

33044

T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

Göz Hastalıkları

Anabilim Dalı

Yrd. Doç. Dr. Nurettin Karakaş

UZUN SÜRE ANTİGLOKOMATÖZ İLAÇ KULLANAN
HASTALARDA İMPRESYON SİTOLOJİSİ VE GÖZYAŞI
FONKSİYON TESTLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. M. Kaan ÜNLÜ

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

DİYARBAKIR - 1995

Yrd. Doç. Dr. Nurettin KARAKAŞ ve Prof. Dr. Yusuf
NERGİZ'e Tezimin hazırlanması ve çalışma dönemi süresince
büyük katkıları nedeniyle teşekkür ederim.

Dr. M. Kaan ÜNLÜ

İÇİNDEKİLER

I-	GİRİŞ	1
II-	GENEL BİLGİLER	3
III-	BİREY VE METOD	18
IV-	BULGULAR	23
V-	TARTIŞMA	34
VI-	SONUÇ	46
VII-	ÖZET	47
VIII-	KAYNAKLAR	48

GİRİŞ

Glokom, intraoküler basıncın artması sonucu karakteristik optik atrofi ve görme alanı kaybı gelişimi ile karakterize bir hastalıktır. A.B.D.'de 2 milyon kişinin glokom hastası olduğu ve bunların 889000'inde vizyonda defekt olduğu bildirilmiştir. Bu hastaların 67.150'sinin legal kör olduğu ve her sene bu rakama 5.500 kişinin eklendiği bildirilmiştir (111). Amerika ve İngiltere'de yapılan çalışmalara göre primer açık açılı glokom prevalansı tüm popülasyonda % 0.5, 50-55 yaş arasında % 0.2, 70-75 yaş arasında % 2 olarak bulunmuştur. Oküler hipertansiyon prevalansı ise 30-39 yaşlarında % 1.6, 70-79 yaşları arasında % 10.5 olarak belirtilmektedir (35).

Akut olmayan glokomlu hastalarda ilk olarak tıbbi tedavinin uygulanması yıllardan beri uygulanan standart prosedürdür. Lazer tedavisi veya filtrasyon cerrahisi eğer tıbbi tedavi ile intraoküler basınç yeteri kadar düşürülmezse düşünülmektedir (91).

Yukarıda belirtilen glokom prevalansı gözönüne alındığında, dünyada milyonlarca glokom hastasının topikal antiglokomatöz ilaç kullandığını ve bu ilaçların yan etkileriyle karşı karşıya kaldığını tahmin etmek zor değildir.

Günümüzde glokomun medikal tedavisinde en sık kullanılan parasempatikomimetik pilokarpin, en sık kullanılan betabloker timolol maleattır (21,52,65,76,82,92). Bugüne kadar bu ilaçların gerek intraoküler gerekse sistemik bir çok yan etkileri bildirilmiştir. Ancak bu ilaçların uzun süreli kullanımı sonucu lokal dokulardaki olası değişiklikleri üzerinde yeterince durulmamıştır (91).

Bu çalışmada uzun süre (en az 1 yıl) timolol maleat ve/veya pilokarpin kullanan hastalarda konjonktiva epitelindeki histolojik değişiklikler impresyon sitolojisi tekniği ile araştırılmış, bu ilaçların gözyaşı fonksiyon testleri üzerindeki etkileri incelenmiştir.



GENEL BİLGİLER

İntraoküler basıncı (IOB) azaltmaya yönelik tedavi, ilk defa 1876'da Laqueur'in glokom için fizostigmini kullanmasıyla başlamıştır. Bundan 1 yıl sonra topikal pilokarpin kullanıma girmiş ve geçen 100 yıl boyunca etkinliğini kanıtlamıştır (3).

Pilokarpin asetil kolini taklit ederek, kolinerjik olarak innerve edilen iris sfinkteri ve silier kasını direkt olarak stimüle eder. Bunların skleral spur ile anatomik ilişkileri nedeniyle konkomitan kontraksiyonları aköz hümör out-flow rezistansını azaltır (46, 47).

Lokal yan etkileri arasında miyozis, miyopi, gözde ağrı, baş ağrısı, konjonktival hiperemi, lakrimasyon, lokal allerji, göz kapağında seyirmeler, inflamasyonda artış, posterior sineşi, retinal dekolman ve predispozan gözlerde pupiller blok sayılabilir. Topikal pilokarpinin sistemik yan etkileri arasında ise salivasyon, terleme, bulantı, kusma, abdominal kramplar, inkontinans, diare, hipotansiyon, hipertansiyon, bradikardi, bronkospazm ve kas zayıflığı bildirilmiştir. Özellikle topikal betablokerlerle birlikte kullanıldığında aditif sistemik etkilerinden dolayı kardiopulmoner sistem üzerine etkileri belirgin olabilir (3).

Bundan yaklaşık 28 yıl kadar önce Phillips sistemik yada topikal beta-adrenerjik reseptör antagonistlerinin terapötik oküler hipotansif etkilerinin olabileceğini öne sürmüştür (82). Bucci ve ark. (17) ile Merte ve Merkle (64) topikal propranololun IOB'ı düşürücü etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Topikal propranolol kullanımını takiben korneal anestezi oluşması kullanımın yaygınlaşmasını kısıtlamıştır (24). Bundan sonraki yıllarda kardiovasküler amaçlı

kullanılan bir çok betabloker (praktolol, nadalol, atenolol) topikal oftalmik kullanım için değerlendirilmiştir. Bir betabloker olan timolol 1978 yılında kullanıma girmiştir ve bugün glokom için medikal tedavi alan hasta reçetelerinin % 70'inde bulunmaktadır (10).

Timolol nonselektif bir betablokerdir, hem β_1 , hem de β_2 adrenerjik reseptörleri eşit derecede etkiler. Episkleral venöz basınca (9), uveaskleral akıma veya dışa akım kolaylığına (88,94) çok az etki göstererek veya etki göstermeyerek aköz humör yapımını azaltır (19,88,120). Böylece hipotansif etkisini sadece aköz humör yapımını azaltarak gösterir.

Topikal timololün santral sinir sistemini etkileyerek oluşturduğu yan etkiler arasında disoryantasyon, hafıza zayıflığı, anksiyete, depresyon, yorgunluk, emosyonel labilite ve halüsinasyonlar bildirilmiştir (62,105,115). Kardiovasküler sistem yan etkileri arasında ise senkop, bradikardiler, kalp bloğu, fibrilasyon ve infarktüs rapor edilmiştir. Diğer sistemik yan etkileri arasında impotans, döküntüler, diare, erkek tipi alopesi ve plazma HDL'de düşme sayılabilir (20,29,31).

Diğer bir çok nonselektif betablokerlerde olduğu gibi topikal timolol uygulamasının en ciddi komplikasyonu pulmoner hastalığın alevlenmesidir. Bronkospazm, yenidoğanda apne, astımın alevlenmesi bildirilmiştir (18,34,45,56,73,77,79).

Timololün pilokarpin gibi belirgin yan etkileri yoktur, miyozis ve akomodatif problemler mevcut değildir. Lokal yan etkileri arasında irritasyon, allerjik reaksiyon, vizyonda azalma, punktat keratopati, reversibl miyopi, ağrı, kistoid maküler ödem sayılabilir(3). Başlangıçta timololün major oküler

sorunlarının korneal anestezi ve gözyaşı yapımında azalma olduğu üzerinde durulmaktaydı (105). Bu her iki problemi bildiren yayınlar olmasına karşın insidanslarının relatif olarak nadir olduğu düşünülmektedir (76) ve uzun süreli çift kör çalışmalarda anlamlı olarak gösterilememiştir (59). Bir lipofilik molekül olarak betabloker aksonun hücre membranına nüfus edip membranı stabilize eder ve aksiyon potansiyelinin yayılımını önler. Bu etki betablokaj etkiyle ilgili değildir, betablokerin konsantrasyonuna, membran stabilize edici etkisine, lipofilik özelliğine ve karşılaştığı hücre membranı alanına bağlı olan bir fiziko-kimyasal etkileşimdir (76). Klinik olarak timolole bağlı korneal anestezi gelişen ilk vaka Van Buskirk tarafından bildirilmiştir (106). Ancak daha sonra benzer teknikle yapılan kontrollü çalışmalarda gösterilmemesi bu etkinin çok nadir olduğunu düşündürmektedir.

Stempel (96) timololün damlatılmasından sonraki ilk 20 dakika içinde gözyaşı kırılma zamanını (GKZ) düşürdüğünü vurgulamıştır. Timolol uygulamasından 5 saat sonra Nielsen ve Eriksen (67) GKZ, gözyaşı osmolaritesi, korneal sensitivite veya Schirmer I testinde anlamlı değişiklikler saptamamışlardır.

Uzun süre timolol kullanan bazı hastalarda blefarokonjoktivit gibi betablokerlere karşı allerji oluştuğu bildirilmiştir (76). Benzer reaksiyonlar nadolol (25), levobunolol (78) ve metoprolol (107) için de bildirilmiştir. Betablokerler arasındaki çapraz reaksiyonun komple olmaması sensitivitenin kimyasal yapı ile ilgili olduğunu düşündürmektedir (107).

Gözyaşı film tabakası yaklaşık 7 mikrometre kalınlığındadır. Kırpmadan hemen sonra kalınlık en fazladır, gittikçe azalır. Üç tabakadan oluşmuştur; lipid tabakası, yaklaşık 0.5 mikrometre kalınlığındadır, kolestrol

esterleri gibi düşük polarize lipidlerden oluşmaktadır (16). Meibomian bezleri salgılarından kaynaklanan lipid tabakasının primer fonksiyonu buharlaşmayı geciktirmektedir. Orta tabaka (aköz tabaka) yaklaşık 6.5 mikrometre kalınlığındadır, inorganik tuzlar, glikoz, üre, çeşitli proteinler (enzimler, Ig'ler, kompleman, albumin) içerir (85). Esas ve yardımcı gözyaşı bezleri tarafından salgılanır. Musin tabakası ise 0.2-0.5 mikrometre kalınlığındadır. Konjonktival goblet hücrelerinden salgılanır. Musin epiteliyal yüzey ile gözyaşı filmi arasındaki yüzey gerilimi azaltarak, gözyaşı filminin yayılmasını sağlar (6).

Preoküler gözyaşı filmindeki bozukluk, örneğin; kornea üzerinde kuru spotların oluşması, temel olarak bir ıslanmama fenomenidir. Gözyaşı filmi kalınlığı oküler yüzey hidrofobik olduğunda stabiliteyi sağlamada yetersiz kalmaktadır (40). Göz kapaklarının açılmasıyla kuru spotların görülmesi arasında geçen süre gözyaşı kırılma zamanı (GKZ) olarak tanımlanmaktadır (58, 74). Genel olarak eğer GKZ 10 saniyeden az ise gözyaşı film tabakasının stabilitesinin yetersiz olduğu kabul edilmektedir. Oküler yüzey hasarına neden olabilmesi için GKZ'nin normalde 6-8 sn olan ortalama göz kırpma süresinden daha kısa olması gereklidir (41).

Norn (75) hasarlı yüzey epitelin boyanmasında boyaların kullanılabileceği konusunda öncü çalışmalar yapmıştır. Bugün rosebengal ve floressein en çok kullanılan boyalardır (41). Özellikle yüzey aktif preservatiflerle karıştırılmış floresseinin GKZ'nini kısalttığı gösterilmiştir (63).

Palpebral fissürde gözyaşı sekresyon miktarı veya gözyaşı turnover miktarı Schirmer, Schirmer-Holly ve boya dilüsyon testleri veya gözyaşı menisküsünün değerlendirilmesiyle belirlenebilir (41). Bugün en sık kullanılan Schirmer testi 5 dakikada salgılanan gözyaşı miktarını belirler (89).

Belirlenen miktarın stripten buharlaşma nedeniyle normalden daha az olduğunu öne süren yayınlar yanında (41), özellikle gençlerde oküler iritasyon nedeniyle miktarın normalden daha fazla olduğunu iddia eden yayınlar da mevcuttur (63).

Konjonktival yüzeyin hem hücre dağılımı hem de morfolojik özelliklerinin bölgesel farklılıklar gösterdiği bilinmektedir. Bu bölgesel farklılıklardan dolayı konjonktiva yüzeyini incelemede insizyonel biopsinin değeri sınırlıdır. Hem invaziv bir yöntemdir hem de sadece yüzey kesitin alındığı alanda kısıtlı bir oküler yüzey incelenebilir (13).

İlk defa 1977 yılında Egbert ve ark. (26) sellüloz asetat filtre kağıdı kullanarak basit bir konjonktival biopsi yöntemi rapor etmişlerdir. Her ne kadar bu teknik başlangıçta goblet hücre sekresyonlarını incelemek için tasarlanmışsa da filtre kağıdının oküler yüzeyden epitel hücre tabakasını da birlikte kaldırdığı görülmüştür. "İmpresyon sitolojisi" olarak adlandırılan bu teknikte yüzeysel biopsi materyali boyanarak hücreler ve goblet hücre sekresyonu değerlendirilebilir (26,69,71). Adam (1), Nelson (68) ve Götz (33) bu tekniğin gelişiminde önemli rol oynamışlardır.

