

Intravitreal ve İntrakameral Asetilkolin ve Karbakol'ün Göz İçi Dokulara Etkisi

The Effects of Intravitreal and Intracameral Acetylcholine and Carbachol on Intraocular Tissues

Haydar ERDOĞAN¹, M. Kemal ARICI², Sema ARICI³, M. İlker TOKER¹, Ayşen TOPALKARA²

ÖZ

Amaç: İntraoküler asetilkolin ve karbakol'ün göz içi dokulara toksik etkisini histopatolojik olarak değerlendirmek.

Gereç ve Yöntem: Her grupta 8 rat olacak şekilde, 48 dişi albino rat randomize olarak 6 gruba ayrıldı. Birinci gruba intravitreal %1 asetilkolin, 2. gruba ön kameraya %1 asetilkolin, 3. gruba intravitreal %0.01 karbakol, 4. gruba ön kameraya %0.01 karbakol, 5. gruba intravitreal dengeli tuz solüsyonu ve 6. gruba ön kameraya dengeli tuz solüsyonu verildi. Enjeksiyondan 1., 3., 7. ve 14. gün sonra sırasıyla her gruptan ikişer rat randomize olarak seçilip gözler enükle edildi ve histopatolojik değerlendirme için kesitler hazırlandı. Ayrıca ön kameraya solüsyon verilen ratların kornea kalınlık ölçümleri yapıldı.

Bulgular: Altı grubun da makroskopik ve mikroskopik bulguları benzer olup, mikroskopik olarak inflamatuvar hücre reaksiyonu ve nekroz tespit edilmedi. Korneal kalınlık asetilkolin, karbakol ve çalışma grubunda sırasıyla ortalama $218.75 \pm 27.61 \mu\text{m}$, $208.75 \pm 25.37 \mu\text{m}$ ve $196.88 \pm 14.87 \mu\text{m}$ olarak tespit edildi ve gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$).

Sonuç: Vitreus ve ön kameraya verilen %1 asetilkolin ve %0.01 karbakol'ün göz içi dokulara toksik etkisinin olmadığı görüldü.

Anahtar Kelimeler: Asetilkolin, karbakol, göz içi dokular, korneal kalınlık, korneal endotel.b

ABSTRACT

Purpose: To evaluate toxic effect of intraocular acetylcholine and carbachol in intraocular tissues histopathologically.

Materials and Methods: Totally 48 female albino rats divided into 6 groups. First group was given intravitreal 1% acetylcholine, second group was given 1% acetylcholine in anterior chamber, third group was given intravitreal 0.01% carbachol, fourth group was given 0.01% carbachol in anterior chamber, fifth group was given intravitreal balanced salt solution and sixth group was given balanced salt solution in anterior chamber. Two rats from each groups were selected randomly and enucleated after 1., 3., 7. and 14. days from the injections. Histopathologic evaluations were made and, corneal thickness measurements were made to the groups with anterior chamber injection.

Results: Macroscopic and microscopic findings of all groups same, and inflammatory cell reaction and necrosis were not detected microscopically. Corneal thickness of acetylcholine, carbachol and control groups were $218.75 \pm 27.61 \mu\text{m}$, $208.75 \pm 25.37 \mu\text{m}$ and $196.88 \pm 14.87 \mu\text{m}$ respectively and there were no statistically difference between the groups ($p > 0.05$).

Conclusion: It is seen that there were no toxic effects of 1% acetylcholine and 0.01% carbachol on intraocular tissues.

Key Words: Acetylcholine, carbachol, intraocular tissues, corneal thickness, corneal endothelium.

Ret-Vit 2006;14:23-26

Geliş Tarihi : 15/07/2005

Kabul Tarihi : 24/08/2005

Received : July 15, 2005

Accepted: August 24, 2005

- 1- Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fak. Göz ABD, Sivas, Yrd. Doç. Dr.
- 2- Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fak. Göz ABD, Sivas, Doç. Dr.
- 3- Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fak. Patoloji ABD, Sivas, Doç. Dr.

