

Psödoeksfoliyasyon Sendromlu Gözlerde Kapsüloreksis Öncesinde Tripan Mavisinin Kapsül Üzerindeki Histopatolojik Etkileri*

Histopathological Effects of Trypan Blue Staining of the Lens Capsule Before Capsulorhexis in Eyes with Pseudoexfoliation Syndrome

Özge ARIKAN¹, Alper YARANGÜMELİ², Nalan AKYÜREK³, Gülcan KURAL⁴

Klinik Çalışma

Original Article

ÖZ

Amaç: Psödoeksfoliyasyon (PEX) sendromu bulunan ve bulunmayan kataraktlı gözlerde, fakoemülsifikasyon öncesinde, kapsüloreksisi kolaylaştırmak amacıyla tripan mavisinin (TM) kullanımının lens kapsülündeki histopatolojik etkilerinin araştırılması.

Gereç ve Yöntemler: PEX bulunan ve bulunmayan 20'şer olgudan oluşan iki grup katarakt hastasından, 10'unda kapsüloreksis sırasında TM kullanılan, 10'unda ise kullanılmayan 2'şer alt grup ile toplam 4 hasta grubu oluşturuldu. Grup 1; PEX (-), TM (-), Grup 2; PEX (+), TM (-), Grup 3; PEX (-), TM (+), Grup 4 ise PEX (+), TM (+) olguları içermektedir. Kapsül örnekleri ışık mikroskopisinde Hematoksilen-Eozin, Trikróm ve Periyodik Asit Schiff boyama teknikleri ile histopatolojik olarak, Kollajen 4 ile immunohistokimyasal olarak incelendi.

Bulgular: Hiçbir grupta kollajen yapıda bozulma saptanmadı. Grup 1'de epitel hücrelerinde değişiklik bulunmazken, Grup 2'de 3, Grup 3'de 5, Grup 4'de 7 örnekte epitel dejenerasyonu izlendi ($p=0.006$). Epitel hasar düzeyi Grup 2 ve 3'de hafif derecedeyken, boya uygulanan PEX'li grupta (Grup 4) örneklerin 3'ünde (%30) hafif, 2'sinde (%20) orta, 3'ünde (%30) ise ağır derecede epitel dejenerasyonu saptandı ($p=0.003$). Genel olarak, boya kullanımı ile epitel dejenerasyonu arasındaki ilişki istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p=0.009$).

Sonuç: TM kullanımının normal gözlerde lens epitelinde dejenerasyona neden olduğu, PEX'li gözlerde ise mevcut olan dejenerasyonun şiddetini arttırdığı sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Fakoemülsifikasyon, kapsüloreksis, psödoeksfoliyasyon sendromu, lens kapsülü, tripan mavisinin.

ABSTRACT

Amaç: To investigate the histopathological effects of trypan blue staining of the lens capsule before phacoemulsification to facilitate capsulorhexis in cataractous eyes with and without pseudoexfoliation (PEX).

Materials and Methods: In two groups of cataract patients one of which consisted of 20 cases with PEX and the other including 20 cases without PEX, two subgroups were formed with 10 patients in which trypan blue (TB) staining was performed before capsulorhexis and with remaining 10 patients unstained. Therefore, four groups were established as follows: Group 1 (PEX-, TB-), Group 2 (PEX+, TB-), Group 3 (PEX-, TB+), and Group 4 (PEX+, TB+). Capsule specimens were examined histopathologically with light microscope using Hematoxylin-Eosine, Trichrome, and Periodic Acid Schiff dyes, in addition to an immunohistochemical staining with Collagen 4.

Results: Damage in the collagen structure was not detected in any group. No change in epithelial cell histology was found in Group 1, however, epithelial degeneration was revealed in 3 eyes in Group 2, in 5 eyes in Group 3, and in 7 eyes in Group 4. ($p=0.006$). Epithelial degeneration grades were mild in Groups 2 and 3, while in the group with PEX and TB staining (Group 4), the grades of damage were mild in 3 specimens (30%), moderate in 2 specimens (20%), and severe in 3 (30%). Overall, there was a statistically significant relation between capsule staining and epithelial degeneration ($p=0.009$).

Conclusion: TB capsule staining results in epithelial degeneration in normal eyes, and worsens the degree of the existing degeneration in eyes with PEX.

Key Words: Phacoemulsification, capsulorhexis, pseudoexfoliation syndrome, lens capsule, trypan blue.

Glo-Kat 2009;143-149

Geliş Tarihi : 30/03/2009

Kabul Tarihi : 10/06/2009

Received : March 30, 2009

Accepted : June 10, 2009

* Bu çalışma Türk Oftalmoloji Derneği 42. Ulusal Oftalmoloji Kongresi (Antalya 2008) sunulmuştur.

1- S.B. Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hast., 1. Göz Kliniği, Ankara, Uz. Dr.
2- S.B. Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hast., 1. Göz Kliniği, Ankara, Doç. Dr.
3- Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji A.D., Ankara, Doç. Dr.
4- S.B. Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hast., 1. Göz Kliniği Şefi, Ankara, Uzm. Dr.

