

Endoftalmi Modelinde Vitreus Aspirasyon Biyopsisi ile Çeşitli Kesim Hızlarındaki Vitrektomi Materyellerinin Sitolojik Düzeyde Karşılaştırılması*

Mustafa ELÇİOĞLU¹, Fatih Mehmet MUTLU², Nesrin UYGUN³, Fatma KÖKSAL⁴

ÖZET

Göz içi enfeksiyon, enflamasyon ve neoplazmaların tanısında vitreus örneklerinin sitolojik incelemeleri büyük önem taşımaktadır. Uygulanan vitrektomiler sırasında elde edilen vitreus aspirasyon materyellerinde vitrektomi probunun iç silindiriyle oluşturulan giyotin tarzı kesme darbelerinin hücre membranlarını etkileyebileceği bildirilmiştir. Vitreus aspirasyon biyopsisinin, vitrektomi materyellerine üstünlüğünün olup olmadığını araştırmak amacıyla eksperimental endoftalmi modelleri oluşturuldu. Bu amaçla 8 tavşanın 8 gözüne, midvitreusa aynı oranlarda stafilokokus aureus inoküle edildi. Her bir göze önce vitreus aspirasyon biyopsisi, hemen arkasından yazarın (M.E.) geliştirmekte olduğu vitrektomi cihazı (Vitrektom C2A) ile vitrektomi uygulandı. Vitrektomi sırasında farklı hızlar (100, 300, 600 kesim/dk.) kullanılarak vitreus örnekleri alındı. Dört farklı kategoride toplanan 32 değişik vitreus materyeli sitolojik incelemeye alındı. Hazırlanan Cytopsin preparatları May-Grünwald Giemsa ile boyandı. Hücrelerin morfolojik özellikleri, sitoplasmik ve nükleer membranlarının intakt olup olmadığı ve sayısal farklılık gösterip göstermediği araştırıldı. Sonuç olarak aspirasyon yoluyla elde edilen vitreus materyeli ile vitrektomi materyelleri arasında anlamlı düzeyde bir farkın bulunmadığı saptandı.

Anahtar Kelimeler: Eksperimental, endoftalmi, vitrektomi, sitoloji

SUMMARY

COMPARISON OF VITRECTOMY MATERIALS OBTAINED FROM DIFFERENT CUTTING SPEEDS WITH VITREOUS ASPIRATION BIOPSY AT A CYTOLOGICAL LEVEL ON THE ENDOPHTHALMIA MODEL

The cytologic evaluations of the vitreous specimens are extremely important for the diagnosis of intraocular infection, inflammation and neoplasms. It has been reported that the guillotine-like cutting blows by the inner cylinder of the vitrectomy probe may affect cell membranes of the vitreous specimens obtained during vitrectomy. Experimental endophthalmia models were developed to study whether there is a superiority of vitreous aspiration biopsy to vitrectomy materials. With this aim equal amounts of Staphylococcus aureus were inoculated into the midvitreous of 8 eyes of 8 rabbits. Vitreous aspiration biopsy followed by vitrectomy with the vitrectomy device being developed by the author (M.E) was performed on each eye. Vitreous specimens

Geliş: 24.1.1995

Kabul: 16.3.1995

Yazışma: Mustafa Elçioğlu Hüsrevpaşa sk 40 Hisar apt D.11 Fatih İstanbul

* 13-18.12.1994 tarihinde TOD XVII. Kış Sempozyumunda sunulmuştur

1 Yrd Doç Dr, Kocaeli ÜTF Göz Hastalıkları ABD

2 Uz Dr, Kocaeli Derince Asker Hast. Göz Kli.

3 Öğ Gör Dr, İstanbul Ü Cerrahpaşa TF Patoloji ABD

4 Uz Dr, İstanbul Ü Cerrahpaşa TF Mikrobiyoloji ABD

Vitreusu tutan enfeksiyon, enflamasyon, neoplazma ve diğer bazı hastalıkların tanısında vitreus örneğinin sitolojik incelemeleri büyük önem taşımaktadır. Bilindiği gibi vitreus örneği; aspirasyon biyopsisi ile veya vitrektomi sırasında elde edilebilmektedir.¹⁻³

Ancak bazı yazarlar, vitrektomiler sırasında elde edilen vitreus materyellerinde vitrektomi

were obtained using different speeds (100, 300, 600 cuts/minute) during vitrectomy. 32 vitreous specimens obtained under 4 different categories were cytologically analyzed. The Cytopsin preparations were dyed with the May-Grünwald Giemsa technique. The morphological properties of the cells, the intactness of the cytoplasmic and nuclear membranes and the cell numbers obtained were evaluated. Results have shown that there was no significant difference between the vitreous specimens obtained by aspiration biopsy and vitrectomy. *Ret-vit 1995; 3:187-91*

