

Topikal Antiglokomatöz Tedavinin Konjonktiva Hücre Yapısına Etkisi♦

İhsan Çaçça (*), Sevin Söker Çakmak (**), Kaan Ünlü (***), Nihal Kılınç (****), Kubilay Bilek (*)

ÖZET

Amaç: Primer açık açılı glokom (PAAG) tanısı ile takip edilen ve topikal antiglokomatöz ilaç kullanan olgularda topikal antiglokomatöz ilaçların konjonktiva hücre profiline etkisini araştırmak.

Gereç ve Yöntem: Topikal β -bloker + Pilocarpin kullanan 22 PAAG'lu hastadan ve aynı yaş grubundaki 15 kontrol olgusundan alınan konjonktiva biyopsileri ışık mikroskopunda değerlendirildi. Antiglokomatöz tedavi alan olgular, bir yıldan fazla ilaç kullananlar (A grubu 11 olgu) ve bir yıldan az ilaç kullananlar (B grubu 11 olgu) olmak üzere iki gruba ayrıldı ve kontrol grubu (C grubu 15 olgu) ile karşılaştırıldı.

Bulgular: Işık mikroskopisi ile konjonktiva epiteli ve substansia propria hücreleri kantitatif olarak incelendi. Goblet hücre sayısı, A grubunda daha az olmak üzere ilaç kullanan her iki grupta da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptandı ($p<0.05$). Fibroblast hücre sayısı, A grubunda daha fazla olmak üzere ilaç kullanan her iki grupta da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptandı ($p<0.05$). Lenfosit hücre sayısı ise yalnızca A grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptandı ($p<0.05$). Lökosit, histiosit, mast ve plazma hücre sayıları bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

Sonuç: Uzun süreli topikal antiglokomatöz ilaç kullanımının konjonktivada goblet hücre sayısında azalma, fibroblast ve lenfosit hücre sayısında artmaya yol açabileceği görüldü.

Anahtar Kelimeler: Konjonktiva, topikal antiglokomatöz ilaçlar, goblet hücresi.

SUMMARY

The Effect of Topical Antiglaucomatous Treatment on Conjunctival Cell Structure

Purpose: To detect the effect of topical antiglaucomatous drugs on conjunctiva cell profile in cases with primary open angle glaucoma.

Material and Method: Conjunctival biopsy was taken from 22 open angle glaucoma patients using β -blocker + pilocarpin and from 15 control cases with similar ages.

Results: Patients taking antiglaucomatous treatment divided in to 2 groups according to treatment duration (group A 11 cases treated over 1 year and group B 11 cases treated less than

(*) Araş. Görevlisi, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

(**) Yrd. Doç. Dr., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

(***) Doç. Dr., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

(****) Yrd. Doç. Dr., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

♦ 3-7 Haziran 2001 tarihleri arasında İstanbul'da yapılan "European Society of Ophthalmology" kongresinde poster olarak sunulmuştur.

Mecmuaya Geliş Tarihi: 24.12.2001
Düzeltilmeden Geliş Tarihi: 28.03.2002
Kabul Tarihi: 22.08.2002

1 year). Decreased goblet cell counts and increased fibroblast cell numbers in both patient groups were detected compared to control group ($p<0.05$). Fibroblast cell numbers were increased in both patient groups compared to control group ($p<0.05$). The number of lymphocyte cells was greater in number in group A than group B and control group.

Conclusion: It's concluded that topical antiglaucomatous treatment can lead decrease in goblet cells and increase in fibroblast and lymphocytes in conjunctival histology.

Key Words: Conjunctiva, topical antiglaucomatous drugs, goblet cell.

GİRİŞ

Primer açık açılı glokom (PAAG) tedavisinde topikal antiglomatöz ilaçlar günümüzde hala ilk seçenek olarak önemini sürdürmektedir (1,2). Medikal tedavi ile izlenen PAAG'lu hastalarda eğer tek ilaç göz içi basıncını istenilen değere düşüremez ise iki ilaç kombine kullanılmaktadır (3). Bu amaçla özellikle β -blokerler ile pilokarpin yıllardır en sık kullanılan kombinasyon olmuştur (3).