1- M.D., Ankara Numune Training and Research Hospital 1 st Eye Clinic Sıhıye Ankara/TURKEY

ARIKAN O.,
2- M.D. Associate Professor, Ankara Numune Training and Research Hospital 1 st Eye Clinic Sıhıye Ankara/TURKEY
YARANGÜMELİ A., alperyarangumeli@yahoo.com

3- M.D. Associate Professor, Gazi University Faculty of Medicine, Department of Pathology Ankara/TURKEY
AKYÜREK N.,

4- M.D. Chief Clinic, Ankara Numune Training and Research Hospital 1 st Eye Clinic Sıhıye Ankara/TURKEY
KURAL G., gulcankural@yahoo.com

Correspondence: M.D. Associate Professor, Alper YARANGÜMELİ
Ankara Numune Training and Research Hospital 1 st Eye Clinic Sıhıye Ankara/TURKEY

GİRİŞ

Fakoemülsifikasyon ile standart katarakt cerrahisinin en önemli aşamalarından biri olan kapsüloreksisde dairesel ön kapsül açıklığının başarı ile tamamlanabilmesi için kapsülün yeterince iyi görülebilmesi gereklidir.¹ Görüntüyü engelleyen başlıca faktörler arasında pupillanın çeşitli nedenlerle dilate olmaması ve kataraktın özelliği veya yoğunluğu nedeniyle kırmızı fundus reflesinin alınamaması sayılabilir.²

Kırmızı refle yokluğu nedeniyle kapsülün iyi görünülmediği durumlarda çeşitli kapsül boyalarının kullanılması denenmiştir.³⁻⁸ Bu boyalar arasında en kabul görmüş olanı tripan mavisidir.⁸ Hayvan modellerinde toksik, karsinojenik ve teratojenik etkilerinin gösterilmesine karşın;^{9,10} insanlarda tripan mavisini (TM) ile ilişkili önemli bir komplikasyon bildirilmemiş, etkin ve güvenilir bir kapsül boyası olarak tanımlanmıştır.^{2,8,11} Klinik gözlemlerimiz TM kullanımıyla kapsül frajilitesi ve kapsül yırtılma karakterinde değişiklikler olduğu ve kapsül elastikiyetinin azaldığı yönündedir. Ancak literatürde insan gözlerinde bu görüşü destekleyen klinik ve histopatolojik çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmamızda psödoeksfoliyasyon sendromu (PEX) ve bulunmayan gözlerde fakoemülsifikasyon öncesinde kapsüloreksisi kolaylaştırmak amacıyla TM kullanımının histopatolojik olarak lens kapsülü ve epitel hücrelerinde yapısal değişikliğe neden olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Kliniğimizde Temmuz 2007-Aralık 2007 tarihleri arasında fakoemülsifikasyon yöntemi ile katarakt cerrahisi uygulanan PEX sendromu bulunan 20, PEX sendromu bulunmayan 20, toplam 40 hasta içinden 2 ana grup oluşturuldu. Her bir grupta 10 hastada kapsüloreksis öncesinde TM kullanılarak, diğer 10'unda ise kullanılmadan toplam 4 çalışma grubu oluşturulması planlandı. Buna göre PEX bulunmayan ve TM kullanılmayan hastalardan oluşan 1. Grup kontrol grubu özelliği taşıymaktaydı. PEX sendromu bulunan ve cerrahi sırasında boya kullanılmayanlar 2. Grubu, PEX sendromu bulunmayan ve lens kapsülü TM ile boyanan olgular 3. Grubu, PEX sendromu bulunan hastalardan boya kullanılan grup ise 4. Grubu oluşturdu. Cerrahi sırasında gözlerden alınan lens kapsül materyallerinden hazırlanan preparatlar histopatolojik olarak ışık mikroskopunda incelendi. Histopatolojik incelemeye gönderilen fakat preparat hazırlanması veya histopatolojik inceleme sırasında yeterli olmadıkları için değerlendirilmeye alınamayan kapsüller için her grupta çalışma kriterlerine uygun yeni materyaller eklenerek sayınının 10'a tamamlanması sağlandı.

Hastaların tümüne preoperatif olarak tam bir oftalmolojik muayene yapıldı. Biyomikroskopik muayene ile kornea, pupilla ve kataraktın durumu değerlendirildi. Fundusu aydınlanan olgularda 90 diyoptirlik lensle arka

segment muayeneleri yapıldı. Fundusu aydınlanmayan olgularda arka segment USG uygulandı.

Preoperatif değerlendirmede oküler travma hikayesi olanlar, daha önce herhangi bir nedenle göz içi cerrahi geçirmiş hastalar, üveit bulgusu veya kornea hastalığı olan olgular çalışma dışı bırakıldı. Glokom öyküsü bulunan olguların medikal tedavi ile göz içi basınçlarının kontrol altında olmasına dikkat edildi.

Cerrahi teknik

Operasyonlar katarakt cerrahisinde deneyimli uzmanlar ya da uzman gözetiminde fakoemülsifikasyon konusunda teorik ve pratik eğitim almakta olan asistan doktorlar tarafından topikal anestezi ile gerçekleştirildi.

