



**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**RATLARDA RETROBULBER PROSTOGLANDİN ANALOĞU
ENJEKSİYONUNUN ORBİTAL YAĞ DOKUSU ÜZERİNE
ETKİSİNİN BİLGİSAYARLI TOMOGRAFİ İLE VE
HİSTOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ**

Dr. Semih COŞAN

UZMANLIK TEZİ

ANKARA

2020



**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**RATLARDA RETROBULBER PROSTOGLANDİN ANALOĞU
ENJEKSİYONUNUN ORBİTAL YAĞ DOKUSU ÜZERİNE
ETKİSİNİN BİLGİSAYARLI TOMOGRAFİ İLE VE
HİSTOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ**

Dr. Semih COŞAN

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Yonca ÖZKAN ARAT

ANKARA

2020

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yapılmasındaki çaba ve emeklerinden dolayı tez danışman hocam Prof. Dr. Yonca ÖZKAN ARAT'a, çalışmanın histolojik aőamalarında yardımlarından dolayı Prof. Dr. Pergin ATTİLA ve Dr. Bengisu KAYA'ya, çalışmanın radyolojik aőamalarında yardımlarından dolayı Prof. Dr. Anıl ARAT ve Dr. Osman ÖCAL'a, çalışmanın istatistiksel analizi aőamasında yardımcı olan Doç, Dr. Jale KARAKAYA'ya, engin bilgi ve tecrübeleriyle uzmanlık eğitimimde emeği geçen tüm saygıdeğer hocalarıma ve bu tez çalıőması ile noktaladığım uzmanlık eğitimimde bana emeği geçen tüm Hacettepe Göz ailesine teşekkür ederim.

ÖZET

Ratlarda Retrobulber Prostaglandin Analöü Enjeksiyonunun Orbital Yağ Dokusu Üzerine Etkisinin Bilgisayarlı Tomografi ile ve Histolojik Olarak İncelenmesi

Amaç: Periorbital yağ dokusunda atrofi, topikal prostoglandin analoglarının (PA) bilinen bir yan etkisidir. Bu istenmeyen etkinin, artmış orbita yağ hacmi ile giden tiroid orbitopati gibi hastalıkların tedavisinde önemli rolü olabilir. Literatürde PA'nın retrobulber enjeksiyonunun, orbita yağ dokusu üzerindeki atrofi etkisini inceleyen ve üç rat üzerindeki sonuçlarını bildiren sadece bir ön çalışma bulunmaktadır. Bu tez çalışmasında amaç, rat hayvan modelinde, retrobulber PA enjeksiyonunun, orbital yağ dokusu üzerindeki etkilerinin bilgisayarlı tomografi (BT) ile ve histolojik olarak değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem: On sekiz adet erişkin, erkek Wistar-albino rat, bimatoprost, latanoprost ve travoprost olmak üzere, 6 adet hayvandan oluşan 3 gruba ayrıldı. Ratların sağ orbitalarına, 0,1 ml bimatoprost, latanoprost veya travoprost enjeksiyonu, sol orbitalarına salin enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyon öncesi ve enjeksiyondan 3 hafta sonra BT görüntüleri alındı. Karbondioksit ile ötenazi sonrasında, ratların her iki gözü ekzentere edildi. Doku kesitleri alınarak hematoksilin-eozin ile boyandı ve fotoğrafları çekilerek dijital ortama aktarıldı. BT görüntüleri Image J (Rasband, W.S., US National Institutes of Health, Bethesda, MD) yazılımı ile sekanslara ayrıldıktan sonra, yazılım içerisinde yer alan Trainable Weka Segmentation programı kullanılarak, orbita yağ dokusu hacmi, total orbita hacmi ve orbita yağ dokusu hacminin total orbita hacmine oranı hesaplandı. Her ratın histolojik kesiti de Image J yazılımı ile analiz edildi. Her kesitte birim alana düşen yağ hücresi sayısı hesaplandı. Histolojik kesitlerde, orbita yağ hücresi çekirdeklerinin, apoptotik veya apoptozise gitmek üzere olduğu düşünülen hücreleri belirlemek için kullanılan nükleer alan, dairesellik ve yuvarlaklık parametreleri açısından analizi yapıldı.