Topikal antiglomatöz ilaçların uzun süreli kullanımını lokal dokularda, punktat epitel erozyonları, kornea hassasiyetinde azalma, gözyaşı film tabakası bozukluğu, subkonjunktival fibrozis, konjunktival keratinizasyon gibi yan etkilere sebep olmaktadır (4,5). Bir çok klinik çalışmada, uzun süreli ve birden fazla topikal antiglomatöz ilaç kullanımının kronik inflamasyon ve fibroblast proliferasyonuna neden olduğu, bunun sonucunda filtran cerrahinin başarısının azaldığı gösterilmiştir (2,4,6,7). Bu nedenle birçok araştırmacı PAAG olgularında, medikal tedaviye başlamadan primer cerrahi önermektedir (4,6). Multipl ve kronik topikal antiglomatöz kullanımı konjunktival inflamatuvar hücrelerde artış, blebde fibrozis gelişiminde büyük bir risk ve filtran cerrahi yetmezliğinin en sık sebeplerinden biridir (8).

Biz bu çalışmada, PAAG tanısı ile takip edilen ve topikal antiglomatöz ilaç kullanan hastalarda, topikal antiglomatöz ilaçların konjunktiva hücre profiline etkisini araştırdık.

GEREÇ ve YÖNTEM:

Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Glokom biriminde takip edilen, glokom dışında herhangi bir göz hastalığı olmayan, daha önce operasyon geçirmemiş, topikal β -bloker + Pilokarpin kullanan PAAG'lu 22 olgu ile aynı yaş grubundan 15 kontrol grubu karşılaştırıldı. Kontrol grubunu katarakt dışında göz hastalığı olmayan olgular oluşturdu. Bu hastalardan konjunktiva örnekleri, filtran cerrahi sırasında süperior bulber konjunktivadan ve limbustan 6 mm uzaklıktan, 1x1 mm boyutunda alındı. Olgular 3 grup halinde incelendi.

A grubu: 1 yıldan fazla ilaç kullanan olgular (n:11)

B grubu: 1 yıldan az ilaç kullanan olgular (n:11)

C grubu: Kontrol olguları (n:15)

Tüm olguların yaş, cinsiyet oranları ve ilaç kullanım süreleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Alınan konjunktiva örnekleri %10'luk formaldehid solüsyonu içerisinde tespit edildi. Rutin doku takiplerinden geçirilen biyopsiler parafin bloklara gömüldü ve 4 μ m kalınlığında kesitler hazırlandı. Bu kesitler hematoksilin eozin, periodik asid schiff (PAS) ve toluidin blue ile boyandı. Hematoksilin eozin ile boyanan kesitlerde fibroblast, lökosit, lenfosit, plazma hücreleri ve histiositler, PAS boyalı kesitlerde epitelyal goblet hücreleri, toluidin blue ile boyalı kesitlerde mast hücrelerinin sayımı yapıldı. Hücre sayımları substantia propria alanlarında x 40'luk objektif kullanılarak, 5 farklı alan üzerinden yapıldı. Damarlar üzerinde görülen lökosit ve lenfositler sayıma alınmadı. Sayım hatasını gidermek üzere tüm kesitler iki kez değerlendirildi. Tüm hasta grubu ve kontrol vakalarında 5 alandaki hücre sayımlarının ortalamaları hesaplandı. Sonuçlar, X^2 ve Mann Whitney U testleri ile değerlendirildi.

BULGULAR

Olguların yaş, cinsiyet ve ilaç kullanım süreleri değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$) (Tablo 1).

Tablo 2'de konjunktiva örneklerinin histopatolojik inceleme sonuçları görülmektedir.

Goblet hücre sayısı; A grubunda C grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptandı ($p=0.0000$), B grubunda C grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptandı ($p=0.0003$), A grubunda da B grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptandı ($p=0.0470$).