Limbusta üst kadranda avasküler sınırın 0.5 mm önünden 3.0 mm genişliğinde slit bıçak ile saydam korneal tünel hazırlandı. İnsizyondan hemen sonra ön kamara viskoelastik madde (Sodyum Hiyalüronat 14mg/ml, %1.4) ile doldurularak Utrata kapsül forsepsi ile kapsüloreksis yapıldı. TM kullanılan gözlerde ise ana girişi takiben ön kamaraya hava verildi, havanın altına lens kapsül üzerine 0.1 ml %0.06 TM (Bio-Blue® Trypan Blue 0.6 mg/ml) enjekte edildi. Hemen arkasından ön kamara viskoelastik madde ile doldurularak ön kamaradaki hava ve TM boşaltıldı ve kapsüloreksis yapıldı. Kapsül forsepsi ile özenle göz dışına alınan lens kapsülleri, mümkün olan en az travma ile histopatolojik incelemeye gönderilmek üzere %10'luk formaldehit solüsyonu içine konuldu. İlk insizyonun her iki yanında limbusta 2 adet yan girişi oluşturuldu. Hidrodiseksiyonu takiben lense rotasyon yaptırıldı. Fakoemülsifikasyon aşamasında nükleus "stop and chop" tekniği ile epinükleus ise fakoemülsifikasyon probu ile aspire edilerek temizlendi. Rezidüel korteks parçaları bimanuel irrigasyon/aspirasyon (I/A) yoluyla aspire edildi. Kapsüller yatağa viskoelastik madde verildi. Şeffaf korneal girişi 4.1 mm'ye genişletildi. Hidrofilik akrilik katlanabilir göz içi lensi (GİL) kapsül içine yerleştirildi. Arka kapsül perforasyonu olan olgularda gerektiğinde ön vitrektomi yapılarak yeterli kapsül desteği varlığında katlanabilir GİL perforasyon büyüklüğüne göre kapsül içine veya ön kapsül üzerine sulkusa yerleştirildi. Ön kamaradaki viskoelastik maddenin aspirasyonunu takiben kesi yeri stromal hidrasyon ile kapatıldı. Yeterli kapsül desteği olmayan olgulara GİL yerleştirilmedi ve daha sonraki bir seansda skleral fiksasyonlu GİL uygulandı.

Dört grup histopatolojik olarak lens kapsül yapısında ve epitelinde dejenerasyon varlığı ve şiddeti ile cerrahi komplikasyonları açısından karşılaştırıldı.

Histopatolojik İnceleme ve Değerlendirme

Formaldehit (%10) içine alınan kapsül örnekleri inceleme için bekletilmeden Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na ulaştırıldı. Patoloji laboratuvarında %10 formaldehit içinde 1 gün tespit edilen dokular rutin takip işlemine alınarak parafine gömüldü. Hazırlanan parafin bloklardan 5 mikronluk kesitler deparafinize

Tablo 1: Grupların demografik özellikleri.

Grup	Özellik	Yaş (Ort±SD)	Cinsiyet (E/K)
H1	PEX (-) + Boya (-)	65.9±9.7	4/6
2	PEX (+) + Boya (-)	70.1±4.7	7/3
3	PEX (-) + Boya (+)	68±10.1	3/7
4	PEX (+) + Boya (+)	68.8±6.4	6/4
p	-	0.700*	0.261**

(*): ANOVA, (**): Ki-kare testi

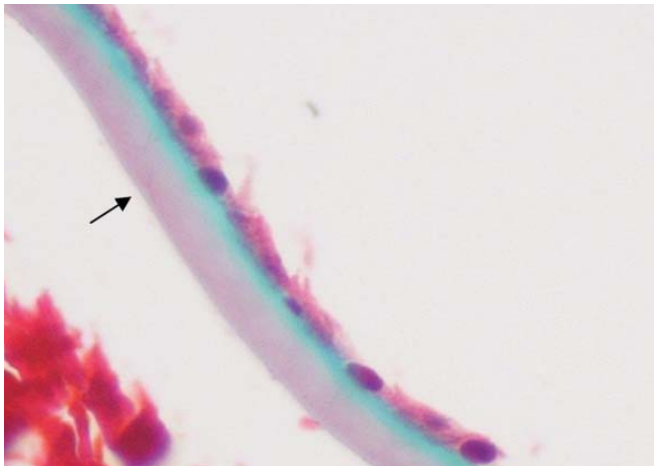
Tablo 2: Grupların epitel hasar şiddeti açısından ikili karşılaştırmaları (Fisher'in kesin ki-kare testi, Bonferroni düzeltmesi ile p<0.0083 anlamlı).

Gruplar	1	2	3	4
1		0.067	0.016	0.003
2	0.067		0.125	0.092
3	0.016	0.125		0.112
4	0.003	0.092	0.112	

edilerek; Hematoksilen-Eozin (HE), Trikom, Periodik-Asit Schiff (PAS) ve immünohistokimyasal olarak Kollajen 4 boyamaları yapıldı.

Patoloji laboratuvarında gerekli aşamalardan geçen kapsül örnekleri, örneğin hangi gruba ait olduğu hakkında ön bilgisi olmayan aynı uzman patolog (N.A.) tarafından ışık mikroskopisiyle incelenip yorumlandı.

Lens kapsül örneklerinin ışık mikroskopik incelemesinde HE boyalı kesitlerde lens kapsülü ve epitel hücreleri incelendi. Normal epitel hücrelerinden daha büyük, hiperkromatik nükleusa sahip pleomorfik görünümlü hücrelerin varlığı dejenerasyon bulgusu olarak değerlendirildi. Lens kapsül epitel hücrelerindeki dejenerasyonun yaygınlığına göre epitel hücre hasarı derecelendirildi. Buna göre epitelyal dejenerasyon patolog tarafından, 0'dan 3'e kadar skor verilerek değerlendirildi (0: normal epitel hücreleri, 1: hafif epitelyal dejenerasyon, 2: orta epitelyal dejenerasyon, 3: ağır epitelyal dejenerasyon). Kollajen (Trikrom) boyası ile epitel hücrelerinin altındaki lens kapsülündeki kollajen fibrillerin homojen olup olmadığı incelendi. PAS boyası ile lens kapsülündeki boyanmanın

**Resim 1:** Trikom boyası ile epitel hücrelerinin altındaki lens kapsülündeki fibrillerin homojen görünümü (ok).

homojenitesi belirlendi. İmmünohistokimyasal çalışmada Kollajen IV boyası ile epitel hücrelerinin altındaki bazal membranın bütünlüğü değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

