

# Burun Spreylerinde Prezervatif Olarak Kullanılan Benzalkonyum Klorid Ve Potasyum Sorbat'ın Sıçan Burun Mukozasına Etkileri

M. Erkan Lebe\*, Banu Lebe\*\*, Altuğ Yavaşoğlu\*\*\*, Meral Baka\*\*\*\*, Osman Yılmaz\*\*\*\*, Bülent Şerbetçioğlu\*\*\*\*\*

\*Bayındır Devlet Hastanesi, İzmir

\*\*Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD, İzmir

\*\*\*Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, İzmir

\*\*\*\*Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Laboratuvarı, İzmir,

\*\*\*\*\* Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz AD, İzmir

**Giriş:** Yaygın olarak kullanılan koruyucu maddeler Benzalkonyum klorid (BZC) ve Potasyum Sorbat (PS) yalnızca burun damlalarında değil göz damlaları ve kozmetik maddelerinde de kullanılmaktadır. Bununla beraber bu maddelerin irritasyonu sonucu pek çok yan etki bildirilmiştir.

**Materyal Metod:** Aynı jenerasyondan seçilmiş 44 erkek sıçanın burunlarına bir hafta ve dört hafta sürelerle BZC ve PS uygulanarak bu maddelerin klinik ve histolojik etkileri araştırıldı.

**Sonuç:** Tüm gruplarda uygulamanın altıncı gününden itibaren hapşırma ve burun kaşıma semptomları izlendi. Histolojik değişiklikler ışık mikroskobu ile araştırıldı. Semptomatik ve histolojik değişimlerin uygulama süresi ile uyumlu olarak artış gösterdiği izlendi. Her iki prezervatif maddenin de sıçan solunum yolu epiteline zararlı etkilerinin olduğu sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Potasyum Sorbat, Benzalkonyum Klorid, Nazal Mukoza.

## The Effect of Nasal Spray Preservatives Benzalkonium Chlorid and Potassium Sorbate On Rat Nasal Mucosa.

**Objectives:** The preservatives benzalkonium chlorid (BZC) and potassium sorbate(PS) are wideley used, not only for nasal drops, but also for eye drops and cosmetics. However, there have been many reports about side effects to be result of irritation induced by BZC and PS.

**Material and Methods:** BZC and PS were administrated to the noses of 44 male rats for one and four weeks long and then histological and clinical changes were investigated.

**Results:** Symptomatic changes such as sneezing and nasal rubbing were observed in almost all groups by the 6th day of administration. The histological changes were observed by light microscope The preservatives induced nasal lesions were noted. The symptomatic and histologic changes were pronounced with the prolonged duration of administration.

**Conclusion:** It is concluded that both BZC and PS have harmful effects on respiratory ephitel on rat.

**Key words:** Benzalkonium chlorid, Potassium sorbate, Nasal mucosa.

Solunum yolu hastalıklarında sistemik veya lokal etkili çeşitli preparatlar kullanılmaktadır. Özellikle burun damlaları kulak burun boğaz hekimlerince yaygın olarak tercih edilmektedir. Burun damlaları etken maddenin yanı sıra insanlar için zararlı olabilecek osmoregülatörler, viskoz regülatörler, prezervatifler, solventler, pH regülatörleri gibi çeşitli ek kimyasal maddeler de ihtiva ederler.<sup>1</sup>

Burun damlası kullanan hastalarda bazı yan etkilerin geliştiği rapor edilmiş ve bu yan etkilere yönelik yapılan araştırmalarda toksik etkilerden özellikle kullanılan prezervatif maddelerin sorumlu olduğu ileri sürülmüştür.<sup>1-4</sup>

Topikal nazal preparatların hemen hepsi, çok sayıda doz içeren aygıtlar aracılığı ile kullanıldığından bunların kontamine olması, preparatın dayanıklılığını azaltabilir, hatta nazal ve sistemik enfeksiyonlara bile yol açabilir. Bezalkonyum klorid, potasyum sorbat, klorbutol, klorheksol, sodyum metabisulfit ve propil-p-hidroksibenzoat günümüzde kullanılan prezervatiflerden bazılarıdır.<sup>1,5</sup>

Benzalkonyum klorid bunların içinde en sık kullanılanıdır. Bezalkonyum klorid güçlü germisidal etkiye sahip bir kuarterner amonyum elementtir ve bakterilere olduğu kadar memeli hücrelerine de toksik etkisi vardır.<sup>2,3</sup> Potasyum sorbat genellikle gıda sektöründe kullanılan bir prezervatiftir. Küf ve maya üremesini etkili bir şekilde inhibe eder ve jinekolojide mantar enfeksiyonlarının tedavisinde de kullanılır.<sup>5</sup>

Bu çalışmada buruna uygulanan topikal formülasyonlarda yaygın olarak kullanılan benzalkonyum klorid ve potasyum sorbatın uzun ve kısa süreli uygulanmaları sonrasında burun içindeki solunum yolu epiteli üzerinde meydana getirebileceği değişiklikleri ışık mikroskopu düzeyinde inceleyerek olası toksik etkilerinin ortaya konması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Benzalkonyum klorid ve potasyum sorbatın uzun ve kısa dönem kullanımlarında olası zararlı etkilerini göstermek için yapılan bu in vivo çalışmada aynı laboratuarda üretilmiş ve aynı jenerasyondan, ağırlıkları 350-450 gr arasında olan 56 sıçan beş gruba bölünerek incelenmiştir.