Key Words: Experimental endophthalmia, vitrectomy, cytology

probenun giyotin tarzı darbelerinin hücre membranlarını etkileyebileceğini bildirmişler ve sitolojik tanı için vitreus aspirasyon biopsisi alınmasının daha uygun olduğunu belirtmişlerdir.^{4,5} Bazı yazarlar ise tersine, düşük kesim hızları uygulanan vitrektomilerde hücrelerin etkilenmediklerini bildirmişlerdir.^{2,3}

Aspirasyon biyopsisinin ve çeşitli kesim hızlarındaki vitrektomi materyellerinin birbirlerine olası üstünlüğünü araştırmak amacıyla bu iki yöntemin sitolojik düzeyde karşılaştırılmasını planladık.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmada stafilokokus aureus ile endoftalmi oluşturduğumuz gözlerde sitolojik incelemeler yaptık. Kullandığımız stafilokokus aureus suşu insan farensi orjinli idi. Plasma koagülaz(+), kanlı plakta beta hemoliz yapmakta ve pay besi yerinde turuncu renkte pigment oluşturmaktaydı. Taze pasajların eldesi için bakteri 37 derecede 24 saat balıklı buyonda inkübe edildi. Bakteri yoğunluğunun ayarlanmasında Mc Farland'ın I no'lu bulanıklık tüpünden yararlanıldı. Önce serum fizyolojik ile ml.de 300.000.000 CFU'luk canlı bakteri süspansiyonu hazırlandı. Süspansiyon serum fizyolojik ile seri tarzda dilüe edilerek, intravitreal enjeksiyon için 15.000 CFU/0.1 ml. haline getirildi.

Tavşanlara ketamin hydrochloride (50 mg/kg) ve xylazine (5 mg/kg) ile intramuskuler genel, proparacaine hydrochloride ile topikal anestezi uygulandı. Tüberkülin enjektörü ve 26 G.lik iğne ile limbusun 1,5 mm. gerisinden 0,1 ml.lik canlı bakteri süspansiyonu midvitreusa inoküle edildi. Bu amaçla ortalama 2,5 kg ağırlığındaki 8 tavşanın sol gözleri kullanıldı. Üç gün sonra yapılan muayenede tipik akut enflamasyon bulguları saptandı (derin silier hiperemi, korneada hafif ödem, ön kamarada

yoğun fibrinöz reaksiyon, iriste belirgin hiperemi gelişmiş ve oftalmoskopide fundus detayı kaybolmuştu).

Tavşanlara yukarıda sözü edilen ketamin anestezi tekrar edildi. Pupillalar %1'lik siklopentolate ve %10'luk fenilefrin ile genişletildi. Tavşan lensinin büyük olması nedeniyle limbusun 5 mm. gerisinden sklerotomi yapıldı.⁶ Önce aspirasyon biyopsisi, hemen arkasından vitrektomi uygulandı. Vitreus aspirasyon biyopsisi için tüberkülin enjektörlerine takılan 20 G.luk iğne kullanıldı. Vitrektomi ile vitreus materyellerinin elde edilmesinde yazarın⁷ geliştirmekte olduğu vitrektomi cihazı (Vitrektom C2A) ve disposable ocutome (çalışmamızda 20 G Storz premiere microvit vitreus-cutter) probu kullanıldı. Vitrektomi sırasında farklı hızlar (100, 300, 600 kesim/dk). uygulandı, enfüzyon açılmadı, aspirasyon ise ortalama 100 mmHg. de tutuldu. Her defasında ortalama 0,4-0,5 ml'lik saf vitreus örneği alındı ve ayrı ayrı tüberkülin enjektörlerine aktarıldı. 8 tavşan gözünden dört farklı kategoride toplanan 32 değişik vitreus materyeli ortalama +4 derecede muhafaza edildi ve 3 saat içinde sitolojik incelemeye alındı.