Fibroblast hücre sayısı; A grubunda C grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptandı ($p=0.0093$), B grubunda C grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptandı ($p=0.0330$), A ve

Tablo 1. Olguların cinsiyet, yaş ve ilaç kullanım süresine göre dağılımları

	A grubu (Ort ± SD)	B grubu (Ort ± SD)	C grubu (Ort ± SD)
Kadın / Erkek	5 / 6	5 / 6	7 / 8
Yaş (Yıl)	57.45 ± 6.40	61.72 ± 6.91	60.00 ± 7.44
İlaç kullanım süresi	23.45 ± 12.99 ay	5.54 ± 2.58 ay	

Tablo 2. Konjonktivaların histopatolojik inceleme sonucuna göre elde edilen hücre sayılarının Ortalama Değer ± Standart sapma değerleri

	A grubu (Ort ± SD)	B grubu (Ort ± SD)	C grubu (Ort ± SD)
Goblet	1.09 ± 0.70	1.72 ± 0.78	3.53 ± 1.12
Fibroblast	25.27 ± 10.05	20.54 ± 5.42	15.40 ± 4.85
Lenfosit	9.45 ± 3.55	4.72 ± 1.67	4.00 ± 2.61
Lökosit	1.00 ± 0.77	0.81 ± 0.75	1.13 ± 1.06
Plazma hücresi	1.18 ± 0.98	1.27 ± 0.90	1.26 ± 0.96
Mast hücresi	3.90 ± 2.62	1.90 ± 1.70	2.73 ± 1.70
Histiosit	0.63 ± 0.67	0.54 ± 0.68	0.73 ± 0.70

B grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.3237$).

Lenfosit hücre sayısı; A grubunda C grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptandı ($p=0.0005$), A grubunda B grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptandı ($p=0.0017$), B grubu ile C grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.1259$). Lökosit, histiosit, mast ve plazma hücre sayıları bakımından gruplar arasında anlamlı istatistiksel fark yoktu ($p>0.05$).

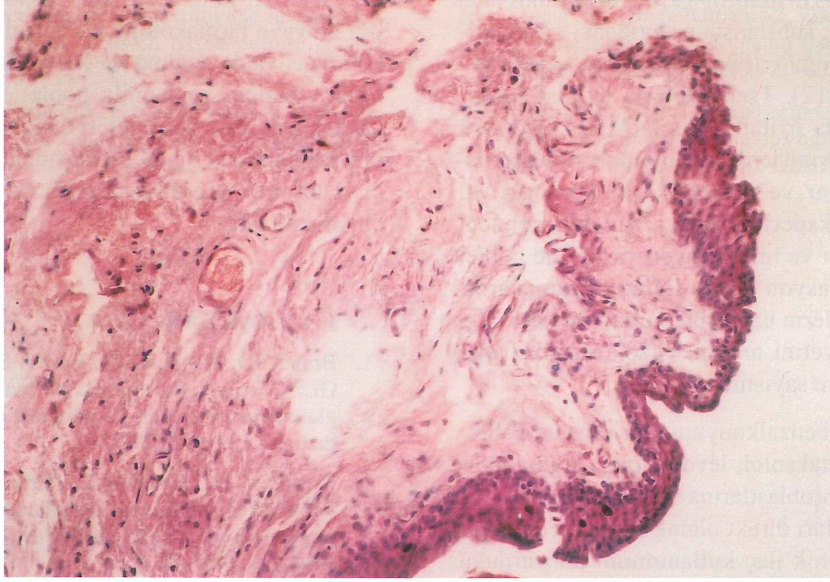
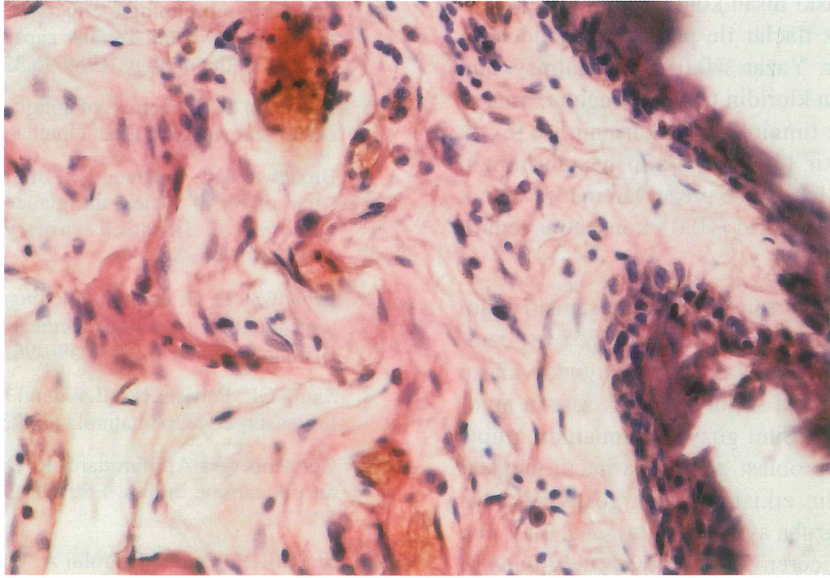
TARTIŞMA