1.Grup : Günde iki kez her bir burun deliğine 7 ml olmak üzere mikropipet yardımıyla saat 08:00 ve 20:00 da 4 hafta boyunca intranazal % 0,9 NaCl solüsyonu uygulanmıştır.

2.Grup : Günde iki kez her bir burun deliğine 7 ml olmak üzere mikropipet yardımıyla saat 08:00 ve 20:00 da 1 hafta boyunca intranazal % 0,01 oranında benzalkonyum klorid solüsyonu uygulanmıştır.

3.Grup : Günde iki kez her bir burun deliğine 7 ml olmak üzere mikropipet yardımıyla saat 08:00 ve 20:00 da 1 hafta boyunca intranazal % 0,12 oranında potasyum sorbat solüsyonu uygulanmıştır.

4.Grup : Günde iki kez her bir burun deliğine 7 ml olmak üzere mikropipet yardımıyla saat 08:00 ve 20:00 da 4 hafta boyunca intranazal % 0,01 oranında benzalkonyum klorid solüsyonu uygulanmıştır.

5.Grup : Günde iki kez her bir burun deliğine 7 ml olmak üzere mikropipet yardımıyla saat 08:00 ve 20:00 da 4 hafta boyunca intranazal % 0,12 oranında potasyum sorbat solüsyonu uygulanmıştır.

Bir ve dört haftalık uygulamalar sonrasında sıçanlar dekapite edilerek kafa derileri soyuldu ve burun içindeki mukozaya dokunmamaya özen gösterilerek burun boşluğu açığa çıkarıldı. Tüm sıçanlardan standart olarak septumun 1/3 orta ve alt bölgesinden alınan örnekler ışık mikroskopu düzeyinde incelenmek üzere hazırlandı. Hazırlanan preparatlar hematoksilen eozin ile boyandıktan sonra aynı patoloj tarafından silia kaybı, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, skuamöz metaplazi, intraepidermal gland gelişimi, vasküler yapılarda değişiklik ve subepitelyal ödem yönünden hafif, orta, şiddetli veya patoloji izlenmedi şeklinde skorlanarak istatistiksel olarak değerlendirildi.<sup>6</sup>

İstatistiksel analizlerde anlamlılık derecesi olarak  $\alpha = 0.05$  kabul edildi. İntraepitelial gland gelişimi ve skuamöz metaplazi gelişimi, gruplar arasında  $\chi^2$  ile değerlendirildi. Ayrıca gruplar arasında ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve damarsal yapılarda artış skorları kontrol grubu ile Kruskal Wallis metoduyla test edildi. Test sonucunda farkların istatistiksel olarak anlamlı bulunması üzerine gruplar yukarıdaki değişkenler bakımından ikili analizlerinde Bonferroni düzeltmesi yapılarak ( $p = 0.0063$ ) Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi. Ayrıca uzun dönem prezervatif madde uygulanan iki grup arasında Fisher's Exact Test kullanıldı.

## BULGULAR

### Semptomatik Değişiklikler

Hazırlanan solüsyonların sıçanların burnuna uygulanmaya başlamasından sonraki ikinci günden itibaren kontrol grubu dışında hemen hemen tüm sıçanlarda hapşırma ataklarının geliştiği izlendi. Sıçanlara benzalkonyum klorid ve potasyum sorbat uygulanmaya başladıktan yaklaşık 6 gün sonra burunlarında kızarıklık geliştiği ve ön ayakları ile burunlarını kaşıma eylemi gösterdikleri fark edildi. Benzalkonyum klorid uygulanan gruplarda özellikle de 4 hafta prezervatif madde uygulanan gruplarda daha belirgin olmak üzere bazı sıçanlarda burundan sesli solumanın geliştiği gözlemlendi. Kontrol grubunda özellik gösteren hiçbir bulgu gözlenmedi. Tablo 1 ve Tablo 2 de ayrıntılı olarak gruplara göre gelişen semptomlar gösterilmiştir.

## Burun Spreylerinde Prezervatif Olarak Kullanılan Benzalkonyum Klorid Ve Potasyum Sorbat'ın Sıçan Burun Mukozasına Etkileri

**Tablo 1 :** Benzalkonyum Klorid Uygulanan Grupta İzlenen Semptomatik Değişiklikler

Semptom	1 hafta (n=11)	4 hafta (n=11)	Kontrol (n=12)
Burun akıntısı	0	0	0
Hapşırma	11	11	0
Burunda kızarıklık	11	11	0
Nazal sesli solunum	3	5	0

**Tablo 2:** Potasyum Sorbat Uygulanan Grupta İzlenen Semptomatik Değişiklikler

Semptom	1 hafta (n=11)	4 hafta (n=11)	Kontrol (n=12)
Burun akıntısı	0	0	0
Hapşırma	10	9	0
Burunda kızarıklık	10	11	0
Nazal sesli solunum	2	4	0

### Histopatolojik Değişiklikler:

Kontrol grubunda 4 haftalık % 0.9 NaCl uygulamasını takiben yapılan ışık mikroskopik değerlendirmede nazal septumda tamamen sağlıklı yalancı çok katlı tüylü bir solunum yolu epiteli izlendi. Prezervatif solüsyonların uygulandığı gruplarda izlenen temel problemler sırasıyla enflamatuvar hücre infiltrasyonu, damarsal yapılarda artış, intraepitelial gland gelişimi, skuamöz metaplazi ve ödematöz değişiklikler olarak kaydedildi. (Tablo 3-7)