- 1- M.D. Associate Professor, Department of Ophthalmology, Cumhuriyet University, School of Medicine, Sivas/TURKEY
ERDOĞAN H., herdogan@cumhuriyet.edu.tr
TOKER M. İ.,
- 2- M.D. Associate Professor, Department of Ophthalmology, Cumhuriyet University, School of Medicine, Sivas/TURKEY
ARICI M.K., mkarici@cumhuriyet.edu.tr
TOPALKARA A., atopalkara@cumhuriyet.edu.tr
- 3- M.D. Associate Professor, Department of Pathology, Cumhuriyet University, School of Medicine,
ARICI S., sarici@cumhuriyet.edu.tr

Correspondence: M.D. Associate Professor, Haydar ERDOĞAN
Department of Ophthalmology, Cumhuriyet University, School of Medicine,
Sivas/TURKEY

GİRİŞ

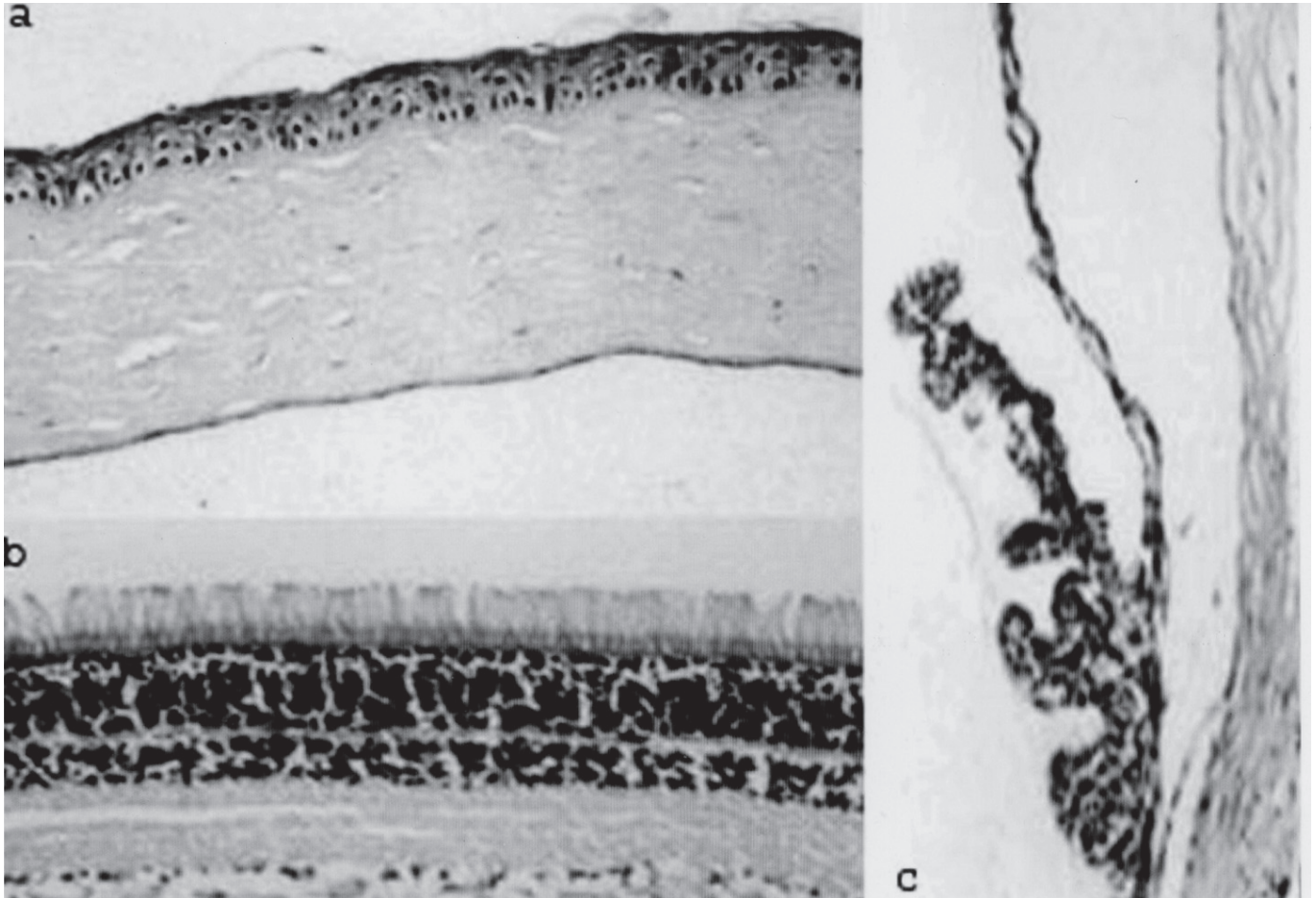
Asetilkolin ve karbakol direkt etkili muskarinik reseptör agonistleridir^{1,2}. Asetilkolin kolinerjik nörotransmitter olup gözde postgangliyonik parasempatik sinir liflerinde bulunur. Muskarinik agonistler göze uygulandıklarında iris sfinkter kasında kontraksiyon sonucu myozise ve siliyer kaslarda kontraksiyona neden olurlar. Bunun sonucu skleral mahmuzu çekerek trabeküler ağ alanında genişlemeyi sağlayarak aköz humörün gözden atılımını artırırlar³⁻⁵. Asetilkolin ve karbakol bazen katarakt cerrahisi sırasında miyozis sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. Bu nedenle, ön kameraya ve vitreus içine verilen %1 asetilkolin ve %0.01 karbakolün göz içi dokulara ve korneaya etkisini histopatolojik olarak değerlendirmek amacıyla bu çalışma planlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma kapsamına, hayvan hakları korunarak, 250-300 gr ağırlığında, dişi 48 albino rat alındı. Ratlar her bir grupta 8 rat olacak şekilde randomize olarak 6 gruba ayrıldı. İntramusküler ketamin HCl (90 mg/kg) ve xylazine (3 mg/kg) ile anestezi sağlandı. Birinci gruba 26 gauge insülin iğnesi kullanarak limbustan 2 mm geride olacak şekilde intravitreal %1 asetilkolin, 2. gruba ön kameraya %1 asetilkolin (Miochol, Novartis, Hettlingen,