Topikal antiglokomatöz ilaçların uzun süre kullanımı, konjonktivanın substansia propriasında fibroblast ve inflamatuvar hücre sayısında artma, epitelyal goblet hücresinde azalma ve epitelyal metaplaziye neden olur (1,4). Brandt ve ark. uzun süre kullanılan topikal antiglokomatöz ilaçların, sayı ve süre ile uyumlu olarak konjonktivada önemli oranda metaplaziye sebep olduğunu bildirmişlerdir (1). Sherwood ve ark. en az 1 yıl ve en az 2 topikal antiglokomatöz ilaç kullanan 20 glokomlu hastanın 40 gözünün konjonktiva ve tenon kapsülünü histopatolojik olarak incelemişler, makrofaj, lenfosit, fibroblast, mast hücre sayısında artış, epitelyal goblet hücre sayısında azalma olduğunu saptamışlardır (4). Bunun sonucu olarak uzun süre topikal antiglokomatöz kullanı-

mının cerrahi öncesi inflamatuvar hücre sayısını artırdığını, oluşan subepitelyal değişikliklerin filtran cerrahi sonucunu olumsuz yönde etkilediğini (1,2,4) ve filtran cerrahinin erken uygulanmasının yararlı olacağını bildirmişlerdir (4).

Broadway ve ark. ameliyat öncesi topikal antiglokomatöz kullanan 124 glokomlu olguyu ilaç kullanım süresi ve sayısına göre 4 gruba ayırarak konjonktiva hücre içeriğini incelemişler ve 3 yıldan fazla tedavi alan gözlerin konjonktiva epitelyal hücre sayısında azalma, makrofaj ve lenfosit hücrelerinde artma, substansia propriada fibroblast, makrofaj, lenfosit ve mast hücre sayılarında artış olduğunu tespit etmişlerdir (2). Ayrıca birden fazla ilacın birarada kullanımının tek ilaç kullanımına göre konjonktivada çok daha fazla subklinik inflamasyona yol açtığını ve 3 yıldan daha fazla uygulanan tedavinin inflamasyonu belirgin olarak artırdığını saptamışlardır (2).

Bütün bu yayınlara rağmen topikal antiglokomatöz ilaçların goblet hücre sayısını artırdığını (9) ve etkilemediğini (10) bildiren çalışmalar da vardır. Smith ve ark. 4 gruba ayırarak incelediği 24 tavşana 7 ay süre ile günde iki defa timolol, pilokarpin, epinefrin ve kombine tedavi uygulamışlar, konjonktivanın histopatolojik incelemesi sonucunda kontrol grubu ile tedavi grubu arasında akut, kronik inflamatuvar hücreler, fibroblast ve goblet hücresi bakımından anlamlı değişiklikler saptamamışlardır (11).