Bu yöntem güvenilir, ağrısız ve basittir. Konjonktivadan 1-3 hücre tabakası, korneadan 1 hücre tabakası kaldırılabilir (55). Kseroftalmia (5,48,116), keratokonjonktivitis sikka (2,70), skuamöz metaplazi (101), konjonktivit (37), oküler pemfigoid, Stevens-Johnson sendromu gibi (72) konjonktiva tutulumu olan oküler yüzey hastalıklarında kullanılabilirliği gösterilmiştir. Örneklerin elektron mikroskopuyla incelenmesi mümkündür (61). Pastor ve ark. (80) AIDS'li bir hastanın bulber konjonktivasından impresyon sitolojisi tekniği ile aldıkları örnekte transmisyon elektron mikroskobu ile bir retrovirus izole etmişlerdir.

Goblet hücreleri tarafından salgılanan musin, glikoprotein yapısında olup gözyaşı film tabakasının stabilitesini sağlamada önemli rol oynar (42). "Musin-defisitli kuru göz" kavramı ilk defa Lemp tarafından ortaya atılmıştır (57). Bu düşünce oküler skatrisyel pemfigoid (OSP), Stevens-Johnson sendromu ve kseroftalmiada goblet hücrelerinin azalmış olmasından kaynaklanmıştır. Goblet hücre sayısının azalmasının gözyaşı musininin azalmasına neden olduğu, sonuçta gözyaşı film stabilitesinin bozulduğu ve korneal kurumanın ortaya çıktığı iddia edilmiştir. Ancak Dohlman ve ark. (23) OSP ve Stevens-Johnson sendromunda gözlerde yeteri kadar musin bulunduğunu bildirmişlerdir. Daha sonra Kinoshita ve ark. (51) yaptıkları bir çalışmada OSP ve radyasyon keratitli vakalarda konjonktival goblet hücrelerinin oldukça azalmış olmasına karşın, musin miktarının yeteri kadar bulunduğunu belirtmişlerdir. Yazarlar, primer oküler yüzey hastalıklarında goblet hücre yoğunluğunun gözyaşı musin miktarının belirlenmesinden daha iyi bir gösterge olduğunu öne sürmüşlerdir.

İlk defa Wirchow 1910 yılında normal insan gözlerinde goblet hücre yoğunluğunu bildirmiştir (110). O zamandan bu yana birçok araştırmacı normal gözlerde ve çeşitli oküler yüzey hastalıklarında goblet hücre yoğunluğunu araştırmıştır. Kessing (49) goblet hücre yoğunluğunun en fazla inferonazal kadranda olduğunu ve lokalizasyona göre değişiklik gösterebileceğini bildirmiştir. Yine Kessing 35 yaşından sonra goblet hücre yoğunluğunun oldukça stabil kaldığını belirtmiştir.

Nelson (72) normal gözlerde goblet hücre yoğunluğunu interpalpebral bulber alanda mm^2 'de 443 (± 266), inferior palpebral oküler yüzeyde 1972 (± 862) olarak bildirmiştir. Üstündağ ve ark.'nın (104) yaptığı bir

çalışmada ise goblet hücre yoğunluğu interpalpebral bulber alanda mm^2 'de 506 (± 908), inferior palpebral alanda 1845 (± 278) olarak bulunmuştur. Tablo 1'de Rivas ve ark.'nın (86) lokalizasyona göre saptadıkları goblet hücre yoğunluğu gösterilmektedir.

Tablo 1 : Lokalizasyona göre mm^2 de Ortalama Goblet Hücre Yoğunluğu.

Alan	Nazal	Santral	Temporal
Üst palpebral	648 \pm 173	512 \pm 164	347 \pm 201
Üst forniks	384 \pm 83	510 \pm 86	365 \pm 99
Üst bulber	520 \pm 159	454 \pm 122	331 \pm 148
Üst limbal	-	0	-
Interpalpebral	241 \pm 82	-	165 \pm 100
Horizantal limbal	0	-	0
Alt limbal	-	0	-
Alt bulber	683 \pm 208	493 \pm 142	427 \pm 112
Alt forniks	1677 \pm 326	830 \pm 303	672 \pm 277
Alt palpebral	1511 \pm 325	719 \pm 211	632 \pm 122

Normal kornea ve konjonktiva non-keratinize, stratiye epitel ile örtülüdür. Konjonktiva epitelinde bulunan goblet hücreleri gözyaşı filminin en alt tabakasını oluşturan musini salgılar. Oküler yüzey bütünlüğünün devamlılığında bu epitelyal özellikler ve musin salgılanması önemli rol oynamaktadır. Non keratinize, stratiye epitelin nonsekreatuar, keratinize epitele olan patolojik dönüşümü "skuamöz metaplazi" olarak adlandırılır. Skuamöz metaplazi çeşitli oküler yüzey hastalıklarında tanımlanmıştır. Bunlar arasında kseroftalmia, skatrisyel keratokonjonktivitler (oküler pemfigoid, ilaca bağlı pseudopemfigoid, Stevens-Johnson send, kimyasal yanıklar, radyasyon sonucu, trahom), kronik kerakonjonktivitler (superior limbik, graft-versus-host hastalığı, atopik), keratokonjonktivitis sikka, displazi, karsinom sayılabilir (101).

Her ne kadar konjonktiva ilaçların göze girmesine izin veren pasif yarı geçirgen bir bariyer gibi görünse de strese, inflamasyon, skarlaşma, keratinizasyon ve neovaskülarizasyon ile cevap veren canlı ve dinamik bir doku olduğu unutulmamalıdır. Gerçekte topikal olarak kullanılan tüm ilaçların bazı hastalarda konjonktival reaksiyona neden olduğu bilinmektedir. Theodore (100) ve Wilson (114) antiglokomatöz ilaçlarında bulunduğu bir grup topikal ilacın eksternal oküler yan etkilerini gözden geçirmişlerdir. Bu konuda antiglokomatöz ilaçlardan özellikle suçlanan ajanlar echothiophate iodide (28), dipivefrin hidroklorid (60), pilokarpin (28, 44) olmasına karşın betablokerlerin de konjonktival keratinizasyona neden olduğu bilinmektedir (22).

Topikal antiglokomatöz ilaçların konjonktivada değişikliklere neden olduğuna dair yayınlar vardır. Schirmer testinin normal olduğu bir çok antiglokomatöz tedavi gören glokom hastasında kuru göz semptomları mevcuttur. Bunlarda gözyaşı film tabakasının lipid kompozisyonunda değişiklik olduğu düşünülmektedir (13). Uzun süre pilokarpin kullanımı sonucu konjonktival goblet hücre sayısında azalma olduğu bildirilmiştir (32). Uzun süre betaantagonist kullanımı sonucu oluşan konjonktival değişiklikler ışık ve elektron mikroskobu ile gösterilmiştir (109). Bir çok prezervan içeren antiglokomatöz ilacın kültürde konjonktival epitele toksik olduğuna dair invitro bulgular vardır (98).

Topikal tedaviye konjonktivanın reaksiyonu birkaç yolla olabilir (3,14,114). Pseudopemfigoid gelişimi (ilaca bağlı oküler skatrizasyon) bu reaksiyon spektrumunun en "ciddi" ucunda yer alırken, bir diğer uçta total tolerans bulunmaktadır.

Konjonktivanın ilaçlara karşı reaksiyon mekanizmaları aşağıda gösterilmiştir :

- Skatrizan konjonktivit (Pseudopemfigoid)
- Anaflaktoid (allerjik) akut veya kronik konjonktivit (Tip I hipersensitivite)
- Allerjik kontakt (dermato) konjonktivit (Tip IV hipersensitivite)
- Non-spesifik (papiller) iritatif/toksik konjonktivit (pH, tonisite, kontaminasyon gibi faktörlere immunolojik olmayan irritasyon)
- Spesifik (folliküler) iritatif/toksik konjonktivit (lenfoid folliküllerin oluşumu ile karakterizedir).
- Kümülatif/depozisyon/diskromia (örn: Sempatikomimetikler ile adrenokrom depozisyon)
- Mikrobial imbalans ve sekonder konjonktivit (gecikmiş allerjik cevap?, Tip IV hipersensitivite)
- Non-spesifik irritasyon (klinik belirti olmadan)
- Subklinik sellüler ve ultrastrüktürel değişiklik
- Total tolerans

Topikal tedavi sonucu rapor edilen pseudopemfigoid sayısı relatif olarak az olmasına karşın bazı topikal antiglokomatöz ilaçlar etiolojide rol oynayabilir. Bunlar adrenalin, pilokarpin, β -blokerler, echothiophate iodide, demecarium bromide ve çeşitli kombinasyonlardır (28,38,54,81,83,103).

Pseudopemfigoidin klinik bulguları ve histopatolojik özellikleri aşağıda gösterilmiştir (14,81,83).

Pseudopemfigoidin klinik bulguları :

- Kantal keratinizasyon
- Kantüste sığılaşma
- Konjonktival kıvrım, plika ve karünkülde düzleşme
- Non-spesifik kronik konjonktivit ve hiperemi
- Konjonktival kalınlaşma
- Anormal konjonktival vaskülarizasyon
- Subepitelyal fibrozisi gösteren beyaz çizgiler
- İnfirior punktum tıkanması
- Symblefore
- Konjonktival ülserasyon
- Prekorneal gözyaşı filmi anormalliği ve instabilitesi
- Kirpiklerde metaplazi, entropiyon, trikiazis
- Lagoftalmus ve korneal kuruma
- Vaskülarizasyon ile birlikte korneal opasifikasyon
- Sekonder infeksiyon
- Total konjonktival sikatrizasyon ve/veya epidermalizasyon
- Non-progresif ve unilateral tedavi gören gözlerde öbür gözde değişiklik olmaması
- Pemfigoid'in sistemik belirtilerinin olmaması

Pseudopemfigoidin histopatolojik bulguları :

- Goblet hücre sayısında azalma
- Epitelyal keratinizasyon
- Skuamöz metaplazi
- Mikrovillusların kaybı
- Desmazom sayısında artış
- Epitelin büllöz ayrılması
- Subepitelyal fibrozis
- Intravasküler boşluğun azalması
- Subepitelyal lenfosit ve plazma hücrelerinde artış
- Bazal membran kalınlaşması
- Bazı vakalarda bazal membranın immunglobulin için boyamada boya alması

Topikal antiglokomatöz ilaçlarla allerjik reaksiyonlar bildirilmiştir (76,107,114). Birçok vakada allerji prezervatif maddelere bağlıdır ve prezervatif madde içermeyen damlaların uygulanması ile sıklıkla düzelme olur. Allerjik konjonktivitin klinik ve patolojik özellikler aşağıda gösterilmiştir (14,100,114).

Allerjik konjonktivitin klinik bulguları :

Tip 1 Hipersensitivite

- Lakrimasyonda artış
- Kaşınma
- Konjonktival kemozis ve hiperemi
- Mukoid sekresyon

- İlimli papiller hipertrofi
- Eğer kronikse ilimli bulgu ve semptomlar
- Subepitelyal eozinofilde artış

Tip IV Hipersensitivite

- Lakrimasyonda artış
- İlimli kaşınma
- İinferior konjonktiva ve korneada punktat epitelyal erozyonlar
- Mukoid veya mukopürülan sekresyon
- Papiller hipertrofi
- Kapak ödemi ve dermatit
- Subepitelyal inflamatuvar hücre sayısında nonspesifik artış

Foliküler konjonktivit hem sempatikomimetik (dipivefrin) (60) hem de miyotik tedavi (30,114) ile bildirilmiştir. Daha sonra Cvetkovic ve ark. (21) prezervatif madde içerip içermemesine bağlı olmadan uzun süre (> 1 yıl) pilokarpin kullanımı sonucu konjonktival folliküllerin gelişimini bildirmiştir. Betablokerlerin folliküler reaksiyonuna neden olduğuna dair bir bulgu yoktur ve bu prezervatif maddelerin direkt olarak sorumlu tutulamıyacağı düşüncesini desteklemektedir (14).

Konjonktiva topikal ilaç uygulamasına bir çok yolla reaksiyon göstermesine karşın hastaların çoğunda konjonktival değişiklikler klinik olarak belirgin değildir, detaylı bir inceleme yapılmazsa kolaylıkla gözden kaçırılabilir. Wright (118) topikal antiglokomatöz tedavi sonucu sinsi gelişen skuamöz metaplazi ve epidermalizasyon bildirmiştir. İlk saptanabilen bulgu olarak gözyaşı

film tabakasının epiteli ıslatamaması sonucu konjonktiva yüzeyinden yansıyan ışığın dağılmasını belirtmiştir. Artmış keratinizasyonun beyazımsı, hafif köpüğümsü bir görünümde olduğunu vurgulamıştır. Histolojik bulgu olarak goblet hücre kaybı, epitelyal keratinizasyon, keratohiyalin granül formasyonu, lenfosit ve plazma hücreleri ile subepitelyal infiltrasyon ve bazı vakalarda fibroblast sayısında ve fibrozis derecesinde artma bildirilmiştir. Benzer reaksiyonun topikal dipivefrin ve metipranolol kullanımı sonucu geliştiği rapor edilmiştir (22). Benzer reaksiyonun sistemik praktolol ile oluştuğunun bilinmesi (119) ve metipranolol ile praktolol arasındaki farmakolojik benzerlikler gözönüne alındığında konjonktival reaksiyonun nedeni olarak betablokerler düşünülmüştür.

Wright (117) sempatikomimetik tedaviye bağlı olabileceğini öne sürdüğü subkonjonktival fibrozise bağlı inferior forniks daralması bildirmiştir. Daha sonra Schwab ve ark'ın (90) yaptığı bir çalışmada, kullanılan ilacın cinsine bağlı olmadan en az 3 yıl topikal antiglokomatöz ilaca maruz kalmanın yaşa bağımlı olarak inferior fornikte daralma yaptığı gösterilmiştir.