Hücre eldesi için 750 devir/dak.lık santrifüjde 5 dakika tutuldu. Hazırlanan Cytopsin preparatları; enflamatuar hücrelerin morfolojik özelliklerini belirginleştiren May-Grünwald Giemsa boyası ile boyandı. Bu boya ile hücrelerin sitoplasmik ve nükleer membranlarının intakt olup olmadığı araştırılabilmektedir.⁸ Vitreus sitolojisinin değerlendirilmesinde Huang'ın önerdiği sınıflamalar kullanıldı.⁸ Hücrelerin sayısal yoğunluğu 0 ile 4+ arasında değerlendirildi (0: hiç hücre bulunmaması, 1+: birkaç, 2+:az, 3+: orta, 4+ tüm mikroskop alanını kaplayacak kadar çok sayıda hücre. Hücre morfolojisinin korunması sitoplasmik ve nükleer membranların intakt kalıp kalmasına göre ise: zayıf, orta, iyi).

BULGULAR

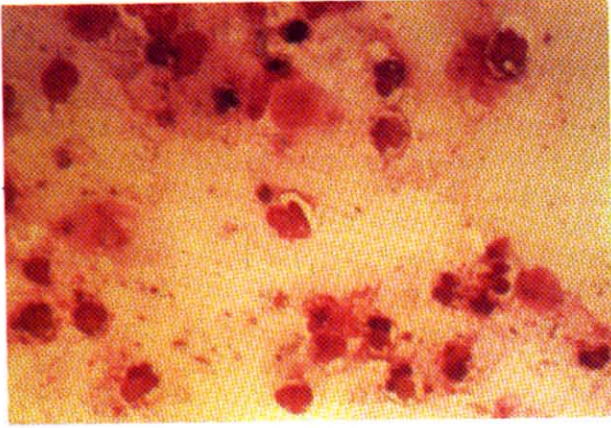
Değerlendirme "kör-yöntem" ile (hangi örneğin ne tip bir yöntemle alındığı bilinmeksizin) sitoloji konusunda deneyimli bir patolog tarafından kalitatif olarak yapıldı. Tüm örneklerde akut enflamasyonu gösteren yoğun polimorf nüveli lökosit ve lenfositler vardı.

Hücre morfolojisi, nükleer ve sitoplasmik membranların korunması açısından yapılan değerlendirmede; aspirasyon biyopsi ile alınan bir örnekte "orta", 300 kesim/dk.lık vitrektomi ile alınan iki örnekte "orta", diğer kalan 29 örnekte ise "iyi" düzeyde morfolojik özelliklerin korunduğu saptandı.

Hücre yoğunluğu açısından yapılan değerlendirmede ise; aspirasyon biyopsisi ile alınan üç örnekte 3+, 100 kesim/dk.lık vitrektomi ile

alınan iki örnekte 3+, 300 kesim/dk.lık vitrektomi ile alınan üç örnekte 3+, 600 kesim/dk.lık vitrektomi ile alınan iki örnekte ise 3+, bir örnekte ise 3+, bir örnekte ise 2+, diğer kalan 21 örnekte ise 4+ olarak bulundu. Tüm preparatlara polimorf nüveli lökositler ve lenfositler hakimdi ayrıca koloniler halinde bakteriler ve az oranda yer yer vitreus fibrilleri gözlenmekte idi (Res 1-4)

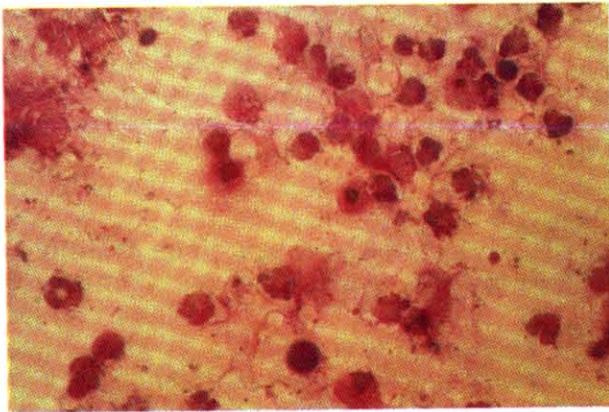
Sitolojik bulgular paried t-testi ile değerlendirildi. Aspirasyon biyopsisi ile elde edilen bulgular ile üç farklı hızda alınan vitrektomi örnekleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Üç farklı vitrektomi hızında (100, 300, 600 kesim/dk.) elde edilen değerler kendi aralarında karşılaştırıldı. Gruplar arasında benzer şekilde istatistiksel anlamlı bir farklılığa rastlanmadı ($p>0,05$) (Tablo-1)