Bulgular: BT incelemesinde, hiçbir grupta, PA enjeksiyonunu takiben üçüncü haftada, PA enjeksiyonu yapılan orbita ile salin enjeksiyonu yapılan orbita arasında, orbita yağ dokusu hacmi ölçümlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Aynı şekilde, PA enjeksiyonu yapılan tarafta enjeksiyon öncesi ve enjeksiyondan 3

hafta sonra hesaplanan orbita yağ dokusu hacmi ölçümlerinde anlamlı fark izlenmemiştir. Histolojik incelemede, birim alana düşen hücre sayısı, nükleer alan, nükleer dairesellik ve yuvarlaklık ölçümlerinde, PA enjeksiyonu yapılan orbita ile kontrol orbita arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Sonuç: Rat hayvan modelinde, retrobulber PA enjeksiyonunu takiben üçüncü haftada, orbita yağ dokusunda radyolojik veya histolojik olarak anlamlı bir atrofi gösterilememiş ve yağ hücresi nükleuslarında apoptozis bulgusu izlenmemiştir. Retrobulber PA enjeksiyonunun, tiroid orbitopati gibi yağ proliferasyonu ile giden orbital hastalıklarda potansiyel bir tedavi olarak kullanılabilmesi için, daha fazla sayıda denek içeren, farklı hayvan modellerinde, daha yüksek doz/konsantrasyonda PA kullanıldığı in vivo çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Prostaglandin analogları, prostoglandin ilişkili periorbitopati, yağ atrofisi, bilgisayarlı tomografi

ABSTRACT

Effect of Retrobulbar Injection of Prostaglandin Analogues on Orbital Fat in Rats-Histological Analysis and Computed Tomography Findings

Purpose: Periorbital fat atrophy is a known side effect of prostaglandin analogues (PA). This undesirable effect on orbital fat could have a role in some diseases, manifesting with increased orbital fat volume such as thyroid orbitopathy. There is only one pilot study in the literature investigating the effects of retrobulbar bimatoprost injection on orbital fat in three rats. The goal of this study is to evaluate the effect of retrobulbar PA injection on orbital fat by histological analysis and computed tomography (CT) in rat animal model.

Methods: 18 adult, male, Wistar-albino rats were randomly divided into 3 groups as bimatoprost, latanoprost and travoprost groups each consisting of 6 animals. The rats were given retrobulbar injections of 0.1 ml of bimatoprost (n=6), latanoprost (n=6) or travoprost (n=6) in the right orbit, and 0.1 ml of saline in the left orbit as a control. CT imaging was performed before and 3 weeks after the injection. Rats were euthanized, perfused, and postfixed at 3 weeks after injection. Exenterated orbital tissue was sectioned for histologic staining. Photos of the slides were transferred to the digital platform. Number of fat cells per unit area for each rat was calculated via Image J software application (Rasband, W.S., US National Institutes of Health, Bethesda, MD) by two masked investigators. Nuclear image analysis of stained orbital fat cells were used to discriminate apoptotic cells and cells suspected to be undergoing apoptosis from other cells based on parameters such as nuclear area, roundness and circularity. Weka Trainable Segmentation as a plugin to Image J was used to measure the orbital and orbital fat volume on axial computed tomography sections.

Results: Histological evaluation showed no significant difference in number of cells per unit area between the PA and saline injected control orbits in any of the groups. Nuclear image analysis of stained orbital fat cells showed no difference in nuclear area, roundness and circularity parameters between the PA and saline injected orbits in any of the groups. CT imaging analysis showed no significant difference in orbital fat volume between the PA and saline injected orbits in any of the groups. Likewise, on

the PA injected sides, there were no significant difference in the orbital fat volume before and after the injection in any of the groups.

Conclusion: No significant orbital fat atrophy was demonstrated on radiologic and histological analysis 3 weeks after retrobulber PA injection compared to control orbits in rat animal model. There was also no significant difference in apoptosis parameters in nuclear analysis. Further studies with more subjects investigating higher concentration of the drug in other animal models are needed in order to consider retrobulber PA injection as a potential therapy for diseases presenting with increased orbital fat volume like thyroid orbitopathy.

Keywords: Prostaglandin analogues, prostaglandin associated periorbitopathy, fat atrophy, computed tomography.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLOLAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Prostaglandin Analogları	3
2.1.1. Latanoprost	4
2.1.2. Travoprost	5
2.1.3. Bimatoprost	5
2.2. Prostaglandin Analoglarının Yan Etkileri	5
2.2.1. Prostaglandin İlişkili Periorbitopati	6
2.3. Yağ Dokusu Atrofisi ve Prostaglandin Analogları	9
2.4. Apoptozis ve Hücre Çekirdeklerinin Morfolojik Özellikleri	11
3. GEREÇ ve YÖNTEM	14
3.1. İstatistiksel Analiz	23
4. BULGULAR	25
5. TARTIŞMA	35
6. SONUÇLAR	41
7. KAYNAKLAR	42

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BT	: Bilgisayarlı tomografi
PA	: Prostoglandin analogu
PAP	: Prostoglandin ilişkili periorbitopati
FP	: Prostanoid F reseptörü
DP	: Prostanoid D reseptörü
EP	: Prostanoid E reseptörü
IP	: Prostanoid I reseptörü
TP	: Tromboksan reseptörü
PGF	: Prostoglandin F
PGD	: Prostoglandin D
PGE	: Prostoglandin E
PGI	: Prostoglandin I
PGF2α	: Prostoglandin F2 alfa
SSD	: Süperior sulkus deformitesi
PPAR	: Peroksizom peroksizom proliferatör-aktive ixeseptör
RNFL	: Retina sinir lifi tabakası
PERG	: Pattern elektroretinografi
LAT-A	: Latanoprost asidi
TRA-A	: Travoprost asidi
BİM-A	: Bimatoprost asidi
TAF-A	: Tafluprost asidi
UNO	: Unoprsoton
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
TAO	: Tiroid ilişkili periorbitopati
cAMP	: Siklik adenzin monofosfat