Sherwood ve ark. (91) topikal antiglokomatöz tedavinin konjonktivanın sellüler komponentine etkilerini belirlemek amacıyla glokomlu hastalardan biopsi almışlardır. Multi tedavi alan grupta goblet hücre sayısında azalma, kist sayısında ve lenfosit, makrofaj gibi nonepitelyal hücrelerde artma bildirmişlerdir. Hem konjonktival substantia propriada hem de Tenon kapsülünde fibroblast, makrofaj, lenfosit ve mast hücresinde artış tespit etmişlerdir.

Smith ve ark.ları (93) ise bu tip değişikliğe neden olan ilacı saptamak amacıyla tavşanları 4 gruba bölüp timolol, pilokarpin, adrenalin ve

kombine tedavi uygulamışlardır, ancak inflamatuvar hücre, goblet hücre, fibroblast sayısında hem tedavi grubu içinde hem de kontrol grubuyla karşılaştırdıklarında anlamlı bir fark bulamamışlardır.

Broadway ve ark.'nın (15) yaptığı çalışmada uzun süreli betabloker kullanımının konjonktivanın hücre profiline etkisinin az olmasına karşın, pilokarpin ve pilokarpin + betabloker kullanımında epitelde makrofaj, substantia propria fibroblast, mast hücreleri ve lenfosit artışına neden olduğu bildirilmiştir. Ancak hücre profilindeki en büyük değişikliği üçlü tedavi görenlerde (pilokarpin + betabloker + sempatikomimetik) gözlemişlerdir.

Steuhl ve ark. (95) yüzey epitelyal hücrelerdeki vakuolizasyon ve düz endoplazmik retikulumdaki dilatasyon gibi intrasellüler değişikliklerin prezervan madde (benzalkonyum klorid) sonucu oluşabileceğini belirtmişlerdir.

Quaranta ve ark. (84) uzun süre timolol kullanan hastalarda (6-10 yıl) konjonktivada patolojik değişiklik gözlenmediğini bildirmişlerdir. Ancak sadece 4 hasta 4 kişilik kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır.

İRkeç ve ark. (43) ile Alp ve ark. (4) çalışmalarında timolol maleat kullananlarda goblet hücre yoğunluğunun azaldığını tespit etmişlerdir.

Brandt ve ark. (13) konjonktival impresyon sitolojisi kullanılarak topikal antiglokomatöz tedavinin epitel metaplazi derecesi üzerine etkisini araştırmışlardır. Betabloker, betabloker + pilokarpin ve betabloker + pilokarpin + sempatikomimetik kullanan gruplarda metaplazi derecesi kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulduklarını bildirmişlerdir.

Takahaski (98,99) insan konjonktival hücre kültüründe antiglokomatöz ilaçları ve prezervan maddelerin etkilerini araştırmıştır. % 0.005 konsantrasyonun üstünde prezervatif (benzalkonyum klorid) maddeyi toksik olarak bulmuş iken, prezervatif madde içermeyen % 1'lik pilokarpin ve % 0.5'lik timololün toksik olmadığını bildirmiştir.

Williams ve ark. (113) benzalkonyum kloride ve betablokerlerin insan Tenon kapsül fibroblast kültürü üzerindeki etkilerini araştırmışlar, hiç bir maddenin fibroblast proliferasyonunu stimüle etmediği gibi klinikte kullanılan dozlarda irreversibl toksik olduğunu bildirmişlerdir.

BİREY ve METOD

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Glokom Biriminde takip edilmekte olan ve yaşları 39 ile 72 arasında değişen 32 hastanın 54 gözü çalışma kapsamına alınmıştır. En az 1 yıldır topikal antiglokomatöz tedavi alan bu hastaların 17'si (28 göz) 12 saat arayla % 0.50 timolol maleat, 7'si (12 göz) 8 saat arayla %2 pilokarpin ve geriye kalan 8 hasta ise (14 göze) pilokarpin + timolol maleat kullanmaktaydı.

Gözlük muayenesi için polikliniğe başvuran ve yaş olarak hasta grubu ile uyumlu olmasına dikkat edilen, ön segment patolojisi veya ilaç kullanma öyküsü olmayan 16 kişinin 32 gözü kontrol grubu olarak seçildi.

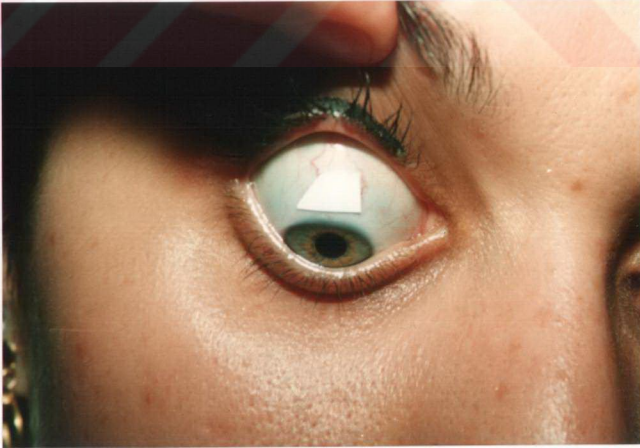
Daha evvel operasyon, krioterapi gibi girişim geçirmiş olanlar, konjonktival skatrizasyon nedeniyle çalışma kapsamına alınmadı. Yukarıda belirtilen antiglokomatöz ilaçlardan başka suni göz yaşı da dahil olmak üzere topikal ilaç kullananlar ve anamnezlerinde veya biomikroskopik muayenesinde oküler yüzey hastalığı (oküler pemfigoid, keratokonjunktivitis sikka, herpes, trahom, v.b.) geçirdiğine dair bulgu olanlar çalışmaya dahil edilmedi.

Hastalara ve kontrol grubuna uygulanacak olan prosedür ile ilgili ayrıntılı bilgi verildi ve onayları alındı. Çalışmaya başlamadan evvel detaylı sistemik ve oküler anamnez alındı. Her hastaya eksternal göz hastalığı veya oküler yüzey anomalileri açısından dikkatli bir şekilde biomikroskopik muayene yapıldı. Schirmer I testi, hasta gözünün alt kapak 1/3 lateraline test kağıdının yerleştirilip 5 dakika sonra ıslanma miktarının ölçülmesiyle gerçekleştirildi. %1 lik floressein solüsyonu damlatıldıktan sonra hastanın gözünü en son kırptığı

andan kornea üzerinde ilk kuru spotun görülmesi arasında geçen süre gözyaşı film tabakası kırılma zamanı (GKZ) olarak kaydedildi.

İmpresyon sitolojisi için sellüloz asetat kağıdı (Sartorius, 11107-50-N, 0,20 mikrometre) bir ucu çıkıntılı kalacak şekilde 4 x 5 mm olarak kesildi. Bu çıkıntılı kısım manüplasyonu kolaylaştırdığı gibi lama yayılırken epitel tabakasının üste gelecek şekilde yerleştirilmesinde bir işaret görevini görmüştür. Sellüloz asetat kağıdın yüzey epitel hücrelerini kaldırma özelliğinden dolayı filtre kağıdına elle dokunulmadı.

Hastanın gözüne % 4'lük oksibuprokain hidroklorür solüsyonundan 1 damla damlatıldıktan sonra sellüloz asetat kağıdı üst santral bulber konjonktivaya, limbustan 2 mm uzaklıkta olacak şekilde düz, dişsiz bir penset yardımıyla yerleştirildi (Resim 1).



Resim 1: Göze filtre kağıdının yerleştirilmesi

Filtre kağıdı üzerine ucu künt ve yuvarlak olan bir cam çubuk ile 3-5 sn kadar bası yapıldıktan sonra kağıt konjonktivadan yavaşça soyularak kaldırıldı. Materyal daha evvel steril edilmiş ve içine % 96'lık alkol konulmuş olan flakon şişelerine yerleştirildi. Şişenin üzerine hasta kodu ve hangi göz olduğu kayıt edildi. Örnekler en az 10 dakika % 96'lık alkolde tespit edildikten sonra ya hemen boyanmış ya da daha sonra boyanmak üzere alkolün buharlaşmasını önlemek amacıyla + 4 °C'de saklanmıştır.

Örnekler flakon şişelerinden kaşelerin içine aktarıldıktan sonra periodik acid schiff (PAS) ve hematoksilin ile boyandı. Boyama protokolü aşağıda gösterilmiştir.

PAS - hematoksilin boyama protokolü :

1. Distile su ile hidrasyon (5 dak.)
2. 0.5 periodic acid ile oksidasyon (6-8 dak.)
3. Distile su ile durulama (5 dak.)
4. Schiff reaktifi ile boyama (3-4 dak.)
5. Çeşme suyunda durulama (5 dak.)
6. Harris hematoksilin ile boyama (2 dak.)
7. % 70'lik ethanolde dehidratasyon (2 dak.)
8. % 70'lik ethanol ile dehidratasyon (2 dak.)
9. % 96'lik ethanol ile dehidratasyon (2 dak.)

10. % 96'lık ethanol ile dehidratasyon (2 dak.)
11. % 100'lık ethanol ile dehidratasyon (2 dak.)
12. % 100'lük ethanol ile dehidratasyon (2 dak.)
13. Ksilol ile dehidratasyon (2 dak)
14. Ksilol ile dehidratasyon (5 dak.)
15. Entellan ile kapama

Preperatlar, x200, x400 ve x1000 büyütme ile incelendi. Goblet hücrelerinin sayımı için örneklerden rastgele alan seçildi. x400 büyütme alanına düşen goblet hücreler sayıldı. Sayım 5 komşu alanda gerçekleştirildikten sonra ortalama değer bulundu. Oküler mikrometre yardımıyla x400 lik büyütme alanı hesaplandıktan sonra 1 mm²'de bulunan goblet hücre sayısı hesaplandı.

Epitel hücreleri şekillerine, büyüklüklerine, nükleus ve nükleoplastazma oranındaki özelliklerine göre değerlendirildi. Değerlendirme Nelson ve ark.'nın (71) tanımladığı skuamöz metaplazi derecelendirilmesine göre gerçekleştirildi.

Grade 0 : Epitelyal hücreler küçük, yuvarlak. Nükleus büyük bazofilik. Nükleoplastazmik oran 1/2. Goblet hücreleri bol, kümeler halinde, PAS ile koyu boyalı.

Grade 1 : Epitelyal hücreler biraz daha büyük, daha poligonal. Nükleus biraz daha küçük, nükleoplastazma oranı 1/3. Goblet hücre sayısında azalma mevcut, PAS ile koyu boyalı.

Grade 2 : Epitelyal hücreler daha büyük, poligonal, bazen multinükleuslu. Nükleus küçük, nükleostoplazma oranı 1/4-1/5. Goblet hücreleri oldukça azalmış, daha küçük, PAS ile boyalı, sınırları daha zor seçilmekte.

Grade 3 : Epitelyal hücreler ileri derecede genişlemiş, poligonal. Nükleus piknotik yada tümüyle kaybolmuş. Nükleostoplazmik oran 1/6'dan büyük. Goblet hücresi hiç yok.

Preperatlara kod numarası verilmiş ve değerlendirme yapan şahısa preperatların hangi gruba ait olduğu açıklanmamıştır.

İstatiksel değerlendirmede grup ortamları arasındaki fark ANOVA yöntemi ile araştırıldı, ikişerli karşılaştırma testlerinde ise LSD yöntemi kullanıldı. Ayrıca kesikli değişkenlerin analizinde Kolmogorov ve Simirnov testinden faydalanıldı. İstatiksel değerlendirme PC bilgisayarında MINITAB istatistik paket programı kullanılarak gerçekleştirildi (66).

BULGULAR

Hastalardan elde edilen veriler Tablo 2,3,4 ve 5'te gösterilmiştir.