Switzerland), 3. gruba intravitreal %0.01 karbakol (Mio-stat, Alcon Lab, Forth Worth, Texas, USA), 4. gruba ön kameraya %0.01 karbakol, 5. gruba intravitreal dengeli tuz solüsyonu (BSS, Alcon, Forth Worth, Texas, USA) ve 6. gruba ön kameraya dengeli tuz solüsyonu verildi. Son iki grup (5. ve 6.) kontrol grubu olarak alındı. Bütün gruplarda enjeksiyonlar sadece sağ göze yapıldı. İntravitreal solüsyon miktarı 0.05 ml, ön kameraya verilen solüsyon miktarı ise 0.02 ml olarak ayarlandı. Enjeksiyondan 1., 3., 7. ve 14. günden sonra sırasıyla her gruptan ikişer rat alınarak gözle enükleasyon uygulandı ve formolde tespit edildikten sonra, optik sinir boyunca ve enjeksiyon yapılan bölgeden kornea, iris, silier cisim ve retina dokusunu içeren transvers kesitler yapılarak, parafin bloklar ve bunlardan 5 µm kalınlığında preparatlar hazırlandı. Preparatlar hematoksilin-eosin, periodic asid-schiff ve mason trikrom boyaları ile boyanıp, ışık mikroskobu ile histopatolojik olarak inflamatuvar hücre reaksiyonu ve nekroz açısından değerlendirildi. Ayrıca enükleasyondan hemen sonra objektif mikrometre kullanarak, ön kameraya solüsyon verilen ratların kornea kalınlığı ölçülerek karşılaştırıldı.