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
3.1. İntraperitoneal ksilazin+ketamin anestezisi uygulanması	14
3.2. Bilgisayarlı tomografi çekimi	15
3.3. Retrobulber enjeksiyon uygulanması	16
3.4. Ekzenterasyon öncesi orbita sınırlarının palpasyon ve bistüri yardımıyla belirlenmesi	17
3.5. Orbita kranial, kaudal, dorsal ve ventral sınırlarının çizilerek, cilt ve cilt altı dokuların diseksiyonu	17
3.6. Orbita içerisinde yer alan dokunun, orbita apeksine kadar diseke edilmesi	18
3.7. 10'luk büyütmedeki histolojik kesit üzerinde yağ dokusu sınırlarının Image J programı ile belirlenmesi, birim alana düşen adiposit yoğunluğu hesabı	19
3.8. 10'luk büyütmedeki histolojik kesit	20
3.9. 10'luk büyütmedeki histolojik kesitten rastgele alınan, 100x100 mikronluk görüntüde, Image J programı ile hücre çekirdeklerinin morfolojik ölçümlerinin yapılması	20
3.10. Bilgisayarlı tomografi ile elde edilen aksiyel kesitlerin Image J yazılımı ile sekanslara ayrılıp kayıt edilmesi	22
3.11. Image J yazılımındaki Trainable Weka Segmantation sekmesi tarafından işlenen BT görüntüsü	22
3.12. Image J yazılımındaki Trainable Weka Segmentation sekmesi tarafından görüntünün 8 bit gri skalaya dönüştürülmesi	23
3.13. Veri toplama formu	24

TABLolar DİZİNİ

Tablo	Sayfa
4.1. Bimatoprost grubunda, histolojik kesitlerde birim alana düşen hücre sayısı ve hücre çekirdeklerinin morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması	25
4.2. Bimatoprost grubunda enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümlerinin karşılaştırılması	26
4.3. Latanoprost grubunda, histolojik kesitlerde birim alana düşen hücre sayısı ve hücre çekirdeklerinin morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması	27
4.4. Latanoprost grubunda enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümlerinin karşılaştırılması	28
4.5. Travoprost grubunda, histolojik kesitlerde birim alana düşen hücre sayısı ve hücre çekirdeklerinin morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması	29
4.6. Travoprost grubunda, enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümlerinin karşılaştırılması	30
4.7. Tüm PA enjeksiyonu yapılan ve yapılmayan orbitalarda, histolojik kesitlerde birim alana düşen hücre sayısı ve hücre çekirdeklerinin morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması	31
4.8. Tüm PA enjeksiyonu yapılan ve yapılmayan orbitalarda, enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümleri karşılaştırılması	32
4.9. PA enjeksiyonu yapılan orbitalarda, enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümlerinin karşılaştırılması	33
4.10. Tüm gruplarda PA enjeksiyonu yapılan orbitalarda, enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümlerinin karşılaştırılması	34

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Prostoglandin analogları (PA), monoterapideki etkinliği, kullanım kolaylığı ve tek doz uygulanması nedeniyle glokom tedavisinde sık tercih edilmektedir. Göz içi basıncını, aköz dışı akımını üveoskleral yolak üzerinden arttırarak % 20-35 oranında düşürmektedirler [1].

PA kullanımı sonucu görülen konjonktival hiperemi, iris ve perioküler bölgede meydana gelen pigmentasyon değişiklikleri, hipertirikozis gibi yan etkilere oldukça geniş yer verilmiştir. Prostoglandin ilişkili periorbitopati (PAP) ile ilgili yapılan çalışmaların sayısı son yıllarda artış göstermektedir.

PAP; göz kapağında involüsyon, üst göz kapağı katlantısında yükselme, süperior sulkusta çökme, dermatoşalaziste gerileme, orbital yağ dokusu kaybı ve enoftalmus birlikteliği şeklinde ilk kez 2004 yılında tanımlanmıştır [2]. Uzun süreli PA kullanımının, orbital adipositleri de içeren, periorbital dokularda atrofi ile ortaya çıkan, PAP'a neden olduğu saptanmıştır [3,4]. Prostoglandin F2 alfa agonistlerinin, yağ dokusu diferansiyasyonunu inhibe ederek, yağ dokusunda atrofiye neden olduğu gösterilmiş ve orbital yağ dokusu atrofisi sonucu meydana gelen bulgular objektif olarak tanımlanmıştır [4-6]. PAP'ın altında yatan moleküler mekanizma tam olarak bilinmese de, yapılan çalışmalarda PA'nın peroksizom proliferatör-aktive reseptör (PPAR) gama yolağını inhibe ederek, insan preadiposit diferansiyasyonunu ve hücre içi yağ birikimini azalttığı gösterilmiştir [6, 7].