Tablo 2 : Kontrol Grubu Verileri (16 Kişinin 32 Gözü) :

Hasta	Yaş	Cinsiyet	Schirmer	GKZ	Goblet	Evre
SD	47	K	33	16	496	0
			29	14	424	0
LU	48	K	26	14	396	0
			20	12	385	0
GG	58	K	14	14	454	0
			13	14	414	0
SŞ	55	K	25	14	416	0
			20	16	470	0
YS	60	E	20	13	388	0
			23	17	562	0
ÇK	54	K	23	8	254	1
			20	12	306	0
TE	47	E	30	14	384	0
			30	12	327	0
AB	49	E	20	12	355	0
			22	17	514	0
AP	52	E	20	22	408	0
			15	16	485	0
SÖ	72	K	22	10	417	0
			22	15	484	0
MA	55	K	28	16	357	0
			23	14	474	0
AÇ	52	E	25	15	482	0
			27	17	504	0
ZE	57	K	29	14	315	0
			28	11	404	0
İÇ	60	E	30	16	316	0
			30	14	474	0
SY	43	K	28	10	361	1
			22	18	408	0
MK	50	E	35	13	502	0
			20	15	454	0

Tablo 3 : Pilokarpin Grubu Verileri (7 Hastanın 12 Gözü) :

Hasta	Yaş	Cinsiyet	Süre	Schirmer	GKZ	Goblet	Evre
SÖ	62	E	3	12	18	352	0
			3	14	12	402	0
GY	48	E	1	28	16	408	0
			1	32	16	460	0
MÇ	50	K	-	-	-	-	-
			2	17	10	396	0
AA	52	E	1	35	14	482	0
			1	30	12	417	0
SA	56	K	-	-	-	-	-
			4	8	6	206	1
TŞ	58	K	2	22	12	488	0
			2	24	13	445	0
ZG	57	E	1	18	13	408	0
			1	26	15	412	0

Tablo 4 : Timolol Grubu Verileri (17 Hastanın 28 Gözü)

Hasta	Yaş	Cinsiyet	Süre	Schirmer	GKZ	Goblet	Evre
AÇ	54	K	2	22	14	308	0
			2	18	16	324	0
İT	47	E	2	10	12	292	0
			1	13	13	412	0
NY	66	K	-	-	-	-	-
			3	6	9	405	0
HN	55	K	4	13	4	0	3
			3	8	4	96	2
MB	72	E	2	16	12	246	0
			1	18	10	286	0
FÇ	60	K	6	12	6	308	1
			-	-	-	-	-
HY	61	K	6	15	6	297	1
			6	13	3	74	2
KT	39	K	-	-	-	-	-
			2	6	5	284	1
FÇ	68	K	10	17	14	333	0
			10	17	12	481	0
MÖ	49	E	3	10	6	324	1
			2	22	9	208	1
ÖÖ	51	E	1	17	12	371	0
			1	13	9	209	2
DÖ	57	K	3	15	12	344	0
			3	21	8	303	0
GK	52	E	5	12	8	282	0
			-	-	-	-	-
MB	44	E	2	15	12	309	0
			1	14	12	345	0
ŞG	60	K	1	18	14	358	0
			2	17	14	308	0
EÜ	42	E	-	-	-	-	-
			4	14	8	296	1
NT	46	E	-	-	-	-	-
			6	10	7	269	1

Tablo 5 : Pilokarpin + Timolol Grubu Verileri (8 Hastanın 14 Gözü) :

Hasta	Yaş	Cinsiyet	Süre	Schirmer	GKZ	Goblet	Evre
HÇ	68	E	6	10	10	264	2
			4	8	5	122	1
MS	60	K	3	14	10	306	0
			7	5	5	86	2
Yİ	45	K	2	16	12	335	0
			2	20	12	310	0
GÇ	52	E	1	20	12	362	0
			4	12	9	254	1
AO	51	K	-	-	-	-	-
			2	14	10	302	0
KB	47	K	2	10	12	326	0
			2	10	11	308	0
AZ	60	E	-	-	-	-	-
			3	14	12	345	0
Fİ	53	K	4	10	8	236	0
			6	4	4	134	2

Hasta grubu içinde pilokarpin kullananların yaşı 48-62 arasında (ort. yaş : 54, 71 ± 4.92), timolol maleat kullananların yaşı 39-79 arasında (ort. yaş : 54, 29 ± 9.39), pilokarpin + timolol kullananların yaşları ise 45-68 (ort. yaş : 54, 50 ± 7.65) arasında değişmekteydi. Kontrol grubunda yaş 43-73 arasında olup yaş ortalaması 53.69 ± 6,96 idi. Gruplar arasındaki yaş ortalama farkları ANOVA yöntemi ile araştırıldığında istatistiksel olarak önemli bulunmadı (p>0.05) (Tablo 6).

Tablo 6 : Grupların Yaş Ortalamaları

Grup	\bar{x}^*	SD**	F	p
Kontrol	53,69 ±	6,96	0,04	p>0.05
Pilokarpin	54,71 ±	4,92		
Timolol	54,29 ±	9,39		
Pilok + Timolol	54,50 ±	7,65		

* : Ortalama

** : Standart deviasyon

Grupların cinsiyet dağılımları Tablo 7'de gösterilmiş olup Kolmogorov-Simironov çift örnekler testine göre dört grup dikkate alındığında cinsiyet arasında önemli bir fark bulunmamıştır ($P>0.05$).

Tablo 7: Grupların Cinsiyet Dağılımı.

Cinsiyet	Timolol	Pilokarpin	Pilokarpin+Timolol	Kontrol
E	8	4	3	7
K	9	3	5	9

Hastaların ortalama ilaç kullanma süreleri pilokarpin grubunda 1.83 ± 1.03 yıl, timolol grubunda 3.36 ± 2.49 yıl, pilokarpin + timolol grubunda ise 3.43 ± 1.83 yıldır. Gruplar arasında ortalama ilaç kullanma süreleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 8).

Tablo 8 : Hastaların Ortalama İlaç Kullanma Süreleri (yıl)

Grup	\bar{x}	SD	F	p
Pilokarpin	1,83	$\pm 1,03$	2.56	$p>0.05$
Timolol	3,36	$\pm 2,49$		
Pilo + Timolol	3,43	$\pm 1,83$		

Pilokarpin kullanan hastalarda Schirmer I testi sonucu 8-35 mm (ort. : 22.16 ± 8.47), timolol grubunda 6-22 mm (ort : $14,36 \pm 4.25$), pilokarpin + timolol grubunda ise 4-20 (ort : $11,93 \pm 4,81$) arasında saptanmıştır. Kontrol grubunda en küçük değer 13 mm, en büyük 35 mm olarak kaydedilmiş olup ortalama değer $24,12 \pm 5,36$ olarak bulunmuştur. (Tablo 9).

Tablo 9 : Schirmer I Test Sonuçlarının Ortalamalarının Gruplara Göre Dağılımı

Grup	\bar{x}	SD	F	p
Kontrol	24,12	$\pm 5,36$	24,96	$P<0.001$
Pilokarpin	22,16	$\pm 8,47$		
Timolol	14,36	$\pm 4,25$		
Pilo + Timolol	11,93	$\pm 4,81$		

Ortalama Schirmer I değerlerinin gruplar arasında LSD yöntemine göre ikişerli karşılaştırmalarında kontrol grubu ile pilokarpin grubu arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmazken ($p > 0.05$), timolol ve pilokarpin + timolol kullanan grupta kontrol grubu ile karşılaştırıldığında değerler istatistiksel olarak önemli derecede farklıydı ($p < 0.05$). Timolol ve pilokarpin + timolol grubu karşılaştırıldığında ise aralarında istatistiksel olarak bir fark bulunamadı ($p > 0,05$) (Tablo 10).

Tablo 10 : Schirmer I Test Sonuçlarının LSD Yöntemine Göre İkişerli Karşılaştırmaları

Gruplar	LSD*	\bar{d}^{**}	p
Kontrol-Pilokarpin	3.51	1.96	$p > 0.05$
Kontrol-Timolol	3.45	9.76	$p < 0.05$
Kontrol-Pilo+timolol	3.46	12.19	$p < 0.05$
Pilokarpin-Timolol	3.47	7.80	$p < 0.05$
Pilokarpin-Pilo+timolol	3.54	10.23	$p < 0.05$
Timolol-Pilo+timolol	3.47	2.43	$p > 0.05$

* : Least standart deviation

** : Ortalamalar arasındaki fark

Gözyaşı film tabakası kırılma zamanı (GKZ) pilokarpin grubunda 6-18 sn (ort. : 13,08 \pm 3,15), timolol grubunda 3-16 sn (ort. : 9,68 \pm 3,61), pilokarpin + timolol grubunda ise 4-12 sn (ort. : 9,43 \pm 2,88) arasında değişmekteydi. Kontrol grubunda ise en küçük değer 8, en yüksek değer ise 22 sn idi (ort. 14,22 + 2,69) (Tablo 11).

Tablo 11 : GKZ Sonuçlarının Ortalamalarının Gruplara Göre Dağılımı

Grup	\bar{x}	SD	F	p
Kontrol	14,22 \pm 2,69		14,21	$P < 0.001$
Pilokarpin	13,08 \pm 3,15			
Timolol	9,68 \pm 3,61			
Pilo + Timolol	9,43 \pm 2,88			

Ortalama GKZ sonuçları LSD yöntemine göre ikişerli karşılaştırılmalarında kontrol grubu ile pilokarpin arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadı ($p > 0.05$). Kontrol grubu ile timolol ve kontrol grubu ile pilokarpin + timolol grupları arasındaki fark ise istatistiksel olarak önemliydi ($p < 0.05$) (Tablo 12).

Tablo 12 : Ortalama GKZ Sonuçlarının Gruplar Arasında Karşılaştırılması

Gruplar	LSD	\bar{d}	p
Kontrol-Pilokarpin	1.988	1.14	$p > 0.05$
Kontrol-Timolol	3.993	4.54	$p < 0.05$
Kontrol-Pilo+timolol	4.003	4.79	$p < 0.05$
Pilokarpin-Timolol	4.017	3.40	$p > 0.05$
Pilokarpin-Pilo+timolol	4.103	3.65	$p > 0.05$
Timolol-Pilo+timolol	4.017	0.25	$p > 0.05$

Kontrol grubunda üst santral bulber konjonktivadan impresyon sitolojisi tekniği ile alınan materyalde mm^2 deki ortalama goblet hücre sayısı $418,44 \pm 71,56$ olarak saptanmışken, bu değer pilokarpin grubu için $406,33 \pm 73,94$, timolol grubu için $288 \pm 88,55$ olarak bulunmuştur (Tablo 13).

Tablo 13 : mm^2 'de Goblet Hücre Sayısı Ortalamalarının Gruplara Göre Dağılımı

Grup	\bar{x}	SD	F	p
Kontrol	$418,44 \pm 71,56$		18,42	$P < 0.001$
Pilokarpin	$406,33 \pm 73,94$			
Timolol	$288,29 \pm 100,29$			
Pilo + Timolol	$263,57 \pm 88,55$			

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında pilokarpin grubundaki goblet hücre kaybı %2.88 olup fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$). Goblet hücrelerindeki azalma timolol grubunda % 31.11 pilokarpin + timolol grubunda %37,09 olarak saptanmış olup kontrol grubu ile arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$) (Tablo 14).

Tablo 14 : Kontrol Grubu ile Karşılaştırıldığında Hasta Gruplarında Goblet Hücre Kayıp Oranı

	Pilokarpin	Timolol	Pilokarpin+Timolol
Kayıp Oranı %	2.88	31.11	37,09

Hasta gruplarının LSD yöntemine göre ikişerli karşıştırmalarında ise mm² deki goblet hücre sayılarında pilokarpin ve diğer 2 grup arasındaki istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmasına karşın (p<0.05) timolol ve pilokarpin + timolol grubu arasındaki fark önemsiz bulundu (p> 0.05) (Tablo 15).

Tablo 15 : mm²deki Goblet Hücre Sayısı Ortalamalarının Gruplar Arasında Karşılaştırılması.

Gruplar	LSD	\bar{d}	p
Kontrol-Pilokarpin	54.41	12.11	p>0.05
Kontrol-Timolol	53.53	130.15	p<0.05
Kontrol-Pilo+timolol	53.67	1154.87	p<0.05
Pilokarpin-Timolol	53.86	118.04	p<0.05
Pilokarpin-Pilo+timolol	55.00	142.76	p<0.05
Timolol-Pilo+timolol	53.86	24.72	p>0.05

Hastalardan elde edilen sitolojik örneklerdeki metaplazi gradelerinin dağılımı Tablo 16'da gösterilmiştir.

Tablo 16: Grupların Grade Dağılımı

Gruplar	Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade3
Kontrol	30 (% 93.75)	2 (% 6.25)	-	-
Pilokarpin	11 (% 91.67)	1 (%8.33)	-	-
Timolol	17 (% 60.71)	7 (% 25)	3 (% 10.71)	1 (% 3.58)
Pilo + Timo	9 (% 64.29)	2 (% 14.27)	3 (% 21.44)	-

Skuamöz metaplazi açısından değerlendirildiğinde ortalama grade pilokarpin grubunda 0,08 ± 0,25, timolol grubunda 0,57 ± 0,84, pilokarpin +

timolol grubunda $0,57 \pm 0,85$ kontrol grubunda ise $0,06 \pm 0,25$ olarak bulunmuştur (Tablo 17).

Tablo 17 : Grade Ortalamalarının Gruplara Göre Dağılımı

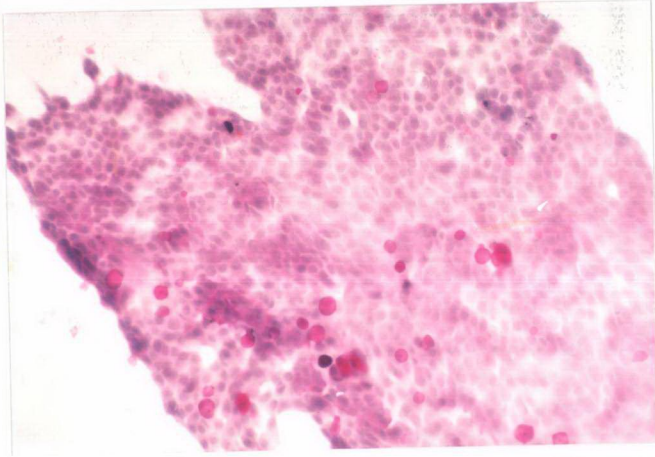
Grup	x	SD	F	p
Kontrol	0.06	$\pm 0,25$	4,48	P<0.001
Pilokarpin	0,08	$\pm 0,29$		
Timolol	0,57	$\pm 0,84$		
Pilo + Timolol	0,57	$\pm 0,85$		

Grade ortalamalarının LSD yöntemine göre ikişerli karşılaştırılmasında ise kontrol grubu ile pilokarpin grubu arasında önemli bir istatistiksel fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). Ancak kontrol grubu ile timolol ve pilokarpin + timolol grupları arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$). Timolol ve pilokarpin + timolol gruplarının karşılaştırılmasında ise aralarındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($p>0,05$) (Tablo 18).