Resim 1. Normal konjonktiva (HE x 200)*Resim 2. İki yıldır B-bloker ve Pilocarpin kullanan PAAG'lu hastanın konjonktivasi, subepitelyal fibroblast ve lenfosit infiltrasyonu (HE x 400)*

Bizim çalışmamızda olguların konjonktiva biyopsileri incelendiğinde, goblet hücre sayısı, ilaç kullanan her iki grupta az olmak üzere, 1 yıldan fazla ilaç kullanan A grubunda kontrol grubuna göre daha az saptandı. Fibroblast hücre sayısı ilaç kullanan her iki grupta da, kontrol grubundan daha fazla saptandı. Lenfosit hücre sayısı

ise yalnızca 1 yıldan fazla ilaç kullanan A grubunda kontrol grubuna göre fazla saptandı. Goblet hücre sayısındaki azalma, fibroblast ve lenfosit hücre sayısındaki artma, ilaç kullanılmaya başlandıktan 1 yıl sonra belirginleşmekte ve ilaç kullanım süresi uzadıkça bu değişiklikler artarak devam etmektedir.

Goblet hücre sayısında azalma antiglokomatöz ilacın etken maddesine, ilaç kullanım süre ve sayısı ile koruyucu maddelere bağlı olabilir (2,7). Konjonktivada goblet hücre kaybının, substansia propriadaki vaskülarizasyonda azalma ve yoğun iltihabi reaksiyon sonucu geliştiği gösterilmiştir (12). Tseng ve ark. topikal B-blokerlerin konjonktivada iritativ ve toksik reaksiyonlara yol açabileceğini bildirmişlerdir. Konjonktival fleplerdeki patolojik çalışmalar ve tavşanlardaki konjonktival transdifferasyonun eksperimental çalışmaları sonucu, vaskülarizasyon kaybı ve inflamasyon varlığı ile goblet hücre kaybının korelasyon gösterdiğini saptamışlardır (12). Ayrıca B-blokerlerin uzun süre kullanımı dokudaki alfa reseptör hakimiyetini artırıp, vazokonstrüksiyona yol açarak goblet hücre sayısını azaltabilir.

Williams ve ark. benzalkonyum klorid ve üç B-bloker ilacın (timolol, betaksolol, levobunolol) doku kültüründe tenon kapsül fibroblastlarına etkisini araştırmış ve bu ilaçların fibroblastları direkt olarak stimüle etmediğini, fibroblastların kronik ilaç kullanımının oluşturduğu irritasyona bağlı olarak arttığı sonucuna varmışlardır (13).

Topikal antiglokomatöz ilaçlarda etken madde ile birlikte koruyucu maddelerin, özellikle benzalkonyum kloridin konjonktiva üzerine önemli toksik etkisi vardır (1,2,4,5,7,13). Tahakaski insan konjonktiva hücre kültüründe antiglokomatöz ilaçlar ile prezervan maddelerin etkilerini araştırmıştır. Yazar %0.005 konsantrasyonun üstünde benzalkonyum kloridin toksik olduğunu, prezervan madde içermeyen timolol ve pilokarpinin ise toksik olmadığını bildirmiştir (14,15). Bizim hastalarımızın kullandığı preparatlar içerisinde prezervan madde olarak bulunan benzalkonyum klorid %0.01 konsantrasyonundaydı.

Young ve ark. 4 ay süre ile 20 tavşana timolol %0.5, pilokarpin %4, epinefrin %1 ve suni gözyaşı damlatarak filtran cerrahisi uygulamışlar, konjonktivaların histopatolojik incelenmesi sonucunda çok sayıda myofibroblast görmüşlerdir. Suni gözyaşı damlatılan grupta da fazla sayıda myofibroblast görülmesi ilacın içindeki benzalkonyum kloridin etkisini açıkça göstermektedir (16). Mietz ve ark. 4 gruba ayırdığı 24 tavşana, 3 ay süre ile prezervan madde içeren ve içermeyen metipranolol %0.3 ve pilokarpin %2 kullanıp, kontrol grubu ile karşılaştırmışlardır. Topikal antiglokomatözler ile kombine kullanılan prezervan maddelerin, konjonktivaya olan toksik etkiyi artırdığını göstermişlerdir (17).