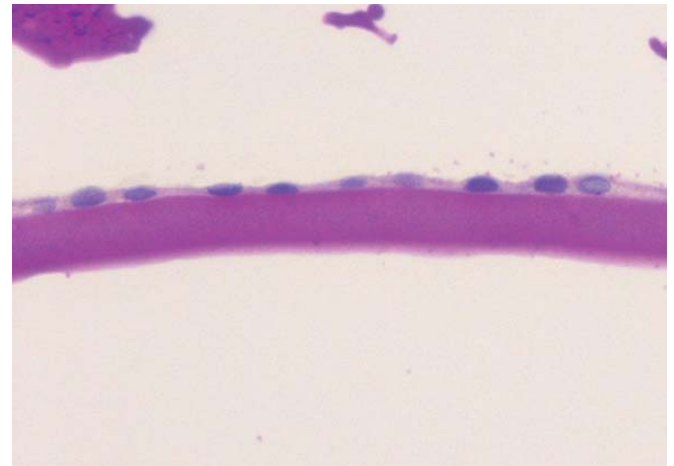
Yaş ortalamalarını karşılaştırmak için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve bağımsız gruplarda student t testi, nitelik değişkenleri karşılaştırmak için ki-kare ve Fisher'in kesin ki-kare testleri kullanıldı. Bu testler sonucunda p değeri 0.05'ten küçük olan sonuçlar anlamlı

olarak kabul edildi. Çok gözlü tablolarda fark önemli bulunduğunda, gruplar ikili olarak karşılaştırılırken Bonferroni düzeltmesinden yararlanıldı ve p değeri 0.0083'ten küçük olan sonuçlar anlamlı olarak kabul edildi. İstatistiksel analizler SPSS for Windows 11.5 (1989-2002, SPSS Inc, Chicago, IL, USA) yazılımı ile gerçekleştirildi.

BULGULAR

Kırk hastanın 40 gözünden alınan materyallerin değerlendirilmesi ile çalışma tamamlandı. Onar olgudan oluşan dört grubun genel özellikleri Tablo 1'de sunulmuştur. Gruplar arasında cinsiyet ve yaş dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi.

Katarakt tiplerinin gruplara dağılımı karşılaştırıldığına, izole veya bir arada nükleer, kortikal veya arka subkapsüler kesafet varlığı açısından dört grup arasında anlamlı fark bulunmadı (tümü, p>0.05). PEX bulunan ve bulunmayan gözler arasında da katarakt tipleri açısından fark saptanmadı.

**Resim 2:** Lens kapsülünün homojen PAS (+) boyanması.



Resim 3: Kollojen IV boyası ile epitel hücrelerinin altındaki bazal membranın intakt görünümü (ok).

Kırk hastanın 25'inde (%62.5) bir veya daha fazla sistemik hastalığın var olduğu saptandı, ancak genel olarak gruplar arasında sistemik hastalıkların dağılımı açısından anlamlı fark olmadığı izlendi (tümü, $p > 0.05$). Ancak sistemik hipertansiyon sıklığının PEX'li hastalarda (%15), PEX'li olmayanlara (%60) göre anlamlı düzeyde daha düşük olduğu saptandı ($p = 0.004$, Fisher'in kesin ki-kare testi). Kırk hastanın 10'unda diabetes mellitus mevcuttu ve bunlardan 7'sinde diyabetik retinopati bulgusu izlenmekteydi. DM varlığı açısından PEX'li olanlar ile olmayanlar arasında anlamlı bir fark izlenmezken ($p = 0.137$), PEX sendromu mevcut olan grupta diyabetik retinopatinin (%5), PEX'li olmayanlara (%30) göre anlamlı olarak daha az sıklıkta görüldüğü saptandı ($p = 0.046$).

PEX sendromu olmayan 20 olgunun 3'ünde (%15) primer açık açılı glokom, PEX sendromu olan 20 olgunun 7'sinde (%35) ise psödoeksfolyatif glokom tanısı mevcuttu, ancak glokom varlığı açısından anlamlı fark bulunmadı ($p = 0.137$, Fisher'in kesin ki-kare testi).

Histopatolojik Bulgular

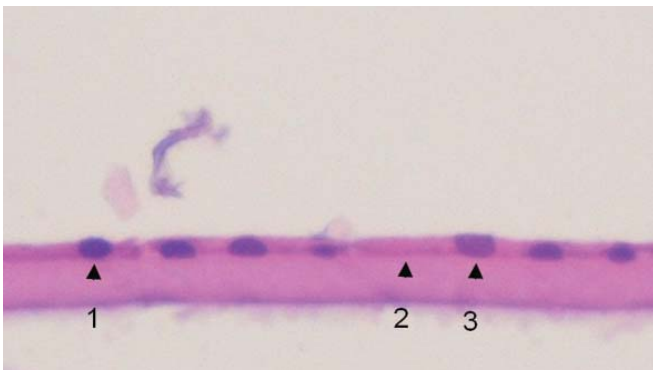
Tüm örneklerin ışık mikroskopik incelemesinde Trikróm kollajen boyası ile epitel hücrelerinin altındaki lens kapsülündeki kollajen fibrillerin homojen olduğu izlendi, hiçbir örnekte dejenerasyon bulgusu saptanmadı (Resim 1). Periodik-Asit Schiff ile boyanan tüm lens kapsüllerinde PAS dağılımı homojen olarak değerlendirildi, hiç-