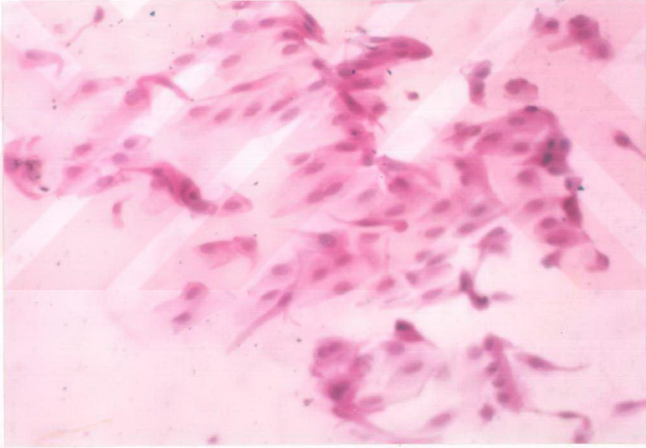
Tablo 18 : Grade Ortalamalarının LSD Yöntemine Göre İkişerli Karşılaştırılması.

Gruplar	LSD	d	p
Kontrol-Pilokarpin	0.046	0.02	$p>0.05$
Kontrol-Timolol	0,044	0.51	$p<0.05$
Kontrol-Pilo+timolol	0.044	0.51	$p<0.05$
Pilokarpin-Timolol	0.044	0.49	$p<0.05$
Pilokarpin-Pilo+timolol	0.045	0.49	$p<0.05$
Timolol-Pilo+timolol	0.044	0	$p>0.05$

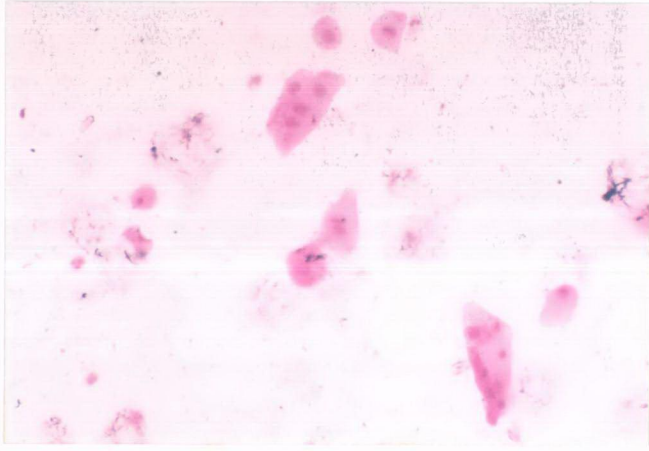
Hastalara ait preparatlarda Grade 0, 1, 2 ve 3 squamöz metaplazik değişimler Resim 2 (PAS-Hematoksilen, x200), Resim 3,4 ve 5'te (PAS-Hematoksilen, x400) gösterilmiştir.



Resim 2: Epitel hücrelerinin küçük ve yuvarlak olduğu görülmektedir. Nükleus büyük, bazofilik ve nükleostoplazmik oran $1/2$ dir. Goblet hücrelerinin bol ve PAS ile koyu boyalı olduğu görülmektedir (Grade 0).



Resim 3 : Epitelyal hücreler biraz daha büyük ve poligonal görünümündedir. Nükleus biraz daha küçük ve nükleostoplazma oranı $1/3$ 'tür (Grade 1).



Resim 4 : Grade 2 skuamöz metaplazi görülmektedir. Epitelyal hücreler daha büyük ve poligonal olduğu görülmektedir. Nükleus küçük, nükleostoplazma oranı $1/4 - 1/5$ 'tir. Multinükleuslu hücreler görülmektedir.



Resim 5 : Poligonal ve iyice yassılaşmış epitel hücreleri görülmektedir. Bazı hücrelerde nükleus ortadan kaybolmuş, bazılarında ise piknotiktir. Nükleostoplazmik oran $1/6$ 'dan büyüktür. Goblet hücresi hiç yoktur (Grade 3).

TARTIŞMA

Hastaların yaş ortalamaları dikkate alındığında gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmadı ($p > 0.05$). Her ne kadar Kessing (49) 35 yaşından sonra goblet hücre sayısının oldukça stabil kaldığını belirtmiş olsa da kontrol grubuna dahil edilen kişilerin hasta gruplarıyla uygun yaşta olmasına özen gösterildi.

Grupların cinsiyet dağılımları Kolmogorov-Smirnov çift örnekler testine göre incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamadı ($p > 0.05$). Literatür tarandığında konjonktivanın histolojik özellikleri ve uzun süreli kullanılan antiglokomatöz ilaçların konjonktivaya olan yan etkilerinin herhangi bir cinsiyet ayırımı yaptığı konusunda bir yayına rastlanmamıştır.

Hastaların ortalama ilaç kullanma süreleri incelendiğinde en yüksek ortalama değer pilokarpin + timolol grubunda (ort. : 3.43 ± 1.83 yıl) gözlenirken en düşük değer pilomin grubunda (ort. : 1.83 ± 1.03) bulundu (Tablo 12). Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamsızdı ($p > 0.05$).

Pilokarpin kullanan hastalarda Schirmer I test sonucu $22,16 \pm 8,47$ olup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (ort. : $24,12 \pm 5,36$) fark istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($p > 0.05$). Kontrol ve pilokarpin grupları ile timolol (ort. : $14,36 \pm 4,25$) ve pilokarpin + timolol grupları (ort.: $11,93 \pm 4,81$) karşılaştırıldığında ise aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu görüldü ($p < 0.05$). Timolol ve pilokarpin + timolol grupları ortalama değerleri arasındaki fark ise önemsizdi ($p > 0.05$) (Tablo 10).

Elçioğlu ve ark. (27) 'nın yaptığı bir çalışmada timolol, pilokarpin ve pilokarpin + timolol kullanan hastaların ortalama Schirmer I test sonuçlarını kontrol grubu ile karşılaştırmışlar, pilokarpin grubuyla kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptamadıkları halde timolol ve pilokarpin + timolol gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüş gözlediklerini bildirmişlerdir.

Cvetkeovic ve ark. (21) pilokarpinin Schirmer sonucunu değiştirmediği halde timololün bu değeri kısalttığını bildirmişlerdir.

şahbaz ve ark. (97) da pilokarpin kullananlarda önemli bir fark bulamadıkları halde timolol ve pilokarpin + timolol kullanan grupta Schirmer değerinin azaldığı tespit etmişlerdir.

Berry ve ark. (8) ise hem betaxololün hem de timololün gözyaşı bazal sekresyonuna etkilerinin olmadığını bildirmişlerdir.

Nielsen ve Eriksen (67) timolol damlatıldıktan 5 saat sonra Schirmer I testinin normal olduğunu belirtmişlerdir.

Ober ve ark. (78) 12 ay boyunca timolol ve levobunolol kullanan hastalarda Schirmer I değerlerinde anlamlı bir değişiklik gözlemediklerini bildirmişlerdir.

Başarer ve ark. (7) ortalama 4 ay timolol, pilokarpin + timolol kullanan hastalarda Schirmer I'de kayda değer bir değişiklik olmadığını belirtmişlerdir.

Köroğlu ve ark. (53)' nin yaptıkları çalışmada ortalama 3.66 + 2.29 yıl timolol maleat kullanan hastalarda Schirmer I sonuçlarının kontrol

grubu ile karşılaştırdıklarında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamadıklarını bildirmişlerdir.

Holly (41) sistemik pilokarpinin gözyaşı yapımını arttırdığını ancak toksik etkileri keratokonjonktivitis sikka tedavisinde kullanımını engellediğini bildirmiştir.

Boger (10), Bonomi ve ark. (12) ve Bromberg (11) timololün gözyaşı yapımını azalttığını bildirmişlerdir.

Vareilles ve ark. (108) topikal uygulanmasından sonra timololün lakrimal bezde aktif konsantrasyonlarda bulunduğunu göstermişlerdir. Esas lakrimal sekresyon sempatik sinir sistemi tarafından regüle edildiğinden (112) lakrimal bezin betaadrenerjik agonistlerle aktivasyonu sonucu oluşan gözyaşı yapımının betablokerlerle inhibe edilmesi mantıklı gözükmektedir.

Gözyaşı film tabakası kırılma zamanı (GKZ) değerleri kontrol grubu ile (ort. : 14.22 ± 2.69) karşılaştırıldığında aradaki fark pilokarpin grubu ile istatistiksel olarak önemsizken ($p>0.05$) timolol (ort. : 9.68 ± 3.61) ve pilokarpin + timolol (ort. : 9.43 ± 2.88) grupları ile istatistiksel olarak önemliydi ($p<0.05$) (Tablo 12).

Elçioğlu ve ark. (27) nın yapmış oldukları çalışmada pilokarpin grubunda GKZ değerinin anlamlı ölçüde değişmediği halde timolol maleat ve kombine ilaç tedavisi altındaki grupta anlamlı ölçüde düşüş gözlediklerini bildirmişlerdir. Şahbaz ve ark. (97) da çalışmalarında benzer sonuçları bulmuşlardır.

Körođlu ve ark. (52) yaptıkları çalıřmada timolol maleatın GKZ deęerini dūřurdūđunu bildirmişlerdir.

Holly (41) topikal timololün GKZ'nı kısalttığı ve bunun prezarvan maddeye bağlı olabileceğini bildirmiştir.

Strempez (96) timolol damlatılmasından sonraki 20 dakikada GKZ değerinin %50'ye varan oranda azaldığını tespit etmiştir.

Nielsen ve Eriksen (67) timolol uygulanmasından 5 saat sonra GKZ'da anlamlı bir fark olmadığı bildirmişlerdir.

özyaşı film tabakası fiziksel ve kimyasal komponentlerden oluşan oldukça kompleks bir sistemdir (42). Birçok faktör bu hassas sistemi etkileyip stabiliteyi bozabilir. Normal gözyaşı yapımı ve içeriği en az konjonktival goblet hücre yoğunluğunu, korneal epitel, kapak fonksiyonu ve ıslanma mekanizmaları kadar önemlidir. GKZ aynı zamanda test materyalinden fizyolojik faktörlerden, yüzey gerilimden ve diğer bazı olası faktörlerden de etkilenir (96).

Betablokerlerin gözyaşı film yapımına ve içeriğine olan etkilerinin direkt olarak mı veya membran stabilize etkisine veya diğer bilinmeyen faktörlere mi bağlı olduğu henüz açıklık kazanmamıştır.

Pilokarpin + timolol kullanan hastalarda GKZ'nın önemli derecede azalmasının nedeni timolol komponentinden kaynaklanabilir. GKZ değerinin sadece timolol kullanan gruptan önemli bir farklı olmaması en azından GKZ'a olan etkilerinde pilokarpin ve timololün aditif bir etki göstermediklerini dūřündürmektedir.

Konjonktival goblet hücre yoğunluğunun yapılan çeşitli araştırmalarda lokalizasyona göre farklılık gösterdiği bildirilmiştir (49, 86). Rivas ve ark. (86) normal kişilerde üst santral bulber konjonktivadaki ortalama goblet hücre yoğunluğunun mm^2 de 454 ± 122 olarak bildirmişlerdir. Biz çalışmamızda aynı lokalizasyonda bu değeri kontrol grubu için $418 \pm 71,56$ olarak tespit ettik. Pilocarpin kullanan grupta $288,29 \pm 100,29$, pilocarpin + timolol kullanan grupta ise $263 \pm 88,55$ olarak bulduk (Tablo 13). Grupların LSD yöntemine göre ikişerli karşılaştırdığımızda ise kontrol grubu ile pilocarpin grubu arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmamasına rağmen ($p>0,05$), kontrol ve pilocarpin grubu ile timolol ve pilocarpin + timolol grupları arasındaki fark önemliydi ($p<0,05$). Timolol ve pilocarpin + timolol gruplarını birbirleriyle karşılaştırdığımızda aralarındaki farkın istatistiksel olarak önemsiz olduğunu saptadık ($p>0,05$) (Tablo 19).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında goblet hücre yoğunluğundaki azalma pilocarpin grubu için % 2,88, timolol grubu için %31,11 ve pilocarpin + timolol grubu için ise %37,09 idi.

Kinoshita ve ark. (51) goblet hücre densitesinin oküler yüzeyin sağlığının bir göstergesi olabileceğini ve interpalpebral bulber alanda mm^2 'de 350'nin altında goblet hücre yoğunluğunun oküler yüzey hastalığının göstergesi olduğunu öne sürmüşlerdir. Nelson ve Wright (72) da yaptıkları çalışmada bu görüşü desteklemişlerdir. Ancak Rivas ve ark. (86) oküler yüzey hastalığın göstergesi olarak bu rakamı yüksek olarak değerlendirmişlerdir.