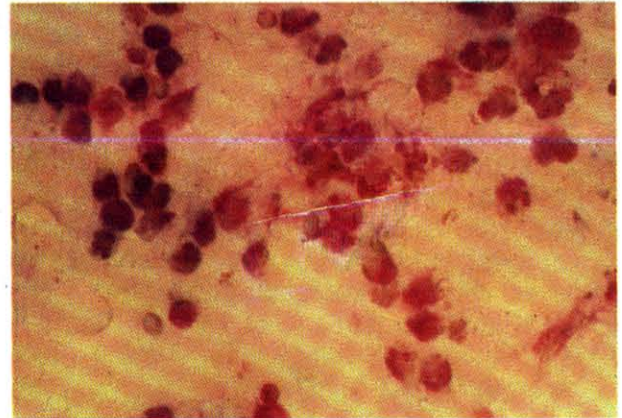
Resim 1: Vitreus aspirasyon biyopsisi; May-Grunwald Giemsa ile boyanmış Cytopsin preparatı, x500 büyütme yoğun polimorf nüveli lökosit ve lenfositler



Resim 2: Kesim hızı 100/dk. iken alınan vitreus örneği; May-Grunwald Giemsa ile boyanmış Cytopsin preparatı, x500 büyütme, yoğun polimorf nüveli lökosit ve lenfositler



Resim 3: Kesim hızı 300/dk. iken alınan vitreus örneği; May-Grunwald Giemsa ile boyanmış Cytopsin preparatı, x500 büyütme, yoğun polimorf nüveli lökosit ve lenfositler



Resim 4: Kesim hızı 600/dk. iken alınan vitreus örneği; May-Grunwald Giemsa ile boyanmış Cytopsin preparatı, x500 büyütme, yoğun polimorf nüveli lökosit ve lenfositler

Tablo 1
Vitreus örneklerinin sitolojik değerlendirilmesi

Tavşan no	aspirasyon biopsisi	100 k/dk vt örn	300 k/dk vt örn	600 k/dk' vt örn
1	4+, iyi	4+, iyi	4+, iyi	4+, iyi
2	3+, iyi	4+, iyi	4+, iyi	4+, iyi
3	3+, iyi	4+, iyi	4+, iyi	4+, iyi
4	4+, iyi	4+, iyi	3+, iyi	4+, iyi
5	4+, orta	3+, iyi	3+, orta	3+, iyi
6	4+, iyi	4+, iyi	3+, iyi	4+, iyi
7	3+, iyi	4+, iyi	4+, iyi	2+, iyi
8	4+, iyi	3+, iyi	4+, orta	3+, iyi

k/dk vt örneği: kesim/dakikalık vitrektomi örneği

1+ /2+ /3+ /4+: hücre yoğunluğu kriterleri

Zayıf-orta-iyi: hücre morfolojisinde korunma kriterleri

TARTIŞMA

Vitreus örneklerinin incelenmesiyle oküler enflamasyon, enfeksiyon ve neoplazmalar hakkında değerli bilgiler sağlanabilmektedir. Vitreus örnekleri, aspirasyon biopsisi ile veya vitrektomi sırasında elde edilebilmektedir.¹⁻³

Vitreus aspirasyon biopsisi oldukça uzun zamandır kullanılan bir yöntemdir. Uygulanması kolay ve pratiktir, her yerde yapılabilir. İşlem için tüberkülin enjektörü ve iğne gerekmektedir. Ancak yapımı sırasında özellikle kıvamlı normal vitreusa rastlandığında kontrolsüz vitreo-retinal traksiyon oluşturabileceği bildirilmiştir.¹⁻³ Traksiyon, özellikle endoftalmide çok daha kolay yırtılabilir hale gelen retina için büyük önem taşımaktadır. Vitrektomi sırasında ise probun hareketli giyotin kesicisi, vitreusu kesip aspire ettiğinden traksiyonel sorunları en aza indirmektedir.^{1-3,9} Char ve ark. vitrektomi yöntemi ile elde edilen örneklerde hücresele ayrıntıların bozulduğunu bildirmişlerdir.^{4,5} Verbraeken³ ve Nussenblatt² vitrektomi ile sitolojik örneğin alınabileceğini, ancak bu işlem için düşük kesim hızlarının daha uygun olduğunu bildirmişlerdir. Huang⁸ ise yüksek kesim hızlarıyla yapılan vitrektomilerde bile vitreus örneklerinde sitolojinin etkilenmediği kanısına varmıştır. Hücrelerin kalitatif ve kantitatif korunması, sitolojik tanı için çok önemli parametrelerdir.