**Tablo 3:** Gruplara göre ödem gelişimi ve şiddeti.

Ödem	Yok	Hafif	Orta	Belirgin
Kontrol Grubu n=12	9	3	-	-
Benzalkonyum klorid 1Hf n=11	1	3	3	4
Benzalkonyum klorid 4Hf n=11	-	4	6	1
Potasyum sorbat 1Hf n=11	2	3	6	-
Potasyum sorbat 4Hf n=11	-	3	7	1

**Tablo 4:** Gruplara göre dokularda izlenen beyaz küre infiltrasyonu ve derecesi.

İnfiltrasyon	Yok	Hafif	Orta	Şiddetli
Kontrol Grubu n=12	12	-	-	-
Benzalkonyum klorid 1Hf n=11	-	5	6	-
Benzalkonyum klorid 4Hf n=11	-	2	1	8
Potasyum sorbat 1Hf n=11	-	7	3	1
Potasyum sorbat 4Hf n=11	-	-	1	10

**Tablo 5:** Prezervatif uygulaması sonrasında gözlenen vaskülaritedeki artışın ve şiddetinin gruplar arasındaki dağılım

Vaskülarite Artışı	Yok	Hafif	Orta	Şiddetli
Kontrol Grubu n=12	10	2	-	-
Benzalkonyum klorid 1Hf n=11	-	-	9	2
Benzalkonyum klorid 4Hf n=11	-	-	1	10
Potasyum sorbat 1Hf n=11	-	-	10	1
Potasyum sorbat 4Hf n=11	-	-	2	9

**Tablo 6:** İntraepitelial gland gelişen örneklerin gruplara dağılımı.

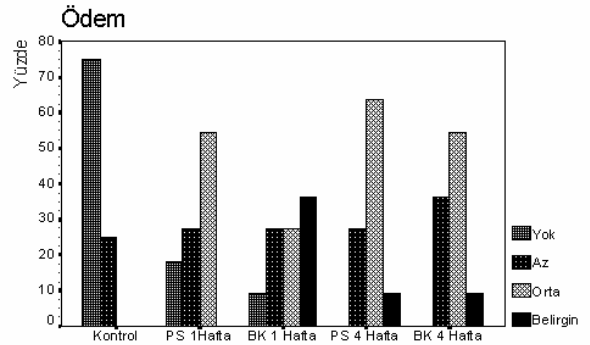
İntraepitelial Gland	Yok	Var
Kontrol Grubu n=12	12	-
Benzalkonyum klorid 1Hf n=11	10	1
Benzalkonyum klorid 4Hf n=11	5	6
Potasyum sorbat 1Hf n=11	11	-
Potasyum sorbat 4Hf n=11	8	3

**Tablo 7:** Skuamöz metaplazi izlenen örneklerin gruplara dağılımı.

Skuamöz Metaplazi	Yok	Var
Kontrol Grubu n=12	12	-
Benzalkonyum klorid 1Hf n=11	11	-
Benzalkonyum klorid 4Hf n=11	5	6
Potasyum sorbat 1Hf n=11	11	-
Potasyum sorbat 4Hf n=11	7	4

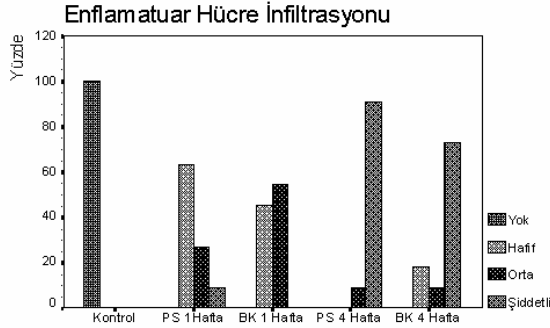
Prezervatif madde uygulanan tüm gruplarda dikkati çeken ilk bulgu ödemdi (Grafik 1). Ödem gelişimi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm gruplar için istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ). Ödem miktarı 4 hafta prezervatif solüsyonu uygulanan gruplarda daha fazla gözlenirken özellikle benzalkonyum klorid uygulanan gruplarda potasyum sorbat uygulanan gruplara göre daha fazla olarak izlendi ancak prezervatif madde uygulanan tüm gruplar arasında ödem yönünden istatistiksel bir anlamlılık saptanmadı ( $p > 0.0063$ ).

**Grafik 1:** Gruplara göre izlenen subepitelial ödem ve ödem şiddeti.

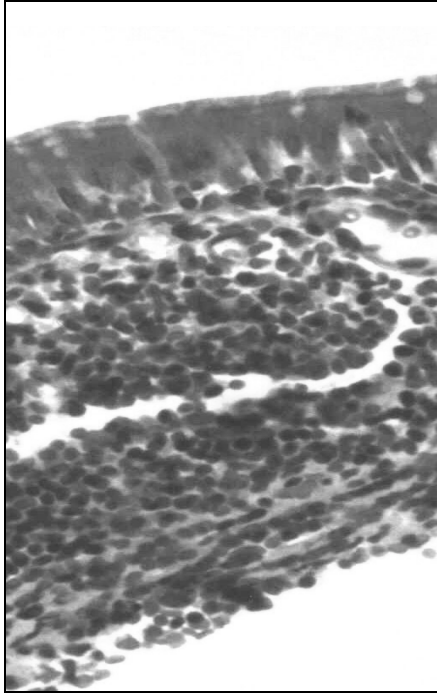


Diğer önemli bulgu nazal mukozadaki enflamatuvar hücre infiltrasyonuydu. Enflamatuvar hücre infiltrasyonu prezervatif solüsyonu uygulanan gruplardaki olgularda hafiften şiddetliye farklı yoğunluklarda tespit edildi (Grafik 2, Resim 1). Prezervatif madde uygulanan gruplar ile kontrol grubu karşılaştırıldığında farkın anlamlı olduğu saptandı ( $p < 0.05$ ).