Kornea kalınlığı ortalama \pm standart sapma olarak hesaplandı. İstatistiksel test olarak gruplar arasındaki farkın değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis testi kullanıldı. İstatistiksel hesaplama kişisel bilgisayar ortamında SPSS



Resim a: Ön kameraya asetilkolin verilen ve 14. günde enükleasyon uygulanan rat'ın korneanın normal yapısı; üstte non-keratinize skuamöz epitel, ortada fibröz stroma ve keratositler ve tek tabakalı düz kornea endoteli,

Resim b ve c: vitre içine asetilkolin verilen ve 14. günde enükleasyon uygulanan rat'ın sensöryal retinasının ilk nöron tabakası ile iç sınırlayıcı membranı (Resim b) ve melanin pigmenti içeren normal iris epitel ve silier cismi (Resim-c). (H&Ex25)

9.0 programı kullanılarak yapıldı. P değerinin <0.05 olması anlamlı olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Hem çalışma grubunda hem de kontrol gözlerde makroskopik ve mikroskopik bulgular benzer olup, 6 grupta da kornea, iris, siliyer cisim ve retinada inflamatuvar hücre reaksiyonu ve nekroz gibi patolojik değişiklikler tespit edilmedi. Resim-a da korneanın normal yapısı; üstte non-keratinize skuamöz epiteli, ortada fibröz stroma ve keratositler ve tek tabakalı düz kornea endotelini göstermektedir. Resim-b de sensöryal retinanın ilk nöron tabakası ile iç sınırlayıcı membranı, Resim-c de melanin pigmenti içeren normal iris epiteli ve siliyer cisim görülmektedir. Ön kameraya solüsyon verilen ratların korneal kalınlıkları asetilkolin, karbakol ve kontrol grubunda sırasıyla ortalama $218.75 \pm 27.61 \mu\text{m}$ (185-220 μm), $208.75 \pm 25.37 \mu\text{m}$ (180-250 μm) ve $196.88 \pm 14.87 \mu\text{m}$ (175-220 μm) olarak tespit edildi ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p > 0.05$).

TARTIŞMA

Asetilkolin ve karbakol parasempatomimetik etkili ajanlar olup, hızlı etkilerinden dolayı miyozis sağlamak ve ayrıca postoperatif erken dönemde GİB düşürücü etkisi nedeniyle, katarakt cerrahisi sırasında intrakameral olarak sıklıkla kullanılmaktadırlar. Asetilkolin asetilkolintransferaz enzimi ile hızlı bir şekilde yıkıldığı için etkisi kısa sürelidir⁶⁻¹¹. Karbakolde ise asetil grubu olmadığı için asetilkolinesteraza ve nonspesifik esterazlara daha dirençli olup asetilkoline göre etki süresi daha uzundur. Bu nedenle etkinin uzun sürmesi istendiği durumlarda asetilkoline tercih edilebilmektedir².

Bu çalışmada, katarakt cerrahisi sırasında zaman zaman intrakameral olarak kullanılmak durumunda kaldığımız asetilkolin ve karbakolün göz içi dokulara ve kornea kalınlığına etkilerini değerlendirmek için, iki ajanı deneysel olarak ratların ön kameraya ve vitreus içine verip sonuçları histopatolojik olarak kontrol grubu ile karşılaştırdık. Asetilkolin ve karbakol verilen gruplar ile kontrol gruplarının göz içi dokularında inflamatuvar hücre reaksiyonu ve nekroz tespit edilmedi. Ayrıca ön kameraya solüsyon verilen gözlerin kornea kalınlıkları açısından da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ortaya çıkmadı.

Bazı çalışmalarda katarakt cerrahisi sırasında, ön kameraya asetilkolin enjeksiyonundan sonra kornea ödemi gelişebilmektedir. Bu nedenle özellikle endotel hücre sayısı sınırlı olan olgularda katarakt cerrahisi sırasında miyotik ajan kullanımından mümkünse sakınmak gerekir¹². Ancak çalışmamızda enjeksiyon öncesi ve sonrası endotel hücre değerlendirilmesi yapılamadı. Ancak kornea ödeminin ve endotel hücre sayısının bir göstergesi olan kornea kalınlık ölçülerek değerlendirildi. Ön kameraya solüsyon verilen gruplarda kornea kalınlığı açısından bir fark saptanmaması nedeniyle endotel hücre sayısının etkilenmediği düşünüldü. Öte yandan Yee ve ark. in vitro olarak, asetilkolin ve karbakolün sıgır kornea endotelini üzerine etkilerini değerlendirdiği çalışmasında asetilkolinin kornea endotel hücrelerine karşı toksik etkisinin