"Musin-defisitli kuru göz" kavramı ilk defa Lemp tarafından ortaya atılmıştır (57). Bu düşünce oküler skatrisyel pemfigoid (OSP), Stevens-Johnson sendromu ve kseroftalmiada goblet hücrelerinin azalmış olmasından

kaynaklanmıştır. Goblet hücrelerinin azalmasının gözyaşı musininin azalmasına neden olduğu, sonuçta gözyaşı film stabilitesinin bozulması ve korneal kuruma olduğu iddia edilmiştir (51). Ancak Dohlman ve ark. (23) OSP ve Stevens-Johnson sendromunda gözlerde yeteri kadar musin bulunduğunu bildirmişlerdir. Daha sonra Kinoshita ve ark.'nın (51) yaptığı bir çalışmada OSP ve radyasyon keratitli vakalarda konjonktival goblet hücrelerinin oldukça azalmış olmasına karşın musin miktarının yeteri kadar bulunduğunu belirtmişlerdir. Yazarlar goblet hücrelerinden başka bir musin kaynağı olabileceğini, bunun da lakrimal bez ve konjonktival nongoblet epitelyal hücreler olabileceğini öne sürmüşlerdir. Farklı kaynaklardan gelen bu musinin kalitatif veya fonksiyonel olarak farklı olduğunu ve goblet hücrelerinden salgılanan musinin fonksiyonunun daha önemli olduğunu vurgulamışlardır. Sonuçta yazarlar primer oküler yüzey hastalıklarda goblet hücre yoğunluğunun gözyaşı musin miktarının belirlenmesinden daha iyi bir gösterge olduğunu bildirmişlerdir.

Gerstenberger (32) uzun süreli pilokarpin kullanım sonucu goblet hücrelerinde azalma tespit ettiklerini bildirmiştir. Biz çalışmamızda pilokarpinin goblet hücre yoğunluğunu değiştirmedini tespit ettik. Bu fark belki de bu grubun ortalama ilaç kullanım süresinin nispeten kısa olmasından kaynaklanabilir.

İrkeç ve ark. (43) ile Alp ve ark. (4) çalışmalarında timolol maleat kullananlarda goblet hücre yoğunluğunun azaldığını tespit etmişlerdir.

Tseng ve ark. (102) konjonktival fleblerdeki patolojik çalışmalar ve tavşanlardaki konjonktival transdifferensiyonun eksperimental çalışmaları sonucu vaskülarizasyon kaybı ve inflamasyonun varlığı ile goblet hücre kaybının korelasyon gösterdiğini saptamışlardır. Substantia proprianın normal vaskülarize

konnektif dokusunun yerini avasküler yoğun fibroz skar dokusu aldığında goblet hücre yoğunluğunun azaldığını veya kaybolduğunu gözlemişlerdir. Eksperimental çalışmalarında goblet hücre differansiyonunun devamlılığının sağlanmasında bir miktarda olsa vaskülarizasyonun rol oynadığını bildirmişler, vaskülarizasyonun azalmasının konjonktiva epitelinin transdifferansiyonunda bir faktör olduğunu belirtmişlerdir. Kan dolaşımında bulunan bazı bilinmeyen faktörlerin goblet hücre differansiyonunun devamlılığında önemli bir rol oynayabileceğini öne sürmüşlerdir. Yazarlar aynı zamanda inflamasyonun da skuamöz metaplaziye doğru konjonktiva epitel transdifferansiyonunu etkileyebileceğini ve goblet hücre differansiyonunu engellediğini bildirmişlerdir.

Kinoshita ve ark. (50) tavşanlardaki konjonktival transdifferansiyon sırasında ve goblet hücre kaybı sırasında yüksek derecede mitotik aktivasyon saptamışlardır. Bu bilgilerin ışığı altında inflamasyonun goblet hücre kaybına neden olan epitelyal hiperproliferasyonu stimule ettiği düşünülebilir. Ancak inflamasyonun halen nasıl goblet hücre sayısını azalttığı detaylı olarak ortaya konulamamıştır.

Alp ve ark. (4) ile Elçioğlu ve ark. (27) impresyon sitolojisi tekniği ile inflamasyon saptamadıklarını bildirmişlerdir. Bizde çalışmamızda inflamasyon tespit edemedik. Elçioğlu ve ark. çalışmalarında goblet hücre yoğunluğundaki azalma ve erken skuamöz metaplazi başlangıcını timolol maleatın farmakolojik betabloker etkisi ile ilgili olduğunu, alfa reseptör hakimiyetinin artması sonucu oluşan vazokonstrüksiyon sonucu dolaşım azalmasına bağlamaktadırlar.

Grupların ortalama gradeleri gözönüne alındığında kontrol grubu (ort. : 0,06 ± 0.25) ile pilokarpın grubu (ort. : 0.08 ± 0.29) arasında

istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadı ($p>0.05$). Ancak timolol grubu (ort. : 0.57 ± 0.84) ve pilokarpin + timolol grubu (ort. : 0.57 ± 0.85) ile kontrol ve pilokarpin grupları arasında önemli bir fark saptandı ($p<0.05$). Timolol ve pilokarpin + timolol grupları birbirleriyle karşılaştırıldığında ise aralarındaki fark istatistiksel olarak önemsizdi ($p>0.05$) (Tablo 22).

Elçioğlu ve ark. (27) skuamöz metaplazi derecelerini normal grupla karşılaştırdıklarında pilokarpin grubunda anlamlı bir fark gözlenmezken timolol ve pilokarpin + timolol grubunda saptamışlardır.

Brandt ve ark. (13) kontrol grubu ile karşılaştırdıklarında uzun süre betabloker, betabloker + pilokarpin ve maksimal tedavi (betabloker + pilokarpin + sempatikomimetik) alan gruplarda skuamöz metaplazi derecesi önemli derecede arttığını bildirmişlerdir. Ancak en fazla artışı maksimal tedavide gözlediklerini belirtmişlerdir ve ilaç sayısı ile sitolojik grade arasında bir ilişki kurmuşlardır. Yazarlar uzun süre antiglokomatöz tedavinin konjonktivayı nasıl etkilediğinin bilinmemesine rağmen ilaçların kendilerinin veya benzalkonyum kloridin etkisi sonucu olabileceğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada betabloker + sempatikomimetik tedavi alan grupta kontrol grubu ile arasında bir fark gözlememişler ve konjonktival değişikliklerin adrenerjik reseptör vasıtasıyla oluşabileceğini öne sürmüşlerdir. Yazarlar bu çalışmalarında ilaç kullanım sürelerini belirtmemişlerdir. Ancak bu çalışma topikal tedavinin yan etkilerinin belirlenmesinde impresyon sitolojisinin kullanılabilirliğini göstermiştir.

Wright (118) topikal antiglokomatöz tedavi sonrası goblet hücre kaybı, epitelyal keratinizasyon, keratohiyalin granül formasyonu, lenfosit ve plazma hücreleri ile subepitelyal infiltrasyon ve bazı vakalarda fibroblast sayısında ve fibrozis derecesinde artış bildirmiştir.

Sherwood ve ark. (91) topikal antiglokomatöz tedavinin konjonktiva sellüler komponentine etkilerini belirlemek amacıyla glokomlu hastalardan filtran cerrahi sırasında biopsi almışlardır. Ortalama 7.7 yıldır multi tedavi alan grup en az iki değişik tip ilaç kullanmaktaymış. Konjonktiva epitelinde goblet hücrelerinde azalma, kist sayısında ve lenfosit, makrofaj sayısında artış gözlemişlerdir. Substantia propria ve Tenon kapsülünde fibroblast, makrofaj, lenfosit ve mast hücrelerinde artma saptamışlardır. Yazarlar fibroblast sayısında ve inflamatuvar hücre sayısında artışın trabekülektomi sonrası blep başarısızlık riskini arttırabileceğini bildirmişlerdir. Ancak bu çalışmada antiglokomatöz ilaçlardan hangilerinin bu etkiye neden olduğu araştırılmamıştır.

Hangi ilacın bu tip değişikliklere neden olduğunu belirlemek amacıyla Smith ve ark. (93) tavşan konjonktivasında antiglokomatöz ilaçları 4 kategoriye ayırarak (timolol, pilokarpin, adrenalin ve 3'ünün kombinasyonu) etkilerini incelemişlerdir. 7 ay boyunca tüm ilaçlar günde 2 kez damlatılmış, öbür göze ise kontrol amacıyla distile su uygulamışlardır. İnflamatuvar hücre, fibroblast ve goblet hücreler değerlendirildiğinde kontrol ve tedavi grupları arasında istatistiksel olarak bir fark saptamadıklarını bildirmişlerdir. Ancak yazarlar tedavi alan göz sayısının az olması (her grup 5 tavşan) ve her gözde hücre sayısında büyük farklılıklar olması nedeniyle bu analizin değerinin kısıtlı olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca Sherwood ve ark.'nın (91) çalışmaları ile karşılaştırıldığında ilaç kullanım sürelerinin oldukça az olduğu görülmektedir (Sherwood'un çalışmasında 7.7 yıl). Ayrıca pilokarpinin sadece günde iki kez damlatılması ve hayvan modellerinin her zaman insanları temsil etmemesi bu çalışmanın sonucunda etkili olmuş olabilir.

Broadway ve ark.'nın (15) yaptığı çalışmada uzun süreli betabloker kullanımının konjonktivanın hücre profiline etkisinin az olmasına karşın pilokarpin ve pilokarpin + betabloker kullanımında epitelde makrofaj, substantia propriada fibroblast, lenfosit ve mast hücre artışına neden olduğunu bildirmişlerdir. Ancak hücre profilindeki en büyük değişikliği üçlü tedavi görenlerde (betabloker+pilokarpin+sempotikomimetrik) gözlemişlerdir. Yazarlar sadece ilacın tipi değil, prezervatif maddenin tipinin, kullanılan ilaç sayısının, kombine tedavilerde karşılıklı etkileşimin, tedavi süresinin, uygulama sıklığının ve ilacın fiziksel özelliklerinin (pH, toksite, konsantrasyon vb.) de reaksiyonda etkili olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Herreras ve ark. (36) ile Steuhl ve ark. (95) uzun süre betabloker kullanımının konjonktival yüzey değişikliklerine neden olduğunu bildirmişlerdir. Bu değişiklikler arasında epitelyal ödem, goblet hücrelerinde azalma, Golgi aparatusunda anormallikler, desmozomlarda kayıp ve mikrovilluslarda azalma belirtilmiştir.

Steuhl ve ark (95) vaskülarizasyon, düz endoplazmik retikulumda genişleme gibi intrasellüler değişikliklerin prezervatif maddeye (benzolkonyum klorid) bağlı olabileceğini öne sürmüşlerdir. Bu etki en fazla betabloker kullananlarda görülmesini betablokerlerin gözyaşı filmine olan etkileriyle prezervatif maddenin sitotoksik etkisinin birleşiminden kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Quaranta ve ark. (84) uzun süre timolol kullanan hastalarda (6-10 yıl) konjonktivada patolojik değişiklikler gözlemediklerini bildirmişlerdir. Ancak sadece 4 hasta 4 kişilik kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Benzer

sonucu Hoffman (39) tavşan gözlerine 1 yıl boyunca timolol uyguladıktan sonra bildirmiştir.

Aynı zamanda goblet hücre sayısında sirkadiyen ritmi gösteren Gerstenberger ve Marquardt (32) pilokarpinin goblet hücre yoğunluğuna etkisini araştırmışlardır. Uzun süre pilokarpinin kullanımının (10 yıla kadar) goblet hücre sayısında artmaya neden olduğunu, bununda goblet hücrelerinin maksimal parasempatikomimetik stimulasyonuna sekonder oluştuğunu bildirmişlerdir. Ancak Ruskell (87) epitelyal goblet hücrelerinin parasempatikomimetik olarak innerve edilmediğini göstermiştir. Gerstenberger ve Marquardt'ın bu çalışması pilokarpinin goblet hücre sayısını azalttığını bildiren diğer çalışmalarla ters düşmektedir, ancak goblet hücre sayısındaki azalmanın pilokarpinden ziyade diğer ilaçlara bağlı olabileceğini gösterebilir.

Steuhl ve ark. (95) pilokarpinin konjonktival hücre differansiyonuna minimal etkisi olduğunu bildirmiştir. Biz de çalışmamızda pilokarpinin konjonktiva sitolojisini kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, önemsiz derecede etkilediğini saptadık.

Broadway ve ark. (15) yüzey değişikliklerin bleb başarısızlığına veya trabekülektomi sonrası şantın kapanmasına etkileri olmadığı halde bu konuda daha önemli olan subepitelyal değişikliklerin bir göstergesi olabileceğini bildirmişlerdir.

Takahaski (98, 99) insan konjonktiva hücre kültüründe antiglokomatöz ilaçları ve prezarvan maddelerin etkilerini araştırmıştır. % 0.005 konsantrasyonunun üstünde benzalkonyum kloridi toksik olarak bulmuşken, preservatif madde içermeyen % 1'lik pilokarpinin ve % 0.50'lik timololün toksik

olmadığını bildirmiştir. Hastalarımızın kullandıkları preparatlar içerisinde prezervan madde olarak bulunan benzolkonyum klorid % 0.01 konsantrasyonundaydı.

Williams ve ark. (113) benzolkonyum klorid ve betablokerlerin insan Tenon kapsül fibroblast kültürü üzerindeki etkilerini araştırmışlar, hiç bir maddenin fibroblast proliferasyonunu stimule etmediği gibi klinikte kullanılan dozlarda irreversibl toksik olduğunu bildirmişlerdir. Prezervan madde içermeyen timololün prezervan içeren timololden daha az toksik olduğunu saptamışlardır. Bu çalışma antiğlokomatöz ilaçların fibroblast büyümesini direkt olarak stimüle ettiği hipotezini desteklememekte, topikal tedavinin doku irritasyonu ve düşük derecede kronik inflamasyona neden olarak indirekt fibroblast stimulasyonuna neden olduğu görüşünü haklı çıkarmaktadır.