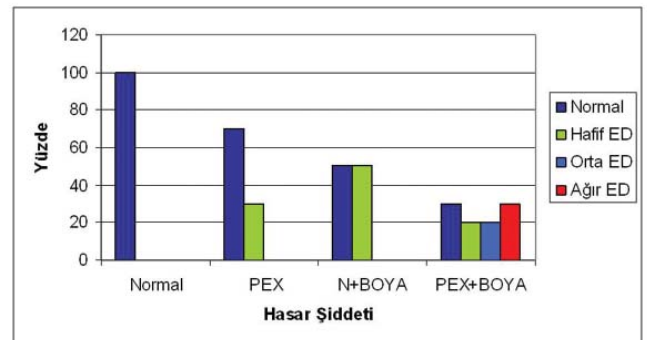
Resim 4: Normal görünümlü epitel hücreleri (Grup I).

bir örnekte dejenerasyon bulgusu saptanmadı (Resim 2). İmmünohistokimyasal çalışmada Kollajen IV boyası ile boyanan lens kapsüllerinin tümünde, epitel hücrelerinin altındaki bazal membranın intakt olduğu belirlendi, hiçbir örnekte dejenerasyon bulgusu saptanmadı (Resim 3). Özetle, üç boyama yöntemiyle grupların hiçbirinde lens kapsülleri ve epitel bazal membran yapılarında patolojik bulgu izlenmedi.

Hematoksilen-eozin ile boyanan materyallerin ışık mikroskopik incelemesinin sonucunda dört grupta histopatolojik olarak lens epitel hücrelerindeki dejenerasyon varlığının dağılımı karşılaştırıldığında; Grup 1'de epitel hücrelerde histopatolojik olarak herhangi bir değişiklik saptanmazken (Resim 4), Grup 2'de 3 (%30), Grup 3'de 5 (%50), Grup 4'de ise 7 (%70) örnekte epitel hücrelerinde dejenerasyon bulguları olduğu izlendi (Resim 5). Gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p = 0.006$, ki-kare testi). Epitel hasar şiddetinin dağılımı incelendiğinde; Grup 2 ve 3'den alınan materyallerdeki dejenerasyon şiddetinin hafif düzeyde olduğu, Grup 4'de ise hasarlı 7 örnekte üçünde (%30) hafif, 2'sinde (%20) orta, 3'ünde ise (%30) ağır derecede epitel dejenerasyonu bulunduğu saptandı (Grafik). Hasar şiddeti açısından da gruplar arasında anlamlı fark bulundu ($p = 0.003$, ki-kare testi). Gruplar birbirleriyle ikişerli olarak karşılaştırıldığında ise yalnızca normal grup ile (Grup



Resim 5: Epitel hücrelerinde dejenerasyon bulguları (ok başları); nükleuslarda heterokromatin artışı (1), fokal epitel hücre kaybı (2), büyük nükleus (3), ve hücrelerde pleomorfik görünüm.



Grafik: Gruplarda epitel hücrelerindeki dejenerasyon (ED) şiddetinin dağılımı.

1) TM kullanılan PEX'li grup (Grup 4) arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0.003$) (Tablo 2).

Genel olarak TM kullanılmış olan 20 hastanın 12'sinde (%60), boya uygulanmayan 20 hastanın ise 3'ünde (%15) lens kapsül epitel hücrelerinde değişen derecelerde dejenerasyon saptandı. Boya kullanımı ile epitel dejenerasyonu arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.009$, Fisher'in kesin ki-kare testi).

Komplikasyon olarak, 40 hastanın 7'sinde (%17.5) ameliyat sırasında arka kapsül perforasyonu geliştiği görüldü. Bu komplikasyon; Grup 1'de 1 (%10), Grup 3 ve 4'te 3'er (%30) olguda izlendi ($p=0.255$, ki-kare testi). Bu 7 olgudan 3'ünde PEX sendromu mevcuttu ($p=0.500$, Fisher'in kesin ki-kare testi). TM kullanılmayan gözlerden 1'inde (%5), boya kullanılan gözlerin ise 6'sında (%30) arka kapsül perforasyonu gelişti. TM kullanımı ile perforasyon gelişimi arasındaki ilişki anlamlı bulundu ($p=0.046$, Fisher'in kesin ki-kare testi).

TARTIŞMA

Uygun büyüklükte, düzgün ve dayanıklı bir kapsüloleksisin oluşturulması, fakoemülsifikasyon cerrahisinin başarıyla tamamlanabilmesi açısından önemli aşamalardan biridir.¹ Kapsüloleksis sırasında ameliyat mikroskopunun oluşturduğu retroilüminasyonundan yararlanılmaktadır. Beyaz matür kataraktlarda, küçük pupilla, varlığında, PEX sendromu ve geçirilmiş travma gibi nedenlerle zonül patolojileri olan olgularda, kapsülün yeterince iyi görülebilmesi veya manipüle edilebilmesi kapsüloleksisin başarıyla tamamlanamamasına neden olabilmektedir. Oluşabilecek radyal yırtıklar, zonül diyalizi ve arka kapsül rüptürü; vitreus kaybı, nükleusun düşmesi ve göz içi lensin malpozisyonu gibi olumsuz sonuçlar doğurabilmektedir.^{12,13} Kırmızı fundus reflexinin iyi alınamadığı durumlarda kapsüloleksisi kolaylaştırmak için kullanılan en pratik yöntem lens kapsülünün boyanmasıdır.⁸ Bu amaçla, subkapsüler floresein enjeksiyonu,³ otolog kan ile kapsülün boyanması,⁴ indosiyanın yeşili,⁵ gentian violet,⁶ metilen mavisi⁷ ve tripan mavisi⁸ gibi çeşitli boyaların kullanılması denenmiştir.