**Grafik 2:** Gruplarda izlenen enflamatuar hücre infiltrasyonunun görülme sıklığı ve şiddeti.



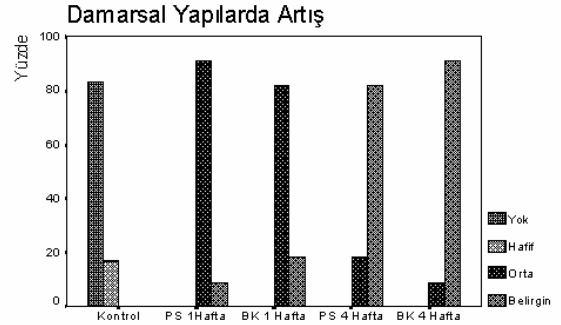
**Resim 1:** 4 hafta potasyum sorbat uygulanan nazal mukozada belirgin enflamatuar hücre infiltrasyonu (H.E. x200).



Enflamatuar hücre infiltrasyonu açısından 1 hafta potasyum sorbat uygulanan grup ile 1 hafta benzalkonyum klorid uygulanan grup ve 4 hafta potasyum sorbat uygulanan grup ile 4 hafta benzalkonyum klorid uygulanan grup arasında istatistiksel olarak bir fark saptanmadı. Ancak 1 hafta ve 4 hafta benzalkonyum klorid uygulanan gruplar ve 1 hafta ve 4 hafta potasyum sorbat uygulanan gruplar kendi aralarında karşılaştırıldıklarında gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ( $p < 0.0063$ ).

Yapılan ışık mikroskopik incelemede dikkat çeken bir bulgu da prezervatif uygulanan gruplarda burun mukozasındaki vasküler yapılarıdaki artışıdır (Grafik 3, Resim 2). Prezervatif madde uygulanan gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ).

**Grafik 3:** Gruplarda izlenen damarsal yapılarıdaki değişimin oranı ve şiddeti.



**Resim 2:** 4 hafta potasyum sorbat uygulanmış nazal mukozadaki vasküler yapılarıdaki artış, doku ödemi ve intraepitelial gland izleniyor (H.E. x100).

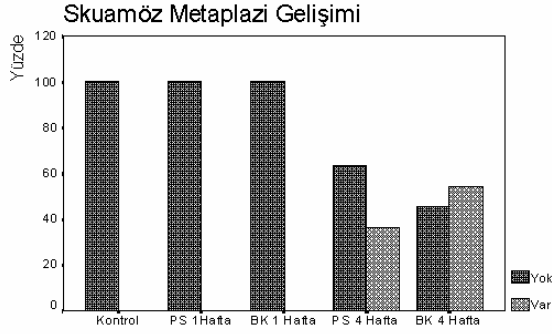


Gruplar kendi aralarında karşılaştırıldıklarında; tıpkı enflamatuar hücre infiltrasyonunda olduğu gibi prezervatif maddelerin birbirinden 1 haftalık ve 4 haftalık kullanımları sonucunda nazal mukozada meydana getirdikleri damarsal yapılarıdaki değişikliklerin istatistiksel olarak farklı olmadığı ancak her iki prezervatifin de 4 hafta kullanımı ile 1 hafta kullanımları sonucu oluşan vasküler değişiklikler ve derecelerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ( $p < 0.0063$ ).

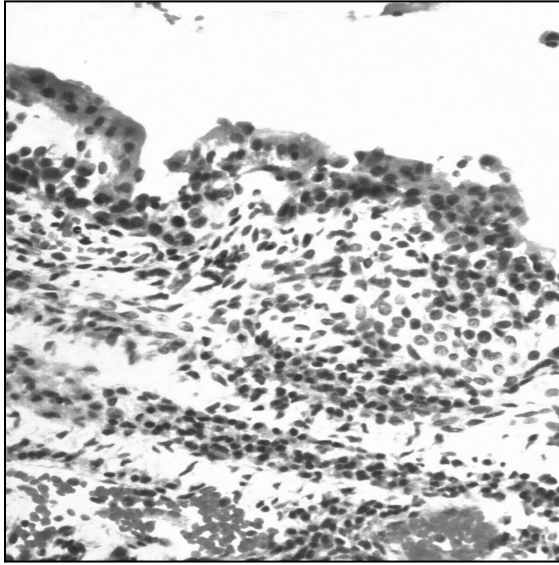
İncelemelerde kaydedilen diğer önemli bulgu nazal mukozada skuamöz metaplazi (Grafik 4, Resim 3) ve intraepitelial gland gelişimiydi (Resim 4). İntraepitelial gland gelişimi skuamöz metaplazinin bir varyasyonu olarak kabul edilebilir. 1 hafta benzalkonyum klorid uygulanan grupta bir olguda izlenen intraepitelial gland gelişimi dışında skuamöz metaplazi ve

intraepitelial gland gelişimi yalnızca 4 hafta prezervatif madde uygulanan gruplarda tespit edildi .

**Grafik 4:** Gruplarda izlenen skuamöz metaplazi olguları



**Resim 3:** 4 hafta BZC uygulanmış nazal mukozada izlenen skuamöz metaplazi (H.E. x200).



Yapılan değerlendirmede kısa ve uzun dönem prezervatif solüsyon uygulamaları arasında skuamöz metaplazi ve intraepitelial gland gelişimi açısından farklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ). 4 haftalık prezervatif uygulanan iki grup arasında ayrıca yapılan değerlendirmede benzalkonyum klorid ve potasyum sorbat kullanılan gruplar arasında bu parametreler bakımından farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı ( $p > 0.05$ ).