Son yıllarda 3 rat üzerinde yapılan bir çalışmada, retrobulber bimatoprost enjeksiyonu sonrasında, histopatolojik olarak belirgin inflamasyon bulgusu olmadan, yağ dokusu atrofisinin göstergesi olan, birim alana düşen adiposit sayısında ve adiposit heterojenitesinde artış olduğu gösterilmiştir. Çalışmada retrobulber PA enjeksiyonunun, tiroid ilişkili orbitopati (TAO) gibi orbital yağ dokusunu etkileyen hastalıklarda, orbita yağ dokusu hacmini azaltmak için cerrahi dışı bir tedavi seçeneği olabileceği vurgulanmıştır [8].

TAO, orbital yağ dokusu ve ekstraoküler kasları etkileyen otoimmün bir hastalıktır [9, 10]. Tip 1 TAO, tipik olarak orbital yağ dokusunda artış ile; tip 2 TAO, ekstraoküler kaslarda genişleme ve fibrozis ile karakterizedir [11]. TAO; propitozis,

eksposur keratopati, restriktif şaşılık, göz kapağı retraksiyonu ve kompresif optik nöropatiyi içeren klinik bulgularla kendini göstermektedir [12].

TAO tedavisinde, ciddi tutulumda, aktif dönemde inflamasyonu azaltmak amacıyla sistemik (oral ve intravenöz) steroid tedavisi uygulanmakta ve inaktif dönemde orbita dekompresyon cerrahisi, şaşılık ve kapak cerrahileri yapılmaktadır [12]. Bu tedaviler, hastalık ciddiyetinin geniş bir spektrum göstermesi nedeniyle, hastalık üzerinde değişik miktarda etkinlik göstermektedir. Mevcut tedavi yöntemlerinin, pek çok hastada etkinlikleri sınırlı kalmakta ve bu yöntemler hastalığın bulgularını tam olarak kontrol altına alamamaktadır [13]. Bunun yanı sıra orbital dekompresyon cerrahisi, orbitanın bütünlüğünün bozulduğu, postoperatif yeni gelişen çift görme, kanama, görme kaybı ve beyin-omurilik sıvısı kaçağı gibi komplikasyonları olan invaziv bir tedavi şeklidir [14].

Retrobulber PA enjeksiyonu, 3 rat üzerinde yapılan ön çalışmada gösterilen orbita yağ dokusu üzerindeki atrofi etkisi sebebiyle, yağ dokusunda artış ile seyreden TAO için, kolay uygulanabilen, komplikasyon profili düşük potansiyel bir tedavi seçeneği olabilir.

Bu tez çalışmasında amaç, rat hayvan modelinde 3 farklı PA'nın retrobulber enjeksiyonunun, orbita yağ dokusu üzerindeki etkilerinin bilgisayarlı tomografi (BT) ile ve histolojik olarak değerlendirilmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Prostaglandin Analogları

Glokom tedavisinde, göz içi basıncı düşürmek için prostanoid kullanılması fikri ilk olarak 1980'lerin başında gündeme gelmiştir [15]. İlerleyen yıllarda, selektif prostoglandin FP- reseptörü (prostaglandin F'e duyarlı) agonisti olan latanoprost ve travoprost, ardından da bir prostamid analogu olan bimatoprost klinikte kullanılmaya başlanmıştır [16].

Prostaglandinler, göz dahil birçok dokuda biyolojik yolları düzenleyen araşidonik asitin aktif metabolitleridir. Siklooksijenaz enzimleri (COX-1 ve COX-2), araşidonik asiti katalize ederek, ara metabolit olan prostoglandin H₂ (PGH₂)'yi sentezlemektedir. Diğer prostoglandin sınıfları (PGD₂, PGE₂, PGF₂, PGI₂ and Tromboksan-A), bu öncü molekülden kendi spesifik enzimleri ile sentezlenmektedir [17]. Bu aktif metabolitler, G protein ilişkili 9 farklı reseptöre (DP1, DP2, EP1, EP2, EP3, EP4, FP, IP and TP) bağlanarak etkilerini göstermektedirler [18].