Sonuç olarak topikal antiglokomatöz ilaçlar konjonktivada hücresel ve yapısal değişikliklere neden olmaktadır. Konjonktivada meydana gelen bu değişiklikler 1 yıl sonunda belirginleşmekte ve zamanla artarak

devam etmektedir. Ancak konjonktivada meydana gelen bu değişikliklerin mekanizması hala netlik kazanmamıştır. Kendileri ya da içerdikleri prezervan maddeler aracılığı ile veya farmakolojik etkileri ile konjonktivada vaskülarizasyonda azalma ve kronik bir inflamasyon yaptıkları, bunun sonucunda goblet hücre yoğunluğunda azalma meydana getirmeleri daha mantıklı gözükmektedir. Bu konunun açığa çıkmasında daha ayrıntılı ve geniş kapsamlı immüнопatolojik çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Brandt JD, Wittpenn JR, Katz J, Steinmann WN, Speath GL: Conjunctival impression cytology in patients with glaucoma using long-term topical medication. *Am J Ophthalmol.* 1991;112:297-301.
2. Broadway DC, Grierson I, O'Brien C, Hitchings RA: Adverse effect of topical antiglaucoma medication. I. The conjunctival cell profile. *Arch Ophthalmol.* 1994;112:1437-45.
3. Laibovitz R, Strahman ER, Barber BL, Strahmaier KM: Comparison of quality of life and patient preference of dorzolamide and pilocarpine as adjunctive therapy to timolol in the treatment of glaucoma. *J Glaucoma.* 1995;4:306-13.
4. Scherwood MB, Grierson I, Millar L, Hitchings RA: Longterm morphologic effects of antiglaucoma drugs on the conjunctiva and Tenon's capsule in glaucomatous patients. *Ophthalmology.* 1989;96:327-35.
5. Baudouin C: Side effect of antiglaucomatous drugs on the ocular surface. *Curr Opin Ophthalmol.* 1996;7:80-86.
6. Broadway DC, Grierson I, O'Brien C, Hitchings RA: Adverse effect of topical antiglaucoma medication. II. The outcome of filtration surgery. *Arch Ophthalmol.* 1994;112:1446-54.
7. Broadway D, Grierson I, Hitchings RA: Adverse effect of topical antiglaucomatous medications on the conjunctiva. *Br J Ophthalmol.* 1993;77:590-96.
8. Skuta GL, Parrish RK: II. Wound healing in glaucoma filtering surgery. *Ophthalmol.* 1987;32:149-170.
9. Gerstenberger A, Marquardt R: Die Becherzeldichte unter pilocarpine influss. *Fortschr Ophthalmol.* 1986;83:46-50.
10. Steuhl KP, Knorr M, Frohn A, Thiel H-J: Über den Einfluss antiglaukomatöser Augentropfen auf die Zelldifferenzierung der konjunktiva. *Fortschr Ophthalmol.* 1991;88:865-69.
11. Smith DL, Skuta GL, Kincaid MC, Rabbani R, Cruess DF, Kao SF: The effects of glaucoma medications on Tenon's capsule and conjunctiva in the rabbit. *Ophthalmic Surg.* 1991;22:336-40.
12. Tseng SCG, Hirst LW, Maumence AE, Kenyon KR, Sun TT, Green WR: Possible mechanisms for the loss of gob-

- let cells in musin-deficient disorders. *Ophthalmology*. 1984;91:545-52.
13. Williams DE, Nguyen KD, Shapourifar-Tehrani S, Kitada S, Lee DA: Effects of timolol, betaxolol and levobunolol on human Tenon's fibroblasts in tissue culture. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1992;2233-41.
 14. Takahashi N: Cytotoxic effects of antiglaucoma agents on cultured human conjunctival cells. *Acta Soc Ophthalmol Jpn*. 1981;85:1046-52.
 15. Takahashi N: Cytotoxicity of preseervatives on cultured human conjunctival cells. *Acta Soc Ophthalmol Jpn*. 1980;84:1171-76.
 16. Young TC, Higginbotham EJ, Zou X, Farber MD: Effects of topical glaucoma drugs on fistulized rabbit conjunctiva. *Ophthalmology*. 1990;97:1423-27.
 17. Mietz H, Niesen U, Krieglstein GK: The effect of preservatives and antiglaucomatous medication on the histopathology of the conjunctiva. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1994;32:561-565.