Günümüzde en sık kullanılan kapsül boyası olan TM, diğer adıyla Niagara Blue 3B, iki nitrojen bağı ile bağlı 3 ana parçadan oluşan simetrik bir moleküldür.¹⁴ Oftalmologlar tarafından 1960'lardan beri kullanılan TM, bis-azo sınıfından, hafif asidik iyonizasyona sahip, 961 kDa molekül ağırlıklı, suda çözünebilir bir vital boyadır.¹⁴⁻¹⁶ TM hücre kültürlerinde hücrelerin canlılığını test etmek için kullanılabilirliği gibi donör kornealarda ölü ve hasarlı endotel hücrelerinin belirlenmesinde de yardımcı olur.¹⁵⁻¹⁶ Sağlam sitoplazmik membrana sahip canlı hücreler boyayı içeri almaz, dolayısıyla sağlıklı endotel boyanmaz.¹⁷ Ön kamaraya verildiğinde TM selektif olarak ve oldukça uniform bir şekilde ön lens kapsülünde epitel hücre tabakasına komşu bazal membranı boyamaktadır.¹⁷

Ülkemizde PEX sendromu ile katarakt birlikteliği sık rastlanan bir durumdur ve PEX varlığında katarakt cerrahisinde belli bazı güçlükler ortaya çıkmaktadır.¹² Pupil dilatasyonun yetersiz olabilmesi ve lens zonüllerinde zayıflık, kapsüloleksis ve fakoemülsifikasyonun diğer aşamalarında komplikasyon oranlarını arttırmaktadır. PEX'li olgularda yapılan fakoemülsifikasyon ameliyatlarında arka kapsül rüptürü ve zonül diyalizi riskinin PEX'li olmayanlara göre oldukça belirgin olarak arttığını bildiren çalışmalar mevcuttur.¹²

Winkler ve ark., elektron mikroskopisi ve immünohistokimyasal boyama tekniklerini bir arada kullandıkları çalışmalarında, lens kapsül ön yüzeyinde biriken PEX materyalinin içeriğinde yer alan keratan sülfat ve dermatan sülfat gibi proteoglikanların, kapsül yüzeyinde anyonik bariyer kaybına neden olarak lens kapsül geçirgenliğini arttırdığını, bununla ilişkili patofizyolojik reaksiyonların ise lensde kesifleşmeyle sonuçlandığını iddia etmişlerdir.¹⁸ Ruotsalainen ve ark. yaptığı çalışmada ise, PEX'li gözler ile normal gözler arasında kapsül kalınlığı ve kapsül gerilme kapasitesi yönünden bir fark tespit edilememiş, artmış komplikasyon oranının kapsülün deşil, zonüllerin kırılabilirliği ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür.¹⁹ Schlötzer-Schrehardt psödoeksfoliatif materyal içinde gösterilen elastin epitoplara dayanarak, materyalin non-kollajenöz bazal membran elemanlarının da içinde bulunduğu bozulmuş ekstrakapsüler matriks sentezi ile oluştuğu sonucuna varmış, PEX materyalinin lens ön kapsülüne yapışmasında ise Tip IV kollajenin özel rolü olduğunu ileri sürmüştür.²⁰ Ancak çalışmamızda, kollajen dokusuna spesifik trikrom ve bazal membran yapısında bulunan Tip IV kollajene spesifik kollajen boyaları kullanılarak yapılan histopatolojik incelemelerde, PEX'li gözlerde özgül belirgin patoloji saptanamamıştır. Bununla birlikte hematoksilen-eozin boyası ile TM kullanılmayan PEX grubunda 10 kapsülden üçünde lens epitel hücrelerinde hafif derecede dejenerasyon bulguları izlenirken, TM kullanılan PEX grubunda dejeneratif bulguların sıklığında ve şiddetinde belirgin artma görülmüştür.

TM'nin klinik uygulamalarında uygun konsantrasyonlarda genel olarak belirgin toksik etkisinin bulunmadığı bildirilmektedir. Melles ve ark., matür katarakt nedeniyle %0.1'lik TM kullanılan 30 hastanın bir yıllık takibinde boya ile ilişkili komplikasyona rastlamamışlar,² Norn ve ark. ise katarakt cerrahisi sonrası 8 yıllık takipte boya kullanımı ile ilişkilendirilebilecek endotel toksisitesiyle karşılaşmadıklarını bildirmişlerdir.¹¹ Daha önce de belirtildiği gibi; TM keratoplasti öncesinde donör kornealarının endotel hücre canlılığının denetlenmesi amacı ile uzun yıllardır kullanılmaktadır.^{15,16}

Chowdhury ve ark., fakoemülsifikasyon öncesinde kullanılan TM'nin korneal tünel ve yan girişleri boyayabildiğini, özellikle şüpheli zonül diyalizi olan olgularda, vitrede mavi boyanmaya neden olabildiğini, ayrıca TM ile bazı silikon göz içi lenslerinde ameliyat sonrası lens değişimini gerektirecek derecede kalıcı boyanmalar orta-

ya çıkabileceğini bildirmiştir.²¹ Buna karşılık; Fritz, dijital görüntü analizi ile gerçekleştirdiği çalışmada, TM ile boyanma açısından, silikon ve PMMA GİL'lerin, hidrofilik akrilik lenslere göre daha güvenli olduğu sonucuna varmıştır.²² Arıcı ve ark., ratlarda ön kamaraya enjeksiyonu takiben 10 güne kadar göz içinde bekletilen TM'nin; iris, lens, siliyer cisim, ön kamara ve retina gibi göz içi dokularda histopatolojik olarak belirgin toksik etki göstermediğini rapor etmişlerdir.²³ Veckeneer ve ark.'nın tavşanlarda vitrektomi sonrasında vitreus kavitesine %0.06'lık ve %0.2'lik konsantrasyonlarda TM enjekte edip, retinal toksisiteyi biyomikroskopik, oftalmoskopik, histopatolojik ve elektoretinografik olarak araştırdıkları çalışmada ise; düşük konsantrasyonun güvenli olduğu ancak %0.2'lik konsantrasyon ile retinada toksik etkilenmelerin ortaya çıktığı bildirilmiştir.²⁴ Günümüzde düşük konsantrasyonda TM'nin (%0.06) epiretinal membranların görüntülenmesi ve cerrahisinde kullanımı yaygınlaşmakta ve olumlu sonuçlar bildirilmektedir.²⁵