**Resim 4:** 4 hafta benzalkonyum klorid uygulanan nazal mukozada gelişen bir intraepitelial gland (H.E. x 200).



## TARTIŞMA

Mukosilier klirens solunum yolunun temel savunma mekanizmasıdır ve mukus taşıyıcı bir bant olarak kabul edilir. Silia fonksiyonlarının sağlıklı olması mukosilier klirensin devamı için şarttır, uygulanan tedavilerle tahrip edilmemesi gerekir. Nazal akuöz ve süspansiyon şeklinde pek çok ilaç kullanılmaktadır. Mukozal püskürtme sistemleri çok sayıda doz içeren aygıtlar olduklarından mikrobiyal üremeyi engellemek için prezervatif maddeler gereklidir. Kullanılan bu maddelerin alerjik ve toksik etkilerinin bulunduğu rapor edilmiştir.<sup>2,4</sup> Bu maddelerin rinitis medikamentoza, yanma, kuruma, iritasyon, epistaksis gibi pek çok lokal yan etkileri de bildirilmiştir. Bu lokal yan etkilere formülasyonlarda kullanılan aktif maddeler yol açıyor olabilir. Ancak bu etkilere kullanılan prezervatif maddeler de sebep olabilir.<sup>7</sup>

Burun damlalarında prezervatif madde olarak en fazla benzalkonyum klorid kullanılmaktadır.<sup>8</sup> Benzalkonyum kloridin burun içindeki solunum epiteli üzerine olumsuz etkilerini gösteren çalışmalar mevcuttur. Bunun yanısıra benzalkonyum kloridin aynı dokular üzerine herhangi bir zararlı etkiye yol açmadığını bildirir yayınlar da vardır. Birbiri ile çelişen bu çalışmalar irdelendiğinde zararlı etkilerin belirgin şekilde gözlemlendiği çalışmaların in vitro modellerde yapıldığı, dokularda belirgin zararlı etkilerin izlenmediği çalışmaların ise in vivo modellerde gerçekleştirildiği dikkat çekmektedir.<sup>9</sup>

Van de Donk ve ark. tarafından % 0.05 EDTA ile birlikte % 0.1 oranında benzalkonyum klorid solüsyonu ile lipofilik bir prezervatif madde olan klorokresolün ve cıvalı bir prezervatif madde olan



timerosalün silier vuru frekansına olan etkileri karşılaştırılmak üzere in vitro olarak araştırılmıştır.<sup>10-12</sup> Benzalkonyum klorid solüsyonu ile 20 dk içerisinde vuru frekansının %30 oranında azaldığı tespit edilmiş ve daha uzun süre etkileşimlerde vuru frekansında azalmanın ve silia üzerine toksik etkilerin daha da belirginleştiği gözlenmiştir. Kontrol grubuna göre vuru frekansı süresinin yarı yarıya azalmasının 1.13 saatte ve vuru frekansının tamamen kaybının da 2 saatin üzerinde geliştiği tespit edilmiştir. Cıvalı ve lipofilik bileşiklerin benzalkonyum kloridden daha fazla toksik etkiye sahip olduklarını rapor eden Van de Donk ve ark. % 0.01 oranında kullanılacak benzalkonyum klorid ve %0.05 oranındaki EDTA yı bu konsantrasyonlarda diğer lipofilik ve cıvalı ajanlara göre daha az toksik olmaları nedeniyle tavsiye etmiştir.

Joki ve ark. in vitro olarak benzalkonyum kloridin kobay ve sıçanların trakeal epitelindeki silier vuru frekansına olan etkilerini araştırmışlar ve silier vuru frekansındaki azalmanın uygulanan benzalkonyum klorid bileşiğinin konsantrasyonuna ve uygulama süresine bağlı olduğunu rapor etmişlerdir.<sup>13</sup> Sıçan trakeasından hazırlanan doku kültürlerinde benzalkonyum kloridin % 0.01 lik konsantrasyonunun silier aktiviteyi 5 dakika içinde durduğunu, % 0.0025 gibi düşük konsantrasyonlarda bu sürenin 30 dakikaya çıktığını bildirmişlerdir. Kobay trakeasından hazırlanan doku kültürlerinde ise benzalkonyum kloridin % 0.0025 gibi düşük konsantrasyonlarda silier vuru frekansında 60 dakika içinde % 27 lik bir azalmaya sebep olduğu tespit edilmiş ve % 0.05 gibi biraz daha yüksek konsantrasyonlarda silier aktivitenin 40 dakika içinde irreversible olarak durduğu bildirilmiştir. Bu in vitro çalışma sonunda ise benzalkonyum kloridin nazal damlalarda kullanılan diğer koruyucu maddelerden daha fazla toksik etkilere sahip olduğu rapor edilmiştir.

Son zamanlarda Hofmann ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada in vitro olarak insan burun mukozasında benzalkonyum klorid içeren 4 nazal sprey ile benzalkonyum klorid içermeyen bir kortikosteroid preparatının silier vuru frekansına etkileri araştırılmış ve sonuçta benzalkonyum klorid içeren 4 nazal spreyden üçünün silier vuru frekansını dramatik bir şekilde azalttığı veya irreversible bir şekilde durdurduğu, benzalkonyum klorid içermeyen nazal spreyin ise hafif ve geçici bir vuru frekansı azalmasına yol açtığı rapor edilmiştir.<sup>14</sup> Bu araştırmacı aynı zamanda benzalkonyum kloridi tek başına burun mukozasına uygulayarak silier vuru frekansının bu

uygulama ile irreversible olarak durduğunu göstermiştir.