bulunmadığını bildirmiştir¹³. Diğer taraftan kedilerde ön kameraya verilen dengeli tuz solüsyonu ve farklı konsantrasyonlardaki asetilkolinin endotel hücrelerine toksik etkisinin speküler mikroskop ile değerlendirildiği bir çalışmada, enjeksiyondan önce ve sonraki endotel hücre dansitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiştir¹⁴. Roszkowska ve ark.¹⁵ miyotiklerin kornea endotel hücre sayısına etkilerini değerlendirmek amacıyla EKKE uyguladıkları ve intrakameral olarak %1 asetilkolin ve %0.01 karbakol verdikleri olguların ameliyat öncesi ve sonrası endotel hücre sayısını karşılaştırmışlardır. Sonuçta EKKE'de asetilkolin ve karbakol kullanıldığında postop 1. ayda, iki grup arasında, ortalama endotel hücre kaybı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı ve bu miyotiklerin kornea endotel tabakası üzerine toksik etkisinin bulunmadığını belirtmişlerdir. Schwenn ve ark.¹⁶ ön kameraya verilen thymoxamine, asetilkolin ve BSS solüsyonlarının kornea endotel hücre sayısı üzerine etkisini, katarakt cerrahisi öncesi ve sonrası kontakt speküler mikroskop ile hücre sayımı yaparak değerlendirmiştir. Çalışmanın sonucunda bu üç solüsyon arasında endotel hücre sayısı açısından cerrahi öncesi ile sonrası arasında anlamlı fark olmadığını bildirmiştir. Birnbaum ve ark.¹⁷ ise 15 dakika boyunca %0.01 karbakolün etkisinde kalan korneaların kalınlıklarında değişikliğe neden olmadığını bildirmiştir. Bu çalışmaların sonuçları, çalışmamızda ortaya çıkan, intrakameral olarak kullanılan asetilkolin ve karbakolün korneal kalınlığını değiştirmediği sonucunu desteklemektedir.

Bazı çalışmalarda ise karbakolün kornea endotel hücrelerine etkileyebileceği ve korneal kalınlıkta hafif bir artışa neden olduğu gösterilmiştir. Akiyama ve ark.¹⁸ rat kornealarında, karbakolün kornea kalınlığında hafif bir artışa neden olduğunu, ancak asetilkolinin böyle bir etkiye sahip olmadığını ve hatta sıvı-pompa mekanizmasını aktive ettiğini bildirmişlerdir. Diğer taraftan Vaughn ve ark. %1 asetilkolin ile karbakolün, kornea endotel tabakasının fizyolojik fonksiyonlarına ve endotel hücrelerinin anatomisine etkisini speküler mikroskop kullanarak karşılaştırmalı olarak değerlendirmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda Asetilkolin'in endotel hücre tabakasının fizyolojik fonksiyonlarında ve anatomik görünüşünde herhangi bir değişikliğe neden olmadığını, karbakolün ise kısa süreli ve geri dönüşlü değişikliklere neden olabildiğini ortaya koymuşlardır¹⁹.

Daha önce yapılan çalışmalarda asetilkolin ve karbakolün korneanın endotel hücre tabakası fonksiyonları ve kalınlığı üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Ancak bu ajanların, katarakt ameliyat sırasında arka kapsül rüptürü sonucu vitreus içine sızması ile siliyer cisim ve retinayı etkileme olasılığı vardır. Bu nedenle, çalışmamızda asetilkolin ve karbakolü intravitreal vererek siliyer cisim ve retina gibi göz içi dokular üzerine etkileri histopatolojik olarak değerlendirildi. Çalışma süresi 2 hafta gibi uzun bir süreyi kapsamamasına rağmen histopatolojik olarak ışık mikroskopunda göz içi dokularda inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve nekroz gibi herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı. Bu bulgular asetilkolin ve karbakolün güvenle intraoküler olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Ancak taranabilen kaynaklarda bu ajanların intravitreal enjeksiyonu ile ilgili yapılmış çalışmaya rast-

lanmadığı için, sonuçlarımızı karşılaştırma olanağı bulunamadı.