Doğal prostoglandinler (PGF₂ α , PGE₂, PGD₂, PGI₂), kendi reseptörlerine (FP, EP, DP, IP) yüksek afinite ile bağlanırlar. Sentetik PA, doğal PA'ya göre reseptörlere daha selektif bağlanmakta olup, travoprost FP reseptörüne bağlanarak göz içi basıncını düşüren en selektif sentetik ajandır. Prostanoid reseptör subtipleri ilişkili oldukları ikincil mesajcılara bağlı olarak 3 grupta incelenmektedir. EP1, FP and TP reseptörleri kontraktıl grupta yer alıp, hücre içi kalsiyum depolarını boşaltarak düz kas kasılmasını uyarmaktadır. DP1, EP2, EP4 and IP relaksant grupta yer alıp, hücre içi siklik adenozin monofosfat (cAMP) üretimini artırarak düz kas gevşemesini uyarmaktadır. EP3, DP2 inhibitör reseptörler olup, hücre içi cAMP üretimini inhibe etmektedir.[19] Bu reseptörlerden FP, DP1-2 ve EP (1-4) reseptörleri, oküler dokularda tanımlanmış olup; özellikle trabeküler ağda, irisin kan damarlarının endotel ve düz kas hücrelerinde, siliyer cisim ve koroidde, siliyer kas ve Schlemm kanalında yer almaktadır.[20-22] FP reseptörleri göz içi basıncını düşürmede en kritik role sahip olan ve üveoskleral dokuda en bol bulunan reseptörlerdir.[22] Bu reseptörler yoğunlukla siliyer kasın sirküler kısmında yer almaktadır [19].

Prostaglandin F₂ alfa (PGF₂ α) analogları, üveoskleral yolda yer alan EP ve FP reseptörlerine bağlanarak, siliyer kas gevşemesi ile dışa akım kolaylığı sağlamakta

[23] ve siliyer kas, iris kökü ve sklerada ekstraselüler matriks dönüşümünü arttırarak, ekstraselüler matriks yeniden düzenlenmesi aracılığı ile aköz hümör dışa akım direncini azaltmaktadır [24].

FDA tarafından 1996 yılında onay aldıktan sonra, PA'lar açık açılı glokom ve oküler hipertansiyon tedavisinde ilk tercih edilen antihipertasif ajanlar olmuşlardır. Etkilerini esas olarak üveoskleral yoldan aköz hümör dışa akımını kolaylaştırarak gösterebilirler de, konvansiyonel yolağı etkileyerek göz içi basıncını düşürdüklerini destekleyen bulgular da mevcuttur [23-26]. Göz içi basıncı, aköz hümör üretimi ile dolaşım ve drenaj sistemi arasındaki denge ile sağlanmaktadır. Basınç bağımlı trabeküler (konvansiyonel) dışa akım yolu, aköz hümör drenajının büyük bölümünü sağlamaktadır. Basınç bağımsız üveoskleral yolun ise göz içi basınç regülasyonunun %5-15'inden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Sentetik PA'lar olan latanoprost (Xalatan,0.005%), bimatoprost (Lumigan, 0.03%) ve travoprost (Travatan, 0.004%) siliyer kas ve trabeküler ağdaki prostoglandin reseptörlerine bağlanarak, siliyer kas gevşemesini ve siliyer kas ekstraselüler matriks yeniden düzenlenmesini uyararak, aköz hümör dışa akımını kolaylaştırmaktadır [23].

PA'lar göz içi basıncını ortalama %25-30 düşüren, oküler ve sistemik yan etki profili güvenli, günde tek doz uygulama ile hasta uyumunu artıran oldukça efektif ilaçlardır [1].

2.1.1. Latanoprost

Latanoprost (Xalatan®) PGF₂ α isopropil esteri olan bir ön ilaçtır. Korneadan geçerken hidrolize uğrayarak biyolojik olarak aktif hale gelir. İris sfinkter kası ve siliyer cisimde bulunan reseptörlerine bağlanarak üveoskleral dışa akımı artırır. Göz içi basıncı yaklaşık %25-32 oranında düşürür. Göz içi basıncındaki düşme ilaç uygulandıktan sonraki ilk 2-4 saat içerisinde başlar ve 10-14 saat içerisinde tepe etkisine ulaşır. İlaç kullanımına başlandıktan yaklaşık 6 hafta sonra maksimum etki elde edilir. İlaç bırakıldıktan sonra vücuttaki etkisi yaklaşık 4-6 hafta daha devam eder [27,28].

2.1.2. Travoprost

Travoprost (Travatan®) PGF2 α isopropil esteri olan bir ön ilaçtır. Korneal penetrasyon sırasında hidrolize uğrayarak biyolojik olarak aktif olan serbest asit formuna dönüşür. Siliyer kas ve iris sfinter kasındaki reseptörlerine bağlanarak aköz hümör dışı akımını artırır ve göz içi basıncı %25-32 oranında düşürür. İlaç kullanımına başlandıktan 2 saat sonra göz içi basıncı düşmeye başlar. Maksimum etkiye yaklaşık 12 saat içerisinde ulaşır. Etkisi yaklaşık 24 saat boyunca devam eder. İlaç kullanıma başlandıktan yaklaşık 6 hafta sonra maksimum etkisini gösterir [27-29].