TM kullanımı ile ilişkili en ciddi şüpheler hayvan modellerinde gösterilmiş potansiyel karsinojenik ve teratojenik etkilerine dayanmaktadır. Bu nedenle TM'nin genel olarak, fertil ve gebe kadınlar ile çocuklarda kullanılması önerilmemektedir.^{2,9,10}

Bir çok çalışmada, fakoemülsifikasyon öncesinde TM kullanımının, arka kapsül rüptürü, vitre kaybı gibi cerrahi komplikasyonlarda artışa neden olmadığı bildirilmektedir.^{2,5,8} Ancak kendi klinik gözlemlerimiz TM kullanıldığında kapsül frajilitesi ve kapsül yırtılma karakterinde değişiklikler olduğu ve kapsül elastikiyetinin azaldığı yönündedir. Takmaz ve ark. da çalışmalarında benzer bir yorumda bulunmuşlardır.²⁶ Bu konuda elimize geçen tek ciddi araştırma, Wollensak ve ark.'nın, TM uygulanan domuz gözlerinde fotosensitiviteyle ilişkili olarak kapsül elastisitesinde azalma ve kapsül gerginliğinde artma saptadıkları çalışmadır.²⁷

Takmaz ve ark. transmisyon elektron mikroskopu (TEM) kullanılarak yaptıkları incelemede TM ile boyanan kapsüllerin, normal lens kapsül epitel hücrelerinden ince yapı farklılıkları olduğu saptanmıştır. Epitel hücre çekirdeklerinde heterokromatin görünümü, mitokondrilerde küçülme ve krista yapılarında bozulma ile birlikte matriks yoğunluğunda artış gibi dejenerasyon bulgularının izlenmesi nedeniyle TM'nin hücre fonksiyonları ve epitel hücrelerinin ince yapıları üzerinde olumsuz değişikliklere neden olduğu öne sürülmüştür.²⁶ Rangaraj ve ark. ise, elektron mikroskopu kullanarak, TM ile boyanan kapsüllerde, normal lens ön kapsül yapısında gözlenen elektron-tutmayan baloncukların ortadan kaybolduğunu, boyalı kapsüllerde kapsül dış kenarlarının pürüzlü, düzensiz bir görünüm aldığını saptamışlardır.²⁸ Jongbloed ve ark. ileri yaştaki hastaların gözlerinden rutin ekstrakapsüler katarakt cerrahisi sırasında alınan lens ön kapsüllerinin ışık mikroskopunda incelenmesi sonucunda epitel hücrelerinde değişik derecelerde dejenerasyon bulguları saptamışlardır. Bu senil değişiklikler arasında;

koyu boyanan nükleusa sahip hücrelerin kapsül tabanına sıkı bağlantıları, epitel hücrelerinde proliferatif değişiklikler, multilameller yerleşme, ayrıca hücre ve nükleusların pleomorfik görünümüleri sayılmaktadır.²⁹ Çalışmamızda ise, hiperkromatik nükleus, pleomorfik görünüm gibi histopatolojik değişiklikler saptanan epitel hücreleri ile kendini gösteren epitel hasarının, PEX bulunan ve/veya TM kullanılan gruplarda farklı oranlarda izlendiği, buna karşın PEX bulunmayan ve boya kullanılmayan kontrol grubunda epitelyal dejenerasyon bulgularına rastlanmadığı görülmüştür. TM kullanımının normal gözlerde lens epitelinde dejenerasyona neden olurken, PEX'li gözlerde muhtemelen mevcut olan dejenerasyonun şiddetini arttırdığı düşünülmüştür.

Sonuç olarak kapsülün görünürlüğünü artırarak kapsüloreksisi önemli ölçüde kolaylaştırabilen TM, %0.06 konsantrasyonda, PEX bulunmayan gözlerde hafif düzeylerde, PEX sendromlu gözlerde ise daha sık ve daha belirgin düzeylerde lens epitel hücre hasarına neden olmaktadır. TM'nin kapsüloreksis sonrasında geride kalan epitel hücrelerinde kalıcı yapısal değişikliklere neden olduğu varsayıldığında ileride epitel hücre proliferasyonuna bağlı gelişebilecek arka kapsül kesafetini azaltmada rol oynayabileceği öngörülebilir. Bu konuyla ilgili uzun takip süreli ve karşılaştırmalı çalışmalarla değerli sonuçlara ulaşılması mümkün olacaktır. Bu gün için elde ettiğimiz verilere dayanarak, boyanın toksisite açısından masum olmadığı ve deneysel olarak gösterilmiş karsinojenik ve teratojenik özellikleri göz önüne alındığında TM'nin rutin olgularda değil, endikasyonları dahilinde ve mümkün olan en düşük konsantrasyonlar ve dozlarda kullanımının uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR/REFERENCES