SONUÇ

Uzun süre pilokarpin kullanan hasta grubunda Schirmer I, BUT, goblet hücre yoğunluğu ve skuamatöz metaplazi değerleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli ölçüde değişmediği görülmüştür. Buna karşın timolol ve pilokarpin + timolol grubunda bu değerlerde önemli miktarda değişiklik saptanmıştır. Pilokarpinin konjonktivaya olan yan etkileri açısından timolol veya kombine tedaviye nazaran daha güvenli olduğunu söyleyebiliriz.

Topikal antiglokomatöz ilaçların konjonktivada yaptığı değişikliklerin mekanizması halen netlik kazanmamıştır. Kendileri ya da içerdikleri prezervan maddeler aracılığı ile veya farmakolojik etkileri ile konjonktivada vaskülarizasyonda azalma ve kronik bir inflamasyon yaptıkları, bunun sonucu da goblet hücre yoğunluğunda azalma ve skuamöz metaplazi sürecinin başlaması akla yatkın gözükmektedir.

Oluşan subepitelyal değişikliklerin filtran cerrahi sonucuna olumsuz yönde etkilediğini ve filtran cerrahisinin erken uygulamasının yararlı olacağı iddia edilmektedir. Epitelyal değişikliklerin kendi başlarına bu konuda önemli bir etkilerinin olmamasına karşın subepitelyal değişikliklerin iyi bir göstergesi olması, basit, ağrısız ve noninvaziv bir yöntem olan impresyon sitolojisini topikal antiglokomatöz tedavi alan hastalarda değerli bir tanı yöntemi olarak karşımıza çıkarmaktadır.

Hastalara belli aralıklarla gözyaşı fonksiyon testlerinin ve konjonktiva impresyon sitolojisinin uygulanması meydana gelebilecek konjonktival değişikliklerin erken dönemde saptanmasında yararlı olacağı inancındayız.

ÖZET

Bu çalışmada uzun süreli topikal antiglokomatöz ilaç kullanan hastalarda gözyaşı fonksiyon testlerinin özellikleri ve impresyon sitolojisi tekniği ile konjonktiva sitolojisi incelenmiştir. En az 1 yıl timolol ve/veya pilokarpin kullanan toplam 32 hastanın 54 gözü gruplara ayrılarak Schirmer, gözyaşı kırılma zamanı (GKZ) testi ve konjonktiva sitolojik baskısı uygulandı. Sitolojik örneklerde goblet hücre sayımı yapıldı ve epitel hücre morfolojisi derecelendirildi. Elde edilen veriler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında uzun süre pilokarpin kullanımının gözyaşı fonksiyon testleri üzerine, goblet hücre yoğunluğuna ve epitel morfolojisine herhangi bir etkisi saptanmazken, timolol ve kombine ilaç kullanımının gözyaşı fonksiyon testlerinde ve goblet hücre yoğunluğunda önemli derecede azalmaya ve skuamöz metaplaziye neden olduğu görüldü.

SUMMARY

In this study the effects of long-term topically antiglaucoma medications on the lacrymal function tests and cytology of conjunctiva were evaluated. The technique of conjunctival impression cytology was used to evaluate the conjunctival changes. Total 54 eyes of the 32 patients were divided to three groups and Schirmer's test and tear film break up time (BUT) were performed. While no statistically significant difference was found between the Schirmer's, BUT tests results and the goblet cell density of the pilocarpine group and the control group, these parameters was significantly less in the timolol and combine treatment groups with the significantly degrees of conjunctival metaplasia than control group's.

KAYNAKLAR

1-Adam, A.D. : The morphology of the human conjunctival mucus. Arch. Ophthalmol. 97 : 730-4, 1979.

2-Adams, G.G.W., Dilly, P.N., Kirkness, C.M. : Monitoring ocular disease by impression cytology. Eye, 2 : 506-516, 1988.

3-Allen, C.R. : Medical management of glaucoma in Principles and Practice of Ophthalmology. Ed: Albert, D.M., Jakobiec, F.A. Vol : 3, Chap. 138, p. 1569-88 W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1994.

4-Alp, B., Memiş, L., İrkeç, M., Aktim, Y., Ulusoy, S. : Betaadrenerjik reseptör blokerlerin konjonktiva mukus sekretörleri üzerine etkilerinin değerlendirilmesi, I. Glokom Sempozyumu, Konya, 1987.

5-Amedee-Manesme, O., Luzeau, R., Wittpen, J., Hanck, A., Sommer, A. : Impression cytology defects subclinical vitamin A deficiency. Am. J. Clin. Nutr. 47 : 875, 1988.

6-Arffa, R.C. : Diseases of the Cornea, 3rd Ed. Mosby Year Book, St. Louis, p: 7, 1991.

7-Başarer, T., Oğuz, V., Çiçekdağı, M., Firuzmend, F. : Timolol maleatın gözyaşı sekresyonu üzerine olan etkisinin araştırılması. T.O.G. 17 : 407-411, 1987.

8-Berry, D.P., Van Buskirk, E.M., Shields, M.B. : Betaxalol and timolol. Comparison of efficacy and side effects Arch. Ophthalmol. 102 : 42-5, 1984.

9-Berson, F.G., Epstein, D.L. : Seperate and combined effects of timolol maleate and acetazolamide in open angle glaucoma. Am. J. Ophthalmol. 92 : 788-791, 1981

10-Boger, W.P., Puliafito, C.A., Steinert, R.F., Langston, E.P. : Longterm experience with timolol ophthalmic solution in patients with open-angle glaucoma. Ophthalmology. 85 : 259-267, 1978.

11-Bromberg, B.B. : Autonomic control of lachrymal protein secretion. Invest. Ophthalm. Vis. Sci. 20 : 110-116, 1981

12-Bonomi, L., Zavarise, G., Noya, E., Michieletto, S. : Effects of timolol maleate on tear flow in human eyes. Graefes Arch. Ophthal. 213 : 19-22, 1980.

13-Brandt, J.D., Wittpenn, J.R., Katz, L.J., Steinmann, W.N., Spaeth, G.L. : Conjunctival impression cytology in patients with long-term topical medication. Am. J. Ophthalmol. 112 : 297-301, 1991.

14-Broadway, D., Gierson, I., Hitchings, R. : Adverse effects of topical antiglaucomatous medications on the conjunctiva. Br. J. Ophthalmol. 77 : 590-6, 1993.

15-Broadway, D., Grierson, I., O'Brien, C., Hitchings, R. : The effect of topical antiglaucoma medication on the conjunctival cell profile and the results of the trabeculectomy. *Invest. Ophthalmol. Vis.Sci.* 34 : 724, 1993.

16-Brown, S.I., Dervichian, D.G. : The oils of the meibomian glands : Physical and surface characteristics *Arch. Ophthalmol.* 82 : 537, 1969.

17-Bucci, M.G., Missiroli, A., Pecori Giraldi, J., et al : La somministrazione locale del propranolol nella terapia del glaucoma. *Boll. Ocul.* 47 : 51-60, 1968.

18-Burnstine, R.A., Felton, J.L., Ginther, W.H. : Cardiorespiratory reaction to timolol maleate in pediatric patient : A case report. *Ann Ophthalmol.* 14 : 905, 1982.

19-Coakes, R.L., Mackie, I.A., Seal, D.V. : Effects of long-term treatment with timolol on lacrimal gland function. *Br. J. Ophthalmol.* 65 : 603-605, 1981.

20-Coleman, A.L., Diehl, D.L.C., Jampel, H.D., et al : Topical timolol decreased plasma high density lipoprotein cholesterol level. *Arch. Ophthalmol.* 108 : 1260, 1990.

21-Cvetkovic, D., Parunovic, A., Kontic, D.J. : Konjunktivale veränderungen beider lokalen langjährigen medikamentösen therapie des glaukoms, *Fortschr Ophthalmol.* 83 : 407-9, 1986.

22-Derous, D., de Keizer, R.J., de Wolff-Rovendeal, D., Soudijn, W. :
Conjunctival keratinization. An abnormal reaction to an ocular betabloker.
Acta. Ophthalmol (Copenh.), 67 : 333, 1989.

23-Dohlman, C.H., Friend, J., Kalevar, V., et al : The glycoprotein (mucus)
content of tears from normals and dry eye patients. Exp. Eye Res. 22 : 359-365,
1976.

24-Draeger, J. : Corneal sensitivity; measurement and clinical importance.
Springer-Verlag, Newyork, 1984.

25-Duzman, E., Rosen, N., Lazor, M : Diacetyl-nadolol : 3 month ocular
hypotensive effect in glaucomatous eyes. Br. J. Ophthalmol. 67 : 668-673,
1983.

26-Egbert, P.R., Lauber, M.A. Maurice, D.M. : A simple conjunctival biopsy.
Am. J. Ophthalmol. 84 : 798-801, 1977.

27-Elçioğlu, M., Güzüm, N., Urgancıoğlu, M., Türker, G. ve ark : Pilocarpin
ve/veya timolol maleat kullanan hastalarda konjonktiva sitolojisinin ve gözyaşı
fonksiyon testlerinin özellikleri : T.O.D. 23. Ulusal Kongresi Bülteni I; Adana,
S. 324-326, 1989.

28-Fiore, P.M., Jacobs, I.H., Goldberg, D.B. : Drug induced pemphigoid : a
spectrum of diseases. Arch. Ophthalmol. 105 : 1660-3, 1987.

29-Fraunfelder, F.T. : Interim report : National registry of possible drug-induced ocular side effects. *Ophthalmology*. 87 : 87, 1980.

30-Fraunfelder, F.T., Meyer, S.M. : Drug induced ocular side effects and drug interactions. Philadelphia : Lea & Febiger, p : 395 - 7, 1982.

31-Fraunfelder, F.T., Meyer, S.M., Menacker, S.J. : Alopecia possibly secondary to topical ophthalmic betablocker. *JAMA*, 263 : 1493, 1990.

32-Gerstenberger, A., Marquardt, R. : Die becherzelldicke unter pilocarpineinfluß (The density of goblet cells modified by pilocarpine). *Fortschr. Ophthalmol.* 83 : 46, 1986.

33-Götz, M.L., Jaeger, W., Kruse, F.E. : Die impressionszytologie als nicht invasive methode der binderhaut-biopsie and ihre ergebnisse. *Klin. Mbl. Augenheilk.* 188 : 23 - 28, 1986.

34-Guzman, C.A. : Exacerbation of bronchorrhea induced by topical timolol (letter). *Am. Rev. Respir. Dis.* 121 : 899, 1980.

35-Hart, W.M. : The epidemiology of primary open angle glaucoma and ocular hypertension. *The Glaucomas*, Ed : Ritch, R., Shields, M.B., Krupin, T. C.V. Mosby Comp. St. Louis, p. 789-794, 1989.

36-Herrerias, J.M., Pastor, J.C., Calonge, M., Asensio, V.M. : Ocular surface alteration after longterm treatment with an antiglaucomatous drug. *Ophthalmology*. 99 : 1082-8, 1992.

37-Hershenfeld, S., Kazdan, J., Mancer, K., Feugas, P., Basu, P., Avaria, M. : Impression cytology in conjunctivitis. *Can. J. Ophthalmol.* 16 : 76, 1981.

38-Hoffer, K.J. : Pemphigoid related to epinephrine treatment (letter) *Am. J. Ophthalmol.* 83 : 601, 1977.

39-Hoffman, J.P. : Timoptic product information summary. West Point, P.A. : Mercier Sharp and Dohme 7 : 1978.

40-Holly, F.J. : Formation and rupture of the tear film in the eye. *Exp. Eye Res.* 15 : 515-525, 1973.

41-Holly, F.J. : Diagnostic methods and treatment modalities of dry eye conditions. *Int. Ophthalmol.* 17 : 113-125, 1993.

42-Holly, F.J., Lemp, M.A. : Wettability and wetting of corneal epithelium. *Exp. Eye Res.* 11 : 239-250, 1971.

43-İrkeç, M., Saatçi, O., Alp, B., Memiş, L. : Betabloker kullanımına bağlı konjonktiva değişiklikleri ve oküler pemfigoidin histopatolojik olarak incelenmesi. 22. Ulusal Kongre Bülteni, Konya, 1988.

44-Johnson, D.H., Kenyon, K.R., Epstein, D.L., Van Buskirk, E.M. : Corneal changes during pilocarpine gel therapy. *Am. J. Ophthalmol.* 101 : 13, 1986.

45-Jones, F.L., Jr., Ekberg, N.L. : Exacerbation of asthma by timolol. *N. Engl. J. Med.* 301 : 270, 1979.

46-Kaufman, P. L., Barany, E.H. : Loss of acute pilocarpine effect on outflow facility following surgical disinsertion and retrodisplacement of the ciliary muscle from the scleral spur in the cynomolgus monkey. *Invest. Ophthalmol* 15 : 793, 1976.

47-Kaufman, P.L., Barany, E.H. : Residual pilocarpine effects on outflow facility after ciliary muscle disinsertion in the cynomolgus monkey. *Invest. Ophthalmol.* 15 : 558, 1976.

48-Keenum, D.G., Semba, R.D., Wirasasmita, S., Natadisastra, G., Muhilal, A., West, K.P., Sommer, A. : Assessment of vitamin A status by a disk applicator for conjunctival impression cytology. *Arch. Ophthalmol.* 108 : 1436, 1990.

49-Kessing, S.V. : Mucous gland system of the conjunctiva : A quantitative normal anatomic study. *Acta. Ophthalmol.* 46 : 9-131, 1968.

50-Kinoshita, S., Friend, J., Thoft, R.A. : Biphasic cell proliferation in transdifferentiation of conjunctival to corneal epithelium in rabbits. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 24 : 1008-14, 1983.

