica o regional, fotocoagulación, diatermocoagulación, y otros, así como asociaciones de ellos. Entre las asociaciones más utilizadas se encuentra la aplicación simultánea de irradiación y quimioterapia, que ha aumentado de manera significativa las cifras de curación¹⁻⁴ lográndose al mismo tiempo disminuir la dosis tanto de radiación como de los quimioterápicos. Sin embargo, son conocidos los efectos indeseables que tiene el uso sistémico de quimioterápicos, especialmente su acción depresora sobre médula ósea.^{2, 3, 5, 7} Por esto se ha intentado la aplicación intraarterial (carótida interna) que logra niveles regionales más altos del quimioterápico empleándose menores dosis totales.

Tratando de lograr niveles locales aún mayores con menores dosis totales, se ha intentado la aplicación intraocular del quimioterápico, inyectándolo en el espacio supracoroideo,⁵ reportándose regresión tumoral en algunos casos, pero sin tener controles lo suficientemente numerosos y adecuados para tener una opinión definitiva. Además, el procedimiento en sí produce algunos cambios anatómicos acentuados en el globo ocular que podrían impedir una visión adecuada, cuya conservación es precisamente la meta. No encontramos antecedentes bibliográficos referentes a la aplicación intraocular de quimioterápicos.¹⁰⁻¹⁶

Basándonos en el panorama terapéutico que actualmente se nos ofrece para el control del retinoblastoma, hemos pensado que la aplicación del quimioterápico en la cámara vítrea mediante una aguja hipodérmica, lograría el contacto del agente anticanceroso con la tumoración. Por esto se iniciaron los estudios previos a la aplicación clínica del método, tratando de conocer el efecto que los quimioterápicos producen al estar en contacto directo con los medios ópticos y sensoriales del ojo. El plan general es aplicar varios de los quimioterápicos conocidos dentro del globo ocular y efectuar exámenes clínico e histopatológico del mismo para conocer sus efectos tanto sobre la transparencia de los medios ópticos como de la histología de dichos medios y de la retina.

El objetivo principal del tratamiento quimioterápico es detener el crecimiento de las células tumorales o destruirlas por completo, sin dañar los tejidos normales. Para lograr estos fines se deben conocer las principales características o peculiaridades de las células neoplásicas:

1. Proliferación masiva con destrucción de células normales.
2. Producción de metástasis.
3. Alteración en su diferenciación.
4. Ausencia de limitación biológica de su capacidad de división mitótica.
5. Poca susceptibilidad a los mecanismos normales de defensa orgánica.

Los quimioterápicos se dividen en los siguientes grupos:

1. Agentes alquilantes: la mostaza nitrogenada, el alkerán y la ciclofosfamida, que se caracterizan por su selectividad

para sustituir un átomo de hidrógeno por otra molécula o un radical alquilo.

2. Los antimetabolitos divididos en los antagonistas del ácido fólico cuyo mejor representante es el metotrexato y los de las purinas como el 5-fluoracilo.

3. Los llamados agentes naturales representados por los alcaloides de *Vinca Rosae*, como la Vincristina que se considera un antimitótico por excelencia.

4. El grupo de los antibióticos representados tanto por la adriamicina, como por la actinomicina D y cuyo mecanismo de acción es inherente a su denominación.¹⁷

De entre estos, se seleccionó uno del grupo de los alquilantes, la ciclofosfamida, que carece de propiedades cáusticas locales. Es una mostaza heterocíclica, que en solución acuosa y medio alcalino se hace cíclica; esta forma es farmacológicamente activa al combinarse con los aminoácidos, proteínas simples y nucleoproteínas.¹⁸ El sitio de activación es el hígado;¹⁰ en el hepatocito se observa, después de la inyección de ciclofosfamida, dilatación del retículoendoplasma rugoso y posteriormente hipertrofia de retículoendoplasma liso.^{20, 21} Su acción fundamental es nucleotóxica y se basa en la inhibición de la fase premitótica o G-2, ya que no se acumulan figuras mitóticas y sí se observan cromosomas fragmentados. Esta acción es similar a la de las radiaciones ionizantes. Se cree que la ciclofosfamida es atacada por las fosfatasa y fosfamidasa muy abundantes en los tejidos tumorales;¹⁸ tiene acción depresora sobre el tejido hematopoyético, linfoide y fundamentalmente a nivel nuclear. A la depresión de linfocitos circulantes se

imputa acción inmunodepresora.^{22, 24, 25-27} Disminuye la reproducción de las células germinales y endoteliales. Ha sido usada en uveítis refractaria a otros tratamientos, obteniéndose remisión del proceso sin conocer el mecanismo de acción.^{24, 28} No tiene efectos cáusticos locales como ya se mencionó antes.