Endoftalmide enflamatuar odaklar vitreus içinde cebler halinde yayılmaktadır. Aspirasyon biopsisinde bu süpüratif odaklara rastlanıl-

ması için işlem indirekt oftalmoskopi altında yapılmalı ve likid vitreus örnekleri alınmalıdır.¹ Ancak endoftalmide vizualizasyon çoğu kez mümkün olamamakta, aspirasyon körlemesine vitreus kavitesinden yapılmaktadır. Ayrıca normal kıvamlı vitreus aspirasyon iğnesini tıkayabilmektedir. Ancak vitrektomide bu gibi sorunlarla karşılaşmadığından enflamatuar ceblere daha rahat ulaşılabilir.¹

Verbraeken³ başarısız vitreus örneği olası nedenlerini; vitrektomide kullanılan yüksek kesim hızı, örneklerin sitoloji laboratuvarına ulaştırılması ve fiksasyonuna kadar geçen sürede otolize uğraması, santrifüjde yüksek devir kullanılması olarak sıralamaktadır. Başarı şansını arttırmak için saf vitre örneği alınmalı (bu sırada enfüzyon kapalı tutulmalı), hücreler BSS içinde dilüe olmuşsa öncelikle Millipore fitreden geçirilmelidir.¹⁻³

Enstrom¹⁰, tavşan gözlerinde stafilokokus aureus'un intravitreal inokülasyonu ile endoftalmi modelleri oluşturmuş, yaptığı histopatolojik çalışmalarda 3. günde tipik düzeyde akut enflamasyon, 7-30. günlerde ise kronik enflamasyon bulguları saptandığını ve nekrotik enflamatuar hücrelerin belirdiğini bildirmiştir. Çalışmamızda inokülasyon için virulansı ve sayısı yüksek canlı bakteri kullanmamız, akut enflamasyonun olgunlaştığı 3. günde saf vitreus örneği almamız, örneklerimizin 3 saat gibi kısa bir sürede sitopatolojik incelemeye konmuş olması örneklerimizin tanısal başarı şansını arttırmıştır. Preparatlar arasında gözlenen

minimal farklar ise sitolojik tanıyı etkileyecek düzeyden çok uzaktır.

Sitolojik tanı açısından aspirasyon biyopsisinin vitrektomi materyellerine bir üstünlüğü bulunmaması, vitrektomi sırasında vitreo-retinal traksiyon riskinin daha az olması ve kesilmekte olan odakların daha kontrollü olması nedeniyle vitrektomi uygulanacak olgularda, vitrektomiye ilave olarak aspirasyon biyopsisi yapılmasının gereksiz olduğu kanaatine vardık.

KAYNAKLAR

1. Parke II DW, Brinton GS: Endophthalmitis, in: Infections of the eye, Tabbara KF, Hyndiuk RA, first edition, Little, Brown and company, Boston/Toronto, 1986, pp: 563-85
2. Nussenblatt RB, Palestine AG: Uveitis Fundamentals and Clinical Practice- Surgical Treatment in Uveitis, ch. 8, Year Book Medical Publishers Inc. Chicaco, 1989, pp: 145-62
3. Verbraeken H: Diagnostic Vitrectomy, Türk Oftalmoloji Derneği XVII (1994) Kış Sempozyumu (Vitreo-retinal Cerrahi) Bülteni (Baskıda).
4. Char DH, Ljung BM, Miller T, Philips T: Primary intraocular lymphoma (ocular reticulum cell sarcoma) diagnosis and management, Ophthalmology 1988; 95: 625-30
5. Char DH, Margolis L, Newman AB: Ocular reticulum cell sarcoma, Am. J Ophthalmol 1981, 91: 480-3
6. Machemer D: Development of vitreous surgery and Training for vitreous surgery: Animal surgery, in: Basic and advanced vitreous surgery, Blankenship GW, Fidia Research Series, Liviana Press, Padova, 1986, vol. II, pp: 1-8
7. Elçioğlu M: Experimental amaçlı bir vitrektomi cihazı protipi, T.Ö.D. XXVII (1993) Ulusal Kongre Bülteni (Baskıda)
8. Huang JS, Russack V, Aguilar MF, Gharib M, Freeman WR: Evaluation of cytologic speccimens obtained during experimental vitreous biopsy, Retina, 1993; 13:65.
9. Charles S: Vitrectomy for retinal detachment, Trans. Ophthalmol Soc, 1980; 100: 542-9
10. Engstrom RE, Mondino BJ, Glasgow BJ, Halabi HP, Adamu SA: Immune Responce to Staphylococcus aureus Endophthalmitis in a Rabbit Model, Invest Ophthalmol Vis Sci 1991; 32 : 1423-33