51-Kinoshita, S., Kiorpes, T.C., Friend, J., Thoft, R.A. : Goblet cell density in ocular surface disease. A better indicator than tear musin. Arch. Ophtalmol. 101 : 1284-87, 1983.

52-Kosman, M.E. : Timolol in the treatment of open angle glaucoma. JAMA, 241; 2301, 1979.

53-Köroğlu, F., Koças, M., Ortaç, R., Çakmaklı, Z. : Timolol maleatın konjunktiva sitolojisi ve gözyaşı fonksiyonları üzerine etkisi. Türkiye Klinikleri. Oftalmojoi, Makula özel sayısı, Cilt 1, 4 : 336-338, 1992.

54-Kristensen, E.B., Norn, M.S. : Benign mucous membrane pemphigoid. Secretion of mucus and tears. Acta Ophthalmol. 52 : 266-81, 1974.

55-Kruse, F.E., Jaeger, W., Götz, M.L., Schmitz, W. : Conjunctival morphology in Sjogren's syndrome and other disorders of the anterior eye. A light and electron microscopic study based on impression cytology. Scand J. Rheumatol, Suppl 61 : 206, 214, 1986.

56-Lawrsen, S.O., Bjerrum, P : Timolol eyedrop-induced severe bronchospasm. Acta Med Scand. 211 : 505, 1982.

57-Lemp, M.A. : The mucin-deficient dry eye, in Holly, F.J., Lemp, M.A. (eds): The preocular tear film and dry eye syndrome : International Ophthalmology Clinics. Boston, Little Brown & Co, Vol : 13 pp : 185-189, 1973.

58-Lemp, M.A., Hamill, J.R. : Factors affecting tearfilm break-up in normal eyes. *Arch Ophthalmol.* 89 : 103-105, 1973.

59-Levobunolol Study Group : Levobunolol : A beta-adrenoceptor antagonist effective in the long-term treatment of glaucoma. *Ophthalmology.* 92 : 1271-1276, 1985.

60-Liesegang, T.J. : Bulbar conjunctival follicles associated with dipivefrin therapy. *Ophthalmology.* 92 : 228, 1985.

61-Maskin, S., Bode, D. : Electron microscopy of impression acquired conjunctival epithelial cells. *Ophthalmology.* 93-1518, 1986.

62-Mc Mahon, C.D, Shaffer, R.N., Hoskins, H.D. Jr., Hetherington, J, Jr. : Adverse effects experienced by patients taking timolol. *Am. J. Ophthalmol.* 88 : 736, 1979.

63-Mengher, L.S., Bron, A.J., Tange, S.R., Gilbert, D.Y. : Effect of fluorescein instillation on the precorneal tear film stability. *Curr. Eye Res.* 4 : 9-12, 1985.

64-Merte, H.J., Merkle, W. : Propranolol-Augentropfen in der Glaukom-Dauertherapie. *Klin Monatsbl Augenheilkd.* 177 : 437-442, 1980.

65-Mindel, J.S, Khurlamb, A.B. : Alternation of acetyl-choline synthesis by pilocarpine. *Arch. Oph.* 102 : 1546, 1984.

66-Minitab : Statistical software, Release 8.2, 1991.

67-Nelson, J.D., Wright, J.S. : Timolol and Metoprolol-Glaucoma : a comparison of the ocular hypotensive effect, local and systemic tolerance. *Acta Ophthalmologica*. 59 : 336-346, 1981.

68-Nelson, J. D. : Ocular surface impression cytology using cellulose acetate filter material. *Ocular pemphigoid*. *Surv. Ophthalmol.* 27 : 67-69, 1982.

69-Nelson, J.D. : Impression cytology. *Cornea* 7 : 71, 1988.

70-Nelson, J., Farris, R. : Sodium hyaluronate and polyvinyl alcohol artificial tear preparations. A comparison in patients with keratoconjunctivitis sicca. *Arch. Ophthalmol.* 106 : 484, 1988.

71-Nelson, J.D., Havaner, V.R., Cameron, J.D. : Cellulose acetate impressions of the ocular surface. *Dry Eye states*. *Arch. Ophthalmol.* 101 : 1868-72, 1983.

72-Nelson, J.D., Wright, J.C. : Conjunctival goblet cell densities in ocular surface disease. *Arch. Ophthalmol.* 102 : 1049, 1984.

73-Nelson, W.L., Fraunfelder, F.T., Sills, J.M., et al : Adverse respiratory and cardiovascular events attributed to timolol ophthalmic solution, 1978-1985. *Am. J. Ophthalmol.* 102 : 606, 1986.

74-Norn, M.S. : Dessication of the precorneal film. Corneal wetting time. *Acta Ophthalmol.* 47 : 865-880, 1969.

75-Norn, M.S. : *External Eye Methods of Examination.* Copenhagen : Scriptor 153, 1983.

76-Novack, G.D. : Ophthalmic Beta-blockers since timolol. *Survey of Ophthalmology.* Vol : 31 307-27, 1987.

77-Noyes, J.H, Chervinsky, P. : Case report : Exacerbation of asthma by timolol. *Ann. Allergy.* 45 : 301, 1980.

78-Ober, M., Scharrer, A., David, R. and et al : Long-term ocular hypotensive effect of levabunolol : results of a one year study. *Br. J. Ophthalmol.* 69 : 593-9, 1985.

79-Olson, R.J., Bromberh, B.B., Zimmerman, T.J. : Apneic spells associated with timolol therapy in a neonate. *Am. J. Ophthalmol.* 88 : 120, 1979.

80-Pastor, S.A., Shuster, A.R., Miller, M.M., Lam, K.W. : Use of impression cytology to demonstrate a retrovirus in AIDS patients with cytomegalovirus retinitis. *Cornea.* 10 (6) : 511-515, 1991.

81-Pattern, J.T., Cavanagh, H.D., Allansmith, M.R. : Induced ocular pseudopemphigoid *Am J Ophthalmol.* 82 : 272-6, 1976.

82-Phillips C.I. Howitt, G. Rowlands, D.J. : Propranolol as ocular hypotensive agent. *Br. J. Ophthalmol.* 51 : 222, 1967.

83-Pouliquen, Y., Patey, A., Foster, C.S., Goichot, I., Savodelli, M. : Drug-induced cicatricial pemphigoid affecting the conjunctiva : light and electron microscopic features. *Ophthalmology.* 93 : 775-83, 1986.

84-Quaranta, C.A., Russo, I., Rossi, B.P. et al : Osservazioni ultra strutturali sugli ipotetici danni conjuntivali da farmaci beta-bloccanti. *Bollettino di Oculistica.* 67 : 345-51, 1988.

85-Records, R. : The tear film. In Duane, T. and Jaeger, E. editors : *Clinical ophthalmology.* Vol : 4. Philadelphia, Harper & BW, 1988.

86-Rivas, L, Oroza, M.A., Perez-Esteban, A. : Murube-del-castillo, J. : Topographical distribution of ocular surface cells by the use of impression cytology. *Acta. Ophthalmol. Copenh.* 69 : 371-6, 1991.

87-Ruskell, G.L. : Innervation of the conjunctiva. *Trans Ophthalmol. Soc. VK.* 104 : 390-5, 1985.

88-Schenker, H.W, Yablonski, M.E, Podos, S.M. et al : Fluorophotometric study of epinephrine and timolol in human subjects. *Arch. Ophthalmol.* 99 : 1212-1226, 1981.

89-Schirmer, O. : Studien zur Physiologie und Pathologie der Tranenabsonderung und Tranenabfuhr. Graefes Arch. Ophthalmol. 56 : 197-291, 1903.

90-Schwab, I.R., Linberg, J.V. Gioia, V.M. et al : Foreshortening of the inferior conjunctival fornix associated with chronic glaucoma medications. Ophthalmology. 99 : 197-202, 1992.

91-Scherwood, M.B., Grierson, I., Millar, L., Hitchings, R.A. : Longterm morphologic effects of antiglaucoma drugs on the conjunctiva and Tenon's capsule in glaucomatous patients. Ophthalmology. 96 : 327-335, 1989.

92-Shields, M.B. : Cholinergic Stimulators. Textbook of Glaucoma 3rd ed. Williams R, Wilkins, Baltimore. p. 446-461, 1992.

93-Smith, D.L., Skuta, G.L., Kincaid, M.C., Rabbani, R. et al : The effects of glaucoma drugs on the conjunctiva and Tenon's capsule in glaucomatous patients. Ophthalmic Surgery. 22 : 336-40, 1991.

94-Sonntag, J.R., Brindley, G.O, Shields, M.B.: Effect of timolol therapy on outflow facility. Invest. Ophthalmol Vis. Sci. 17:293-296, 1978.

95-Steuhl, K.P., Knorr, M., Frohn, A., Thiel, H.J. : Über den einfluss antiglaukomatöser Augentropfen auf die Zelldifferenzierung der Konjunktiva. Fortschr. Ophthalmol. 88 : 865-9, 1991.

96-Strempel, I. : The influence of topical β - blockers on the break up time. *Ophthalmologica*. 189: 110-115, 1984.

97-Şahbaz, İ., Taşın,E., Gülecek,O., Özertürk, Y., Öрге,Y. : Pilocarpin ve timolol maleat kullanan hastalarda gözyaşı film tabakası değişiklikleri. 22. Ulusal Kongre Bülteni, Konya, S: 92-5, 1988.

98-Takahashi, N. : Cytotoxic effects of antiglaucoma agents on cultured human conjunctival cells. *Acta.Soc.Ophthalmol. Jpn.* 85: 1046, 1981.

99-Takahashi, N. : Cytotoxicity of preservatives on cultured human conjunctival cells. *Acta. Soc. Ophthalmol. Jpn.* 84 : 1171 -6, 1980.

100-Theodore, F.H.: Drug sensitivities and irritations of the conjunctiva. *JAMA*, 151:25-30,1953.

101-Tseng, S. : Staging of conjunctival squamous metaplasia by impression cytology. *Ophthalmology*. 92: 728, 1985.

102-Tseng, S.C.G., Hirst, L.W., et al : Possible mechanisms for the loss of goblet cells in mucin-deficient disorders. *Ophthalmology*. 91: 545-52, 1984.

103-Tseng, S.C.G., Maumenca, A.E., et al: Topical retinoid treatment for various dry-eye disorders. *Ophthalmology*. 92 : 717-727, 1985.

104-Üstündağ, C., Pazarlı,H., Kaner,G., Bahçecioğlu, H., Pazarlı, Z.: Superior limbik keratokonjonktivitte impresyon sitolojisi. *TOD*. 23. Ulusal kongresi Bülteni I. Adana, s.327-9, 1989.

105-Van Buskirk, E.M.: Adverse reactions from timolol administration. *Ophthalmology*. 87 : 447-450,1980.

106- Van Buskirk, E.M.: Corneal anesthesia after timolol maleate therapy. Am.J.Ophthalmol. 88: 739-743, 1979.

107- Van Joost, T.H., Hump, J.M., Ros, F.E. : Dermatitis as a side effect of long-term topical treatment with certain beta-blocking agents. Br.J.Dermatol. 101: 171 - 176, 1979.

108- Vareilles, P., Schitt, C., Lotti, V.J., Le Davarec, J.C. : Etude experimentelle du timolol: un nouvel hypotenseur oculaire. J.fr. Ophthalmol. 1: 717-721, 1978.

109- Varga, M., Follmann, P.: Feinstrukturelle untersuchungen der bindehautoberfläche nach langzeit behandlung mit timolol (Ultrastructural studies of the conjunctival surface following longterm treatment with timolol). Fortschr.Ophthalmol. 83: 155, 1986.

110- Virchow, H.: Handbuch der Augenheilkunde, ed. 2. Leipzig, W. Engelmann, Vol:1 p.431, 1910.

111- Vision Research , A national plan. Report of the National Advisory Eye Council, Vol. 1, pp 12-13, 1983.

112- Whitnell, J: Role of the sympathetic in lacrimal secretion . Br. J. Ophthal. 45: 439, 1961.

113- Williams, A., Nguyen, K.D., Shapourifar-Tehrani, S., Kitada, S., Lee D.A.: Effects of timolol, betaxolol and levobunolol on human Tenon's fibroblasts in tissue culture. Invest. Ophthalmol. Vis.Sci. 33: 2233-41, 1992.

114- Wilson, F.M.: Adverse external ocular effects of topical ophthalmic medications. Surv. Ophthalmol. 24: 57 - 88, 1979.

115-Wilson, R.P., Spaeth, G.L., Poryzees,E.: The place of timolol in the practice of ophthalmology. *Ophthalmology*. 87: 451, 1980.

116-Wittpenn, J. Tseng,S., Sommer,A.: Detection of early xerophthalmia by impression cytology. *Arch. Ophthalmol*. 104 : 237 , 1986.

117-Wright, P. : Cicatrizing conjunctivitis, *Trans Ophthalmol. Soc. UK*. 105: 1-17, 1986.

118-Wright, P.: Squamous metaplasia or epidermalization of the conjunctiva as an adverse reaction to topical medication. *Trans Ophthalmol. Soc.UK*. 99 : 244-6, 1979 .

119-Wright, P. : Untoward effects associated with practolol administration: oculomucocutaneous syndrome. *BMJ*.1: 595 -8, 1975.

120-Yablonski, M.E., Zimmerman, T.J., Waltman, S.R., Becker, B. : A fluorophotometric study of the effect of topical timolol on aqueous humor dynamics.*Exp. Eye Res*. 27: 135 -142, 1980.