Material y métodos

Se utilizaron 20 conejos de la raza Nueva Zelanda (albinos), con peso promedio de 2.3 Kg. No presentaban manifestaciones de patología ocular, según se comprobó por examen previo del segmento anterior y del fondo del ojo. Se sometieron a anestesia general mediante la aplicación intravenosa de pentobarbital sódico (5 mg./Kg.) y ketamina (10 mg./Kg.). Se efectuó antisepsia, de las regiones oculares con solución de benzal.

En el ojo derecho de todos los conejos se introdujo una aguja hipodérmica No. 22 hasta la cámara vítrea en el cuadrante superoexterno a 6 mm. del limbo, dirigida hacia el polo posterior hasta situar el bisel junto a la retina, controlando la maniobra por visualización directa de la aguja a través de la pupila. En este sitio se aplicó un ml. de agua bidestilada. De inmediato se retiró la aguja sin aplicar puntos de diatermia, ni de sutura. En el ojo izquierdo de todos los conejos se efectuó el mismo procedimiento pero inyectando un ml. de agua bidestilada que contenía en solución 50 mg. de ciclofosfamida.

Se administró cloranfenicol por vía bucal durante 7 días de postoperatorio. Al décimo día un lote de 10 conejos fue sometido a examen de segmento anterior y fondo de ojo y de inmediato, previa

aplicación de una dosis letal de pentobarbital, se hizo enucleación bilateral, fijándose los globos oculares en solución de formol para realizar estudio histopatológico. El mismo procedimiento se efectuó en el restante lote de 9 conejos, el vigésimo día postoperatorio.

Resultados

Durante la aplicación intraocular de la solución se observó opacificación total e inmediata de la córnea, debido al aumento de presión intraocular; dicha opacificación desapareció en 15 minutos.

Se encontró relativa resistencia para aplicar un ml. de solución, pero en todos los casos se logró aplicar dicha cantidad excepto en un conejo que sufrió estallamiento del globo a nivel del limbo, por lo que se desechó del estudio.

Examen físico

En el primer lote, inmediatamente antes de la enucleación al décimo día postope-

riorio, se encontraron los siguientes datos:

Córnea: normal, tanto en los ojos testigo, como en los que se aplicó la ciclofosfamida.

Cristalino: opacidad lineal en cuatro ojos testigo y en cinco ojos problema. Opacidad total en un ojo testigo y en dos ojos problema.

Vítreo: organización en forma de bandas en tres casos problema y en tres casos testigo.

Retina: oftalmoscópicamente normal en todos los casos.

En el examen clínico efectuado al vigésimo día, en el segundo lote de nueve conejos, se encontró:

Córnea: normal tanto en los ojos testigo como en los problema.

Cristalino: opacidades lineales en cápsula posterior en cinco ojos testigo y en tres ojos problema.

Opacidad total en un ojo problema.



1 Sitio de entrada de la aguja con cicatriz en vítreo (*flechas rectas*). Retina artificialmente desprendida y rota (*flechas curvas*).

2 Material del cristalino en cámara anterior (flecha).



Vítreo: organizado en forma de bandas en dos ojos testigo y en tres ojos problema.

Retina: oftalmoscópicamente normal en todos los casos en que fue posible su observación.

Examen histopatológico

El examen histopatológico efectuado en los 38 especímenes, reveló:

Córnea: edema de endotelio en ocho ojos testigo y siete problema estudiados al décimo día y tres testigo y dos problema estudiados al vigésimo día.

Cámara anterior: exudados y fibrina en seis problema y en nueve testigo, del total de los especímenes (fig. 2).

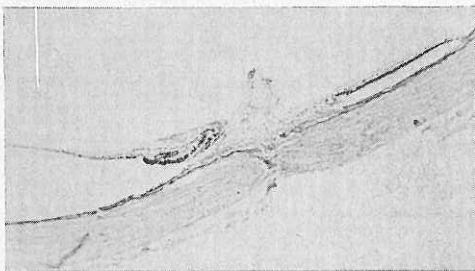
Iris y cuerpo ciliar: hemorragia en nueve testigo y 12 problema, de la totalidad de los especímenes. Exudados eosinófilos en dos testigos. Reacción inflamatoria en un caso problema.