1. Gimbel HV, Neuhann T.: Development, advantages, and methods of the continuous circular capsulorhexis technique. J Cataract Refract Surg. 1990;6:31-37.
2. Melles GRJ, de Waard PWT, Pameyer JH, et al.: Trypan blue capsule staining to visualize the capsulorhexis in cataract surgery. J Cataract Refract Surg. 1999;25:7-9.
3. Fritz WL.: Fluorescein blue, light-assisted capsulorhexis for mature or hypermature cataract. J Cataract Refract Surg. 1998;24:19-20.
4. Cimetta DJ, Gatti M, Lobianco G.: Haemocoloration of the anterior capsule in white cataract CCC. Eur J Implant Refract Surg. 1995;7:184-185.
5. Pandey SK, Werner L, Escobar-Gomez M, et al.: Dye-enhanced cataract surgery. Part 1: anterior capsule staining for capsulorhexis in advanced/white cataract. J Cataract Refract Surg. 2000;26:1052-1059.
6. Unlu K, Askunger A, Soker S, et al.: Gentian violet solution for staining the anterior capsule. J Cataract Refract Surg. 2000;26:1228-1232.
7. Chang YS, Tseng SY, Tseng SH.: Comparison of dyes for cataract surgery. Part 2: efficacy of capsule staining in a rabbit model. J Cataract Refract Surg. 2005;31:799-804.
8. Jacob S, Agarwal A, Agarwal A, et al.: Trypan blue as an adjunct for safe phacoemulsification in eyes with white cataract. J Cataract Refract Surg. 2002;28:1819-1825.
9. Chung KT.: The significance of azo-reduction in the mutagenesis and carcinogenesis of azo dyes. Mutat Res. 1983;114:269-281.

10. Ema M, Kanoh S.: Studies on the pharmacological bases of fetal toxicity of drugs. Effect of trypan blue on the pregnant rats and their offspring. *Nippon Yakurigaku Zasshi*. 1982;79:369-381.
11. Norn MS.: Per operative trypan blue vital staining of corneal endothelium. Eight years' follow up. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1980;58:550-555.
12. Fine IH, Hoffman RS.: Phacoemulsification in the presence of pseudoexfoliation: Challenges and options. *J Cataract Refract Surg*. 1997;23:160-165.
13. Gimbel HV, Chin PK, Ellant PJ.: Cataract surgery update: Capsulorhexis. *Ophthalmology Clinics of North America "Cataract surgery update: Phacoemulsification"*. 1995;8;3:441-455.
14. Norn MS.: Trypan blue. Vital staining of cornea and conjunctiva. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1967;45:380-389.
15. Stocker FW, King EH, Lucas DO, et al.: Clinical test for evaluating donor corneas. *Arch Ophthalmol*. 1970;84:2-7.
16. Hielb W, Gunther B, Meinert H.: Substances for staining biological tissues: use of dyes in ophthalmology. *Klin Monatsbl Augenheilkund*. 2005;222:309-311.
17. Singh AJ, Sarodia UA, Brown L, et al.: A histological analysis of lens capsules stained with trypan blue for capsulorhexis in phacoemulsification cataract surgery. *Eye*. 2003;17:567-570.
18. Winkler J, Lünsdorf H, Wirbelauer C, et al.: Immunohistochemical and charge-specific localization of anionic constituents in pseudoexfoliation deposits on the central anterior lens capsule from individuals with pseudoexfoliation syndrome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2001;239:952-960.
19. Ruotsalainen J, Tarkkanen A.: Capsule thickness of cataractous lenses with and without exfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol*. 1987;65:444-449.
20. Schlötzer-Schrehardt U, Dörfler S, Naumann GOH.: Immunohistochemical localization of basement membrane components in pseudoexfoliation material of the lens capsule. *Curr Eye Res* 1992;11:343-355.
21. Chowdhury PK, Raj SM, Vasavada AR.: Inadvertent staining of the vitreous with trypan blue. *J Cataract Refract Surg*. 2004;30:274-276.
22. Fritz WL.: Digital image analysis of trypan blue and fluorescein staining of anterior lens capsules and intraocular lenses. *J Cataract Refract Surg*. 2002;28:1034-1038.
23. Arıcı MK, Arıcı DS, Erdoğan H, ve ark.: Tripan mavisinin göz içi dokulara etkisinin deneysel olarak araştırılması. *M N Oftalmol*. 2002;9:10-11.
24. Veckeneer M, van Overdam K, Manzer J.: Ocular toxicity study of trypan blue injected into the vitreous cavity of rabbit eyes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2001;239:698-704.
25. Feron EJ, Veckeneer M, Parys-Van Ginderdeuren R, et al.: Trypan blue staining of epiretinal membranes in proliferative vitreoretinopathy. *Arch Ophthalmol*. 2002;120:141-144.
26. Takmaz T, Can B, Can İ.: Tripan mavisinin lens ön kapsül epitel hücrelerine etkisinin Transmisyon Emisyon Elektron Mikroskopunda değerlendirilmesi. *M N Oftalmol*. 2003;10:214-218.
27. Wollensak G, Sporn E, Pham DT.: Biomechanical changes in the anterior lens capsule after trypan blue staining. *J Cataract Refract Surg*. 2004;30:1526-1530.
28. Rangaraj NR, Ariga M, Thomas J.: Comparison of anterior capsule electron microscopy findings with and without trypan blue stain. *J Cataract Refract Surg*. 2004;30:2241-2242.
29. Jongebloed WL, Kalicharan D, Los LI, et al.: Morphological aspects of human lens capsules. A comparative LM, SEM and TEM examination. *Doc Ophthalmol*. 1991;78:317-324.