Benzalkonyum kloridin insan nazal mukozası üzerine kısa dönem etkileri McMahon ve ark. tarafından araştırılmıştır.<sup>15</sup> Bu in vivo çalışmada 34 sağlıklı gönüllüde sakarin klirens testi uygulanmış ve 10 dakika süreyle % 0.02 oranındaki benzalkonyum klorid solüsyonu uygulamasından sonra ortalama klirens zamanında belirgin bir uzama izlenmiştir. Salin solüsyonu verildiğinde ise aksine klirens zamanında bir kısalma izlenmiştir. Bu tek dozla yapılan çalışmada elde edilen sonuçlara zıt olarak iki hafta boyunca günde iki kez salin solüsyonu, kortikosteroid ve benzalkonyum klorid karışımı ve tek başına benzalkonyum klorid solüsyonlarının uygulanmaları sonrasında elde edilen klirens zamanlarının istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği tespit edilmiştir.

Graf ve Hallen benzalkonyum klorid içeren burun damlalarını uzun süre kullananlarda mukozal şişme oluştuğunu rapor etmişlerdir.<sup>16,17</sup>

Kuboyama ve ark. sıçanlarda burun içine benzalkonyum klorid uygulanmasının intranazal lezyonların gelişmesine yol açtığını göstermişlerdir.<sup>18</sup> % 0.01, % 0.05 ve % 0.1 lik konsantrasyonlardaki benzalkonyum klorid solüsyonları günde 8 kez uygulandıktan sonra yüksek konsantrasyon uygulanan gruplarda daha belirgin olmak üzere epitelyal dökülme, dejenerasyon, ödem veya nötrofilik hücre infiltrasyonu gözlendiğini rapor etmişlerdir.

Berg ve ark. benzalkonyum kloridin in vivo nazal mukoza için potansiyel bir toksik ajan olduğunu göstermişlerdir.<sup>19</sup> Çalışmalarında günde iki kez % 0.031 ve % 0.022 konsantrasyonlarında benzalkonyum klorid içeren iki nazal steroid sprey ve benzalkonyum klorid içermeyen bir nazal steroid sprey kullanılmıştır. Sonuçta burnun anterior kısımlarından alınan örneklerde benzalkonyum klorid kullanılan grupta skuamoz hücre metaplazisi, epitelyal hücre boylarında kısalma, pleomorfizm, silia yoğunluğunda azalma ve goblet hücrelerinde azalma tespit edilirken diğer grupta ve salin solüsyonu uygulanan kontrol grubunda patolojik bir değişikliğe rastlanmamıştır.

Steinsvag ve ark. benzalkonyum klorid içeren nazal topikal steroidlerin insan burun mukozasında in vitro olarak destrüktif etkisi olduğunu göstermişlerdir.<sup>20</sup> Bu araştırmacılar tarafından adenoid dokudan hazırlanan doku kültürlerine % 0.031 ve % 0.022 oranlarında

benzalkonyum klorid içeren kortikosteroidli nazal spreyler, sadece % 0.02 konsantrasyonda benzalkonyum klorid içeren bir sprey ve benzalkonyum klorid içermeyen kortikosteroidli burun spreyleri 10 gün boyunca günde bir kez uygulanmıştır. Sonuçlar inverted faz mikroskobu ve scanning elektron mikroskobu ile değerlendirilmiştir. Benzalkonyum klorid uygulanan gruplarda ilk izlenen bulgu silia virusundaki azalma olmuş ve 10 günlük uygulama sonrasında benzalkonyum klorid konsantrasyonu ile ilişkili bir şekilde sağlıklı epitelin derece derece granüllü ve düzensiz bir epitele dönüştüğü, var olan siliaların da hareketlerini kaybettiği gözlenmiştir. Buna zıt olarak benzalkonyum klorid uygulanmayan grupta silia hareketlerinde ve morfolojik yapıda bir değişim izlenmemiştir. Bu bulgular in vitro ortamda benzalkonyum kloridin insan solunum yolu mukozası üzerine toksik etkiye sahip olduğu hipotezini desteklemektedir.

Bu bulgulara zıt olarak Braat ve arkadaşları yaptıkları in vivo çift kör çalışmada 22 alerjik rinitli hastayı gruplara ayırarak 6 hafta boyunca sırasıyla % 0.02 oranında benzalkonyum klorid içeren kortikosteroid sprey, % 0.02 konsantrasyonunda sadece benzalkonyum klorid içeren solüsyon ve placebo solüsyonu uygulamışlardır.<sup>9</sup> Sonuçlar fonksiyonel olarak ve morfolojik olarak değerlendirilmiştir. Fonksiyonel değerlendirmede tedavi öncesi, tedavi sırasında ve tedavi sonrasında sakkarin transport testi uygulanmıştır. Morfolojik olarak değerlendirmede ışık ve elektron mikroskopları kullanılmıştır. Sakkarin testinde tüm gruplar için anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır. Morfolojik değerlendirmede ışık mikroskobu ile yapılan incelemede tüm gruplarda sağlıklı epitel izlenmiştir. Silia yoğunluğu örnekler arasında farklılık göstermekle birlikte bunun tedavi ile ilişkisiz olduğu belirtilmiştir. Yine çeşitli boyutlarda ödem ve enflamasyon gözlenmekle beraber gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır. Bu bulgularla Braat ve ark. benzalkonyum kloridin in vitro olarak gösterilen toksik etkilerinin in vivo ortamda izlenmediği sonucuna varmışlardır.

Cho ve ark. yaptıkları bir çalışmada % 0.1 ve % 5 oranındaki potasyum sorbat solüsyonları ile % 0.01 ve % 0.1 oranındaki benzalkonyum klorid solüsyonlarını sıçanların burun mukozasına günde iki kez 7ml lik dozlar halinde 1, 2 ve 4 hafta boyunca uygulamış ve sonrasında yaptıkları ışık mikroskopik değerlendirmede potasyum sorbatın da

benzalkonyum klorid gibi nazal mukoza üzerine toksik etkilerinin olduğunu rapor etmişlerdir.<sup>21</sup>

Bizim gerçekleştirdiğimiz in vivo çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar her iki prezervatif maddenin nazal mukoza üzerinde potansiyel toksik etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Gerek 1 hafta gerekse 4 hafta boyunca benzalkonyum klorid uygulanan gruplarda izlenen patolojik değişiklikler potasyum sorbat uygulanan gruplara göre biraz daha belirgindi ve daha fazla örnekte gözlemlendi. Ancak yapılan istatistiksel analizlerle meydana gelen zararlı etkiler karşılaştırıldığında potasyum sorbatın benzalkonyum kloridten farklı olmadığını gösterdi. İn vivo olarak yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar benzalkonyum kloridin zararsız olabileceği anlamına gelmemelidir çünkü burun içi solunum yolu epiteli in vivo ortamda benzalkonyum kloridin zararlı etkilerine karşı daha dirençlidir. Bunun sebebi mukus ve perisilier sıvının laboratuvar şartlarında doğal ortamdakinden az ya da çok farklı olması, doğal ortamda uygulanan maddenin mukus tarafından dilüe edilmesi, mukosilier transportun bu maddeleri ortamdaki uzaklaştırması, mukusun bir bariyer gibi epitel örtetek koruması ve doğal ortamda epitel yenilenmesinin devam ediyor olması şeklinde sıralanabilir. Bütün bunlar kültür ortamında mevcut değildir.

Sağlıklı bir burun yaklaşık 0.4 ml mukus içermektedir.<sup>22-24</sup> Alerjik rinit gibi burun spreylerinin sürekli olduğu hastalıklarda mukus miktarı ve dilüsyonunun artması ile benzalkonyum kloridin yol açacağı hasar daha iyi engellenecektir. Bunlara ek olarak benzalkonyum kloridin protein ve diğer organik materyaller ile inaktive olması ile in vivo ortamda sürekli üretilen mukusun bu yönüyle de siliaları koruduğunu söyleyebiliriz.

Bizim çalışmamızda da bazı alanlarda patolojik değişiklikler izlense de burun içindeki titrete tüylü solunum yolu epitelinin tüm gruplarda genelde korunmuş olduğu gözlemlendi. Bunda sözü edilen in vivo etkenlerin rolü olduğu açıktır. Tüm bu etkenler insanlarda olduğu gibi, bir sıçandan diğerine oldukça değişkenlik gösterir.<sup>25</sup> Burun salgıları homojen olmayan bir yapıya sahiptir ve bu özellikten dolayı burun salgılarının viskozitesi oldukça değişkendir. Aynı zamanda burnun farklı alanlarındaki sekresyon yapısı da farklılık gösterir.<sup>26</sup> Böylece zararlı maddelerin dilüe edilmesi ve dokuya penetrasyonları da bu sebepten değişik oranlarda olacaktır.

Mukosilier transport hızı burnun çeşitli yerlerinde farklılık gösterir. Bunun sebebi silia vurum frekansının, silia yoğunluğunun, mukus ve silia kalitesinin ve silia uzunluğunun burnun her yerinde aynı olmamasından kaynaklanır. Mukosilier transport hızı alt konkanın hemen ön kısımlarında saatte 1-2 mm/saat iken arka kısımlarında bu hız 8-10 mm/saate çıkar.<sup>24</sup> Genellikle azalmış vurum frekansı nedeniyle olan mukostaz, mukozal penetrasyon ile zararlı elemanların hastalığı başlatmasına izin verebilir. Prezervatif madde uyguladığımız sıçanların burun mukozalarında izlediğimiz patolojik değişikliklerin, mukozanın tamamının aynı süreçten geçmesine rağmen mukozanın her yerini eşit olarak etkilemediğini bu özelliklerle açıklayabiliriz.

Sonuç olarak gerek benzalkonyum klorid gerekse de potasyum sorbat solunum yolu epiteli için zararlı etkilere sahiptir. Burun içi solunum yolu epiteli in vivo ortamda bu maddelerin zararlı etkilerine daha dirençlidir. Bizim araştırmamız 1 ve 4 haftalık uygulamalar sonrasında yaptığımız incelemelerde bütün direnç mekanizmalarına karşın patolojik değişmelerin geliştiğini ve uzamış uygulamalarda bu zararlı etkilerin daha da belirginleştiğini göstermiştir.

## KAYNAKLAR

1. Klein GF, Sepp N, Fritsch P. Allergic reactions to benzalkonium chloride: Do the use test. *Contact Derm* 1991; 25: 269-70.
2. Weiner M, Bernstein IL. Adverse reactions to drug formulation agents. New York, Marcel Dekker, 1989. p. 178-181.
3. Miszkil KA, Beasley R, Rafferty P, Holgate ST. The contribution of histamine release to bronchoconstriction provoked by inhaled benzalkonium chloride in asthma. *Br J Clin Pharmacol* 1988 ; 25 (2): 157-63.
4. Bernstein JA, Stauder T, Bernstein DI, Bernstein IL. A combined respiratory and cutaneous hypersensitivity syndrome induced by work exposure to quaternary amines. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 94: 257-9.
5. Sofos JN, Busta FF. Sorbic acid and sorbates. In: *Antimicrobials in Food*. Davidson PM, Branan AL. Eds. Second edition. Marcel Dekker, Inc.1995 P. 49-95.
6. Graf P, Hallen H. Effect on the nasal mucosa of long-term treatment with oxymetazoline, benzalkonium chloride, and placebo nasal sprays. *Laryngoscope* 1996; 106: 605-9.
7. Bernstein IL. Is the use of benzalkonium chloride as a preservative for nasal formulations a safety concern? A cautionary note based on compromised mucociliary transport. *J Allergy Clin Immunol* 2000 (1); 39-44.
8. Lee AD. Physiology of the nose and paranasal sinuses. In: *Scott-Brown's Otolaryngology*. Alan G, Ed. Sixth edition. Butter-Heinemann, 1997, p.16-21.
9. Braat JPM, Ainge G, Bowles JAK, Richards DH, van Riessen D, Visser WT, et al. The lack of effect of benzalkonium chloride on the cilia of the nasal mucosa in patients with perennial allergic rhinitis: A combined functional, light, scanning and transmission electron microscopy study. *Clin Exp Allergy* 1995; 25: 957-65.
10. Van de Donk HJM, Zuidema J, Merkus FWHM. The effect of nasal drops on the ciliary beat frequency of chicken embryo tracheas. *Rhinology* 1981; 19: 215-9.
11. Van de Donk HJM, Van den Heuvel AGM, Zuidema J, Merkus FWHM. The effects of nasal drops and their additives on human nasal mucociliary clearance. *Rhinology* 1982; 20: 127-37.
12. Van de Donk HJM, Muller-Plantema IP, Zuidema J, Merkus FWHM. The effects of preservatives on the ciliary beat frequency of chicken embryo tracheas. *Rhinology* 1980; 18: 119-33.
13. Joki S, Saano V, Nuutinen J, Virta P, Karttunen P, Silvasti M, et al. Effects of some preservative agents on rat and guinea pig tracheal and human nasal ciliary beat frequency. *Am J Rhinology* 1996; 10: 181-6.
14. Hofmann T, Wolf G, Koidl B. Action of topical corticosteroids and topical antihistamines on the ciliated epithelium of human nasal mucosa in vitro. *HNO* 1998; 46: 1-6.
15. McMahon C, Darby Y, Ryan R, Scadding G. Immediate and short-term effects of benzalkonium chloride on the human nasal mucosa in vivo. *Clin Otolaryngol* 1997; 22: 318-22.
16. Graf P, Hallen H, Juto JE. Benzalkonium chloride in a decongestant nasal spray aggravates rhinitis medicamentosa in healthy volunteers. *Clin Exp Allergy* 1995; 25: 395-400.
17. Graf P, Hallen H. Effects on the nasal mucosa of long-term treatment with oxymetazoline, benzalkonium chloride, and placebo nasal sprays. *Laryngoscope* 1996; 106: 605-9.
18. Kuboyama Y, Suzuki K, Hara T. Nasal lesions induced by intranasal administration of benzalkonium chloride in rats. *J Toxic Sci* 1997; 22: 153-60.
19. Berg OH, Lie K, Steinsvag SK. The effects of topical nasal steroids on rats respiratory mucosa in vivo, with special reference to benzalkonium chloride. *Allergy* 1997; 52: 627-32.
20. Steinsvag SK, Bjerknes R, Berg OH. Effects of topical nasal steroids on human respiratory mucosa and human granulocytes in vitro. *Acta Otolaryngol* 1996; 116: 868-75.
21. Cho JH, Kwun YS. Long term use of preservatives on rat nasal respiratory mucosa: Effects of benzalkonium chloride and potassium sorbate. *Laryngoscope* 2000; 110: 312-17.
22. Karci B, Günhan Ö. Mukosilier transport ve sinüzitlerin fizyopatolojisi. *Endoskopik sinüs cerrahisi*. İzmir, 1999: 14-22.
23. Ballenger JB, Snow JB. The clinical anatomy and physiology of nose and paranasal sinuses. In: *Otolaryngology Head and Neck Surgery*, 15 th Ed., Ballenger JB, Snow JB, Ed(s). Illinois, 2000, p. 3-18.
24. Lale AM, Mason JDT, Jones NS. Mucociliary transport and its assessment: A review. *Clin Otolaryngol* 1998; 23; 388-96.
25. Liote H, Zahm JM, Pierrot D, Puchelle E. Role of mucus and cilia in nasal mucociliary clearance in healthy subjects. *Am Rev Respir Dis* 1989 Jul; 140 (1): 132-6.
26. Mygind N, Brofeldt S, Ostberg B, Cerkez V, Tos M, Marriott C. Upper respiratory tract secretions: Pathophysiology. *Eur J Respir Dis Suppl* 1987; 153: 26-33.

## Yazışma Adresi

Op. Dr. M. Erkan Lebe  
Bayındır Devlet Hastanesi  
Kulak Burun Boğaz Servisi  
35840-Bayındır, İzmir