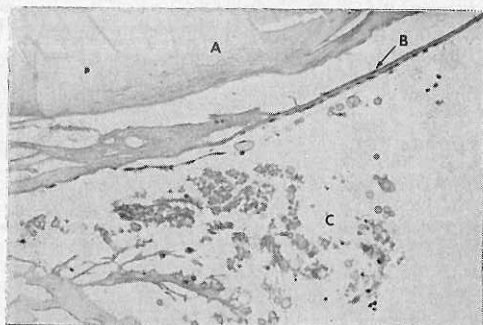
Vítreo: tejido cicatrizal que se iniciaba en el sitio de la punción en nueve testigo y seis problema (fig. 1 y 3).

Células redondas en 12 testigo y 10 problema.

Hemorragia en ocho testigo y ocho problema, siguiendo el trayecto de la

3 Sitio de punción con cicatriz en esclerótica y destrucción de retina y coroides en la hora serrata, con proyección de tejido conjuntivo hacia la cavidad vítrea.





4 A) Cristalino. B) Cápsula del mismo. C) Masas cristalínas libres y algunos histiocitos que las contienen.

aguja. Exudados en 16 testigo y 17 problema.

Cristalino: Ruptura de cápsula en 12 testigo y 11 problema.

Material cristalíniano en vítreo en siete testigo y ocho problema.

Material cristalíniano en histiocitos en tres testigo y cinco problema (fig. 4).

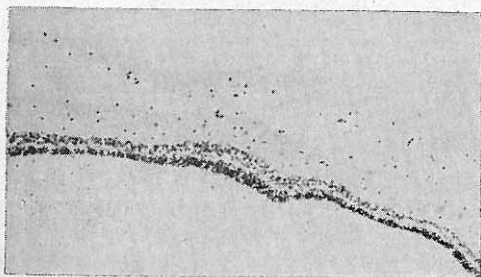
Coroides: reacción inflamatoria crónica en un testigo. Hemorragia en dos testigo y cuatro problema.

Retina: desgarros en dos testigo y un problema. Atrofia retiniana focal inespecífica en 10 testigo y 11 problema. Hemorragia subretiniana en un problema (fig. 5 y 6).

Conclusiones

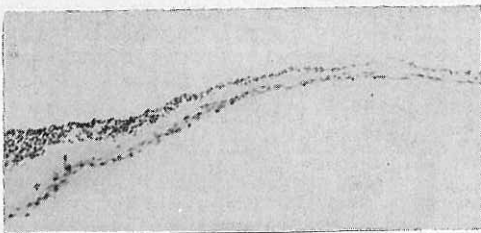
Por los resultados clínicos e histopatológicos se puede concluir que la córnea resultó indemne ante la aplicación tanto de agua bidestilada como de solución de ciclofosfamida, y que el edema del endotelio fue mucho más frecuente en los ojos estudiados al décimo día que en los estudiados al vigésimo, por lo que parece ser un fenómeno pasajero que desaparece rápida y espontáneamente.

Las hemorragias observadas en el cuerpo ciliar e iris estaban directamente relacionadas con el sitio de punción y por lo tanto fueron de origen traumático.



5 Proceso inflamatorio en retina y vítreo con células redondas.

6 Degeneración de la retina con disminución considerable de sus capas nucleares.



La rotura de la cápsula posterior del cristalino con masas libres en vítreo y opacificación parcial o total, tuvieron también origen traumático, producido seguramente por desgarro capsular por la aguja, ya que el cristalino en el conejo tiene una situación muy posterior en el globo. El número de casos testigo y problema fue muy similar.

Las cicatrices, hemorragias y exudados en la cámara vítrea, observados con frecuencia similar en los dos grupos tenían, en cuanto a situación, una franca relación con el sitio de punción.

La reacción inflamatoria en diversos sitios puede atribuirse a la maniobra quirúrgica, los desgarros retinianos fueron de origen definitivamente traumático. Las zonas de atrofia inespecífica se encontraron en igual número en los ojos testigo que en los problema.

De esta manera puede decirse que la solución de ciclofosfamida aplicada intraocularmente no produce mayores alteraciones clínicas e histológicas que las que produce la aplicación de agua bidestilada.

Las alteraciones encontradas con frecuencia similar tanto en los ojos testigo como en los ojos problema son atribuibles más bien al método utilizado para la introducción de las sustancias, que a estas.