Çalışmamızın sonucunda, özellikle miyotik etkilerinden faydalanmak için katarakt cerrahisi sırasında intraoküler olarak kullanılan %1 asetilkolin ve %0.01 karbakolün kornea kalınlığını etkilemediği ve göz içi dokulara toksik etkisinin bulunmadığı tespit edildi. Bu ajanların cerrahi sırasında gerektiği durumlarda intraoküler olarak güvenle kullanılabileceği fikrine varıldı.

KAYNAKLAR

1. Ellis DZ, Nathanson JA, Rabe J, et al.: Carbachol and nitric oxide inhibition of Na, K-ATPase activity in bovine ciliary processes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:2625-2631.
2. Liu JHK, Erickson K. Cholinergic agents. In: Albert DM, Jakobiec FA, eds. *Principles and practice of ophthalmology*. 2nd ed. Philadelphia: Saunders 2000;251-257.
3. Çekiç O, Batman C. Effect of intracameral carbachol on intraocular pressure following clear corneal phacoemulsification. *Eye* 1999;13:209-211.
4. Solomon KD, Stewart WC, Hunt HH, et al.: Intraoperative intracameral carbachol in phacoemulsification and posterior chamber lens implantation. *Am J Ophthalmol* 1998;125:36-43.
5. Linn DK, Zimmerman TJ, Nardin GF, et al.: Effect of intracameral carbachol on intraocular pressure after cataract extraction. *Am J Ophthalmol* 1989;107:133-136.
6. Wedrich A, Menapace A.: Effect of acetylcholine on intraocular pressure following small-incision cataract surgery. *Ophthalmologica* 1992;205:125-130.
7. Ruiz RS, Rhem MN, Prager TC.: Effects of carbachol and acetylcholine on intraocular pressure after cataract extraction. *Am J Ophthalmol* 1989;107:7-10.
8. Hollands RH, Drance SM, Schulzer M.: The effect of acetylcholine on early postoperative intraocular pressure. *Am J Ophthalmol* 1987;103:749-753.
9. Lai JS, Chua JK, Loo A, et al.: Effect of intracameral acetylcholine on latanoprost in preventing ocular hypertension after phacoemulsification and intraocular lens implantation. *J Cataract Refract Surg* 2001;27:700-705.
10. Turaçlı E, Karel F, Bardak Y.: Karbakol ve asetilkolinin katarakt cerrahisi sonrasında göz içi basıncına etkisi. *T. Oft. Gaz.* 1996;26:46-49.
11. Oğuz H, Satıcı A, Gürler B, ve ark.: Karbakol ve asetilkolinin küçük kesili katarakt cerrahisi sonrası göz içi basıncına etkisi. *T. Oft. Gaz.* 1999;29:113-116
12. Menchini U, Scialdone A, Fantaguzzi S, et al.: Clinical evaluation of the effect of acetylcholine on the corneal endothelium. *J Cataract Refract Surg* 1989;15:421-424.
13. Yee RW, Meenakshi S, Yu HS, et al.: Effects of acetylcholine and carbachol on bovine corneal endothelial cells in vitro. *J Cataract Refract Surg* 1996;22:591-596.
14. Olson RJ, Kolodner H, Riddle P, et al.: Commonly used intraocular medications and the corneal endothelium. *Arch Ophthalmol* 1980;98:2224-2226.
15. Roszkowska AM, Ferreri G, Squeri CA, et al.: Effect of intraocular acetylcholine and carbachol on the corneal endothelium. In vivo comparative study. *Ophthalmologica* 1998;212:407-409.
16. Schwenn OK, Schellein O, Pfeiffer N, et al.: Reduction of endothelial cell number by cataract operation with intraocular thymoxamine administration. A randomized, double-blind study. *Ophthalmologie* 1997;94:136-140.
17. Birnbaum DB, Hull DS, Green K, et al.: Effect of carbachol on rabbit corneal endothelium. *Arch Ophthalmol* 1987;105:253-255.
18. Akiyama R, Kuang K, Chiaradia PA, et al.: Effects of acetylcholine, carbachol, and mannitol on rabbit corneal endothelial function as assessed by corneal deturgescence. *J. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1997;235:384-387.
19. Vaughn ED, Hull DS, Green K.: Effect of intraocular miotics on corneal endothelium. *Arch Ophthalmol* 1978;96:1897-900.