2.1.3. Bimatoprost

Bimatoprost (Lumigan®) sentetik bir prostamid analogudur. Penetrasyonu transkonjonktival yol ile gerçekleşir. Siliyer cisim düz kasında bulunan reseptörlerine bağlanarak etki eder [30,31]. Hem trabeküler dışı akımı (%35) hem de üveoskleral dışı akımı (%35) arttırarak göz içi basıncı % 27-33 oranında düşürür. Göz içi basıncındaki düşme ilaç uygulandıktan sonraki ilk 2-4 saat içerisinde başlar ve 10-14 saat içerisinde tepe etkisine ulaşır. İlaç kullanımına başlandıktan yaklaşık 6 hafta sonra maksimum etki elde edilir. İlaç bırakıldıktan sonra vücuttaki etkisi yaklaşık 4-6 hafta daha devam eder [27, 28,32].

2.2. Prostoglandin Analoglarının Yan Etkileri

PA kullanan hastaların yaklaşık yarısında konjonktival hiperemi görülmektedir. Bu durum genellikle geçicidir ve intraoküler inflamasyonla ilişkili değildir. Altta yatan mekanizma tam olarak bilinmemekle birlikte, nitrik oksit üretimine bağlı vazodilatasyona ikincil geliştiği düşünülmektedir [33]. Diğer bir sık görülen yan etki ise kirpiklerde uzama, kalınlaşma ve kirpik sayısında artıştır. Bu etki ilaç kullanımı bırakıldıktan sonra da (14 aya kadar) devam etmektedir [34,35].

PA kullanımına bağlı olarak perioküler pigmentasyon artışı görülebilmektedir. Bu pigmentasyon artışı, melanositlerdeki melanozom artışından kaynaklanmaktadır ve ilaç bırakıldıktan sonra geri dönüşümlü olduğu gösterilmiştir [36-38]. PA kullanımına bağlı iris renginde koyulaşma, stromal melanositlerdeki melanozom artışından kaynaklanmaktadır. Melanosit sayısında artış olmamaktadır [39]. Ela ya da kahverengi göz rengi olan kişilerde, açık göz rengi olan kişilere oranla daha fazla pigmentasyon

artışı görülmektedir. İris renginde meydana gelen bu değişim, genellikle tedavinin ilk yılında görülmektedir ve tedavi uzadıkça artarak devam etmektedir. İlaç kesildikten sonra geri dönüşüm izlenmez [40-43].

PA kullanımı sonucu, kistoid makula ödemi geliştiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Afaki, komplike katarakt cerrahisi, geçirilmiş üveit, retinal inflamatuvar ve vasküler hastalıklar PA kullanımına bağlı kistoid makula ödemi gelişme riskini arttırmaktadır [44-46]. Bazı glokom hastalarında PA tedavisi başlandıktan sonra, herpes simpleks virüs reaktivasyonu meydana geldiği gösterilmiştir. Tüm hastalarda lokal lezyonlarda ilerleme olmuş ve PA tedavisi bırakılmıştır [47, 48]. Benzer şekilde hayvan çalışmalarında, topikal latanoprostun hastalığın seyrini kötüleştirdiği, retinada meydana gelen hasarda ve relaps sayısında artışa neden olduğu gösterilmiştir [49].

PA kullanımına bağlı görülen perioküler değişiklikler de yan etki olarak değerlendirilmektedir. Periorbital bölgede meydana gelen yağ atrofisine bağlı olarak, rölatif enoftalmus, üst göz kapağı sulkusunda derinleşme, dermatoşalaziste gerilme ve alt kapak dolgunluğunda kayıp izlenebilmektedir [50].

2.2.1. Prostaglandin İlişkili Periorbitopati

PA'nın periorbital bölgede meydana getirdiği değişiklikler; göz kapağında involüsyon, üst göz kapağı katlantısında yükselme, süperior sulkusta çökme, dermatoşalaziste gerileme, orbita yağ dokusu kaybı ve enoftalmus birlikteliği şeklinde ilk kez 2004 yılında tanımlanmıştır [2].

'Prostaglandin ilişkili periorbitopati', Filippopoulos ve ark. tarafından, 7 ay ile 4 yıl arasında tek taraflı bimatoprost kullanan 5 glokom hastasında, bimatoprost kullanılan gözlerde görülen periorbital değişiklikler, ilaç kullanılmayan diğer gözler ile karşılaştırılarak tanımlanmıştır. Olguların tamamında, ilaç kullanılan tarafta, periorbital yağ doku atrofisi, üst göz kapağı sulkusunda derinleşme ve dermatoşalaziste gerileme olduğu gösterilmiştir. Bu yan etkilerin ilaç bırakıldıktan yaklaşık 3-6 ay sonra geri dönebildiği gösterilmiştir [50].

Rabinowitz ve ark. en az bir yıldır tek taraflı PA kullanan 33 hastada, PA'nın periorbital bölgede meydana getirdiği değişimleri göstermiş ve PAP'ı ciddiyetine göre evrelere ayırmıştır [51]. Süperior sulkus deformitesi (SSD) de ciddiyetine göre 3 evreye ayrılmaktadır. Evre 1'de SSD yoktur. Evre 2'de, süperior sulkus üzerindeki

ciltte involüsyon olmasına rağmen, cilt süperior orbital rim ile aynı hizada bulunmaktadır. Evre 3'te, süperior sulkus, sagittal planda süperior orbital rimin arkasında yer almaktadır [52]. PAP, SSD evrelemesi kullanılarak 3 evrede incelenmiştir. Evre 1 PAP'ta, SSD olmadan rölatif yağ dokusu atrofisi; evre 2 PAP'ta, evre 2 SSD ile birlikte yağ dokusu atrofisi; evre 3 PAP'ta, evre 3 SSD ile birlikte rölatif veya ciddi yağ dokusu atrofisi izlenmektedir. Bu çalışmada, ilaç uygulanan gözlerde, ilaç kullanılmayan gözlerle göre daha fazla lagoftalmus, daha yüksek SSD/PAP evresi, üst göz kapağında daha fazla retraksiyon ve kapaklarda daha fazla kızarıklık olduğu saptanmıştır. Lagoftalmus ve kapak kızarıklığının, bimatoprost kullanan hastalarda, latanoprost ve travoprost kullanan hastalara göre, daha fazla meydana geldiği, bimatoprost ve travoprost kullanan hastaların, latanoprost kullananlara göre daha yüksek SSD ve PAP evresine sahip olduğu, enoftalmusun en fazla bimatoprost, daha sonra travoprost, en az ise latanoprostla meydana geldiği gösterilmiştir [51].

PAP gelişen hastalarda, periorbital yağ dokusu kaybı en sık gözlenen bulgudur. Üst göz kapağında derinleşme en sık bimatoprost, daha sonra travoprost, en az ise latanoprost grubunda; periorbital yağ kaybı ya da dermatoşalaziste azalma gibi hafif değişiklikler en sık latanoprost, daha sonra travoprost, en az ise bimatoprost grubunda görülmektedir [3]. PAP, objektif ve subjektif olarak en fazla bimatoprost, daha sonra travoprost, en az ise latanoprost kullanan hastalarda görülmektedir [2-4, 50, 53-55]. Üst göz kapağı sulkusunda meydana gelen derinleşme ile yaş, cinsiyet, ilacın uygulanma süresi ve göz içi basıncı arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır [55]. PA diğer ilaçlar ile değiştirildiğinde, PAP'ta gerileme olduğu gösterilmiştir [2, 50, 53, 56].

Topikal latanoprost ile yeterli göz içi basıncı düşüşü sağlanamayıp, tedavisi bimatoprost ile değiştirilen hastalarda, 6 aylık takip sonucunda %60 oranında süperior sulkus derinleşmesi meydana geldiği gösterilmiştir [57]. Topikal bimatoprost ve travoprost kullanımının aksine, latanoprost ile üst göz kapağı sulkusunda derinleşme bildirilmemiştir. Üst göz kapağı sulkusunda derinleşme olan, travoprost ve bimatoprost kullanan hastaların ilaçları, latanoprost ile değiştirilmiştir. İlaç latanoprost ile değiştirilen hastalarda, tedavi başlangıcından 2 ila 3 ay sonra, üst göz kapağındaki derinleşmenin kaybolduğu, kapaklarda dolgunlaşma meydana geldiği gösterilmiştir. Travoprost kullanımına ara verdikten sonra, latanoprost kullanımına başlayan hastada, travoprost bırakıldıktan 2 ay sonra üst göz kapağındaki derinleşme

gerilemiş olup, 6 aylık latanoprost tedavisi boyunca kapaklarda herhangi bir değişim görülmemiştir. Bu çalışmada, diğer prostoglandin analogları ile meydana gelen bu yan etki geliştiğinde, latanoprost tedavisinin alternatif bir tedavi olabileceği vurgulanmıştır [58].

Choi ve ark. sağlıklı insan, tip 1 (orbital yağ dokusu ekspansiyonu) ve tip 2 (ekstraoküler kaslarda genişleme ve fibrozis) TAO hastalarının orbital adiposit kökenli kök hücrelerini izole ederek, in vitro ortamda bu hücrelerin üzerine bimatoprost eklemiştir. Tüm hücre kültürleri; hücre yaşayabilirliği, migrasyon kapasitesi, lipit içeriği, adiposit morfolojisi, mitokondriyal içerik ve adipojenik belirteçlerde meydana gelen değişiklikler açısından değerlendirilmiştir. Tip 1 ve tip 2 TAO hastalarından izole edilen orbital adiposit kökenli kök hücrelerin, sağlıklı kişilerden izole edilen orbital adiposit kökenli kök hücrelere göre daha yüksek migrasyon kapasitesine ve lipit içeriğine sahip olduğu görülmüştür. Hücre kültürleri üzerine bimatoprost eklenmesi sonucu, tip 1 ve tip 2 TAO hastalarından izole edilen orbital adiposit kökenli kök hücrelerinde ve sağlıklı insan orbital adiposit kökenli kök hücrelerinde; lipit içeriğinde önemli derecede azalma ile birlikte, yağ damlacıklarının boyutlarında küçülme ve lobül sayılarında artış olduğu görülmüştür. Tüm hücre kültürlerinde, yağ hücrelerinin mitokondri sayılarında ve bir kahverengi yağ dokusu belirteci olan UPC-1 ekspresyonunda artış olduğu gösterilmiş ve beyaz yağ dokusundan kahverengi yağ dokusuna dönüşüm olduğu saptanmıştır. Eş zamanlı olarak sekiz fareye retrobulber bimatoprost enjeksiyonu yapılmış, enjeksiyon yapılmadan önce ve enjeksiyon yapıldıktan bir ay sonra retina sinir lifi tabakası (RNFL) ve pattern elektroretinografi (PERG) ölçümleri alınmıştır. Enjeksiyon öncesi ve sonrası RNFL ölçümleri ve PERG amplitüdlerinde, kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptanmıştır. Bimatoprost enjeksiyonu yapılan orbitalarda, hematoksilen-eozin ile yapılan kesitlerde, oküler ve orbital yapıların normal morfolojide olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada, retrobulber bimatoprost enjeksiyonun güvenle uygulanabileceği vurgulanmıştır [59].

Son yıllarda 3 rat üzerinde yapılan bir in vivo çalışmada, ratların sağ orbitalarına bimatoprost enjeksiyonu, sol orbitalarına salin enjeksiyonu yapılmıştır. Ratların enjeksiyondan önce ve enjeksiyondan 3 hafta sonra göz içi basınçları ölçülmüş ve ratlara ekzenterasyon uygulanmıştır. Yapılan analizler sonucunda göz içi

basıncında belirgin bir değişiklik ve orbitada belirgin inflamasyon bulgusu olmadan, histopatolojik kesitlerde birim alana düşen adiposit sayısında ve adiposit heterojenitesinde artış olduğu gösterilmiştir [8].

2.3. Yağ Dokusu Atrofisi ve Prostaglandin Analogları

Adipositler, enerji homeostazı regülasyonunda rol oynayan hücrelerdir [60, 61]. Beyaz ve kahverengi yağ dokusu olmak üzere vücutta iki farklı yağ dokusu bulunmaktadır. Beyaz yağ dokusu hücreleri, sitoplazmalarının yaklaşık %90'ını dolduran, trigliserid ile dolu tek parça yağ damlacığı içeren, büyük yuvarlak hücrelerdir. Kahverengi yağ dokusu hücreleri, çok sayıda yoğun kristal mitokondri ile birlikte, trigliserid içeren multiloküler yağ damlacıkları içermektedir [62]. Beyaz yağ dokusunun görevi, lipid formu şeklinde enerji depolamak iken; kahverengi yağ dokusunun görevi, termoregülasyonu sağlamak için enerji üretmektir [63].

Yağ dokusu hacmi, vücuttaki bir çok koşuldan etkilenmektedir [64]. Hormonlar (insülin, katekolaminler) ve parakrin faktörler (sitokin, adenozin ve prostoglandinler) aracılığı ile vücuttaki yağ metabolizması düzenlenmektedir [65]. Adiposit diferansiyasyonu, lipid mediatörleri de içeren bir çok hormon ve uyarımdan etkilenen kompleks bir süreçtir. Prostaglandinler, adiposit diferansiyasyonunu regüle eden lipid mediatörlerden bir tanesidir [66]. FP agonisti olan, fluprostenol ve cloprostenol, adiposit diferansiyasyonunun erken dönem belirteçleri olan, lipoprotein lipaz ve yağ asidi bağlayıcı protein üretimini inhibe etmektedir. Aynı zamanda gliserol-3-fosfat dehidrogenaz enziminin aktivitesini de azaltmaktadır. Gliserol-3-fosfat dehidrogenazın aktivitesinde azalma sonucu, yağ asitleri hücre içerisine alınamaz ve yağ hücrelerinde hacim kaybı meydana gelir [5]. Prostaglandin F₂'e duyarlı selektif prostanoid reseptör uyarımı, preadiposit farklılaşmasını inhibe etmektedir [5, 67].

Taketani ve ark. 3T3-L1 murin preadiposit hücre dizisi, vahşi tip fare adiposit hücre dizisi ve FP reseptörleri hasarlanmış fare adiposit hücre dizisi üzerinde, PA'ların etkilerini incelemiştir. Tüm hücrelerin üzerine 1 ila 1000 nM arası konsantrasyonda latanoprost asidi (LAT-A), travoprost asidi (TRA-A), tafluprost asidi (TAF-A), bimatoprost, bimatoprost asidi (BİM-A), unoproston (UNO) ve PGF₂α uygulanmıştır. LAT-A, TAF-A, BİM-A, TRA-A ve PGF₂α, 3T3-L1 murin preadiposit dizisi