Por último es posible que con un método depurado para la aplicación intraocular de la ciclofosfamida, evitando especialmente la lesión del cristalino, no haya alteraciones de significación, ni clínica ni histológicamente.

REFERENCIAS

1. Ellsworth, R. M.: *Treatment of retinoblastoma*. Am. J. Ophthal. 66:49, 1968.
2. Hyman, G. A.; Ellsworth, R. M.; Feind, C. R. y Tretter, P.: *Combination therapy in retinoblastoma*. Arch. Ophthal. 80:744, 1968.
3. Krementz, E. T.; Schlosser, J. V. y Rumage, J. P.: *Combined radiation and regional chemotherapy in the treatment of retinoblastoma*. Am. J. Roentgen. 96:141, 1966.
4. Leclawongs, N. y Regan, C. D. J.: *Retinoblastoma*. Am. J. Ophthal. 66:1050, 1968.
5. Díez-Gutiérrez, S.: *Técnica quirúrgica para la terapia intraocular directa*. Cirugía y Cirujanos. 37:51, 1969.
6. Lonsdale, D.; Berry, D. H. y Holcomb, T. M.: *Chemotherapeutic trials in patients with metastatic retinoblastoma*. Cancer Chemoter. Rep. 52:631, 1968.
7. Manzitti, E.; Damel, A. y De Huberman, A. S.: *El uso de citostáticos en el tratamiento del retinoblastoma*. Arch. Oftal. Bs. As. 41: 170, 1966.
8. Howitt, D. y Karp, E. J.: *Side-effect of topical thio-tepa*. Am. J. Ophthal. 68:473, 1969.
9. Hyman, G. A.: *Chemotherapy in retinoblastoma*. Cancer. 17:992, 1964.
10. Doughman, D. J.; Watzke, R. C. y Burian, H. M.: *The ocular effects of intravitreal injection of polyethylene sulfonic acid*. Am. J. Ophthal. 67:571, 1969.
11. Duke Elder, S.: *System of ophthalmology*. Vol. VII, Londres, Kymton Co. 1965, p. 671.

12. Duke Elder, S.: *System of ophthalmology*. Vol. VIII, Londres, Kymton Co. 1969, p. 546.
13. Leopold, I.: *Cortisone in ocular disease*. Am. J. Ophthalm. 34:361, 1951.
14. Leopold, I.: *Penetration of penicillin on rabbits eyes*. Arch. Ophthalm. 33:43, 1945.
15. Leopold, I.: *Vitreous infections and streptomycin*. Am. J. Ophthalm. 30:345, 1955.
16. Nicholi, A. y Leopold, I.: *Intraocular penetration of streptomycin*. Arch. Ophthalm. 35: 33, 1946.
17. Cline, M. y Haskell, Ch.: *Cancer y chemotherapy*. Filadelfia, Saunders, Co. 1975, p. 28.
18. Litter, M.: *Farmacología*. Buenos Aires. Ed. El Ateneo, 1961, p. 1399.
19. Foley, C.: *Studies on the mechanism of action of cytoxan*. Cancer Res. 21:57, 1961.
20. Biockes, N.: *Metabolism of cyclophosphamide*. Cancer. 20:900, 1967.
21. Lavin, P. y Koss, L.: *Effects of a single dose of cyclophosphamide on various organs in the rat*. Am. J. Pathol. 62:159, 1971.
22. Goning, H.: *Immunocyte depression induced by cyclophosphamide in rats*. Int. Arch. Allerg. 38:420, 1970.
23. Many, A. y Schwartz, R. S.: *Drug-induced immunologic tolerance: site of action of cyclophosphamide*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 133: 754, 1970.
24. Wong, V. G.: *Immunosuppressive therapy of ocular inflammatory diseases*. Arch. Ophthalm. 81:628, 1969.
25. Aisemberg, C.: *The contrasting effects of cyclophosphamide and radiation on the immune responses of the mouse*. J. Exper. Med. 13:877, 1971.
26. Lloyd, H. J.: *Intra-ocular neoplasm treated with cyclophosphamide*. Brit. J. Ophthalm. 52: 473, 1968.
27. Steinberg, A. D.; Chused, T. M.; Jacobs, M. E. y Talal, N.: *Cyclophosphamide tolerance as a test for antigenicity of nucleic acids*. Nature. 228:1090, 1970.
28. Buckley, C.: *Cyclophosphamide on peripheral uveitis*. Arch. Int. Med. 124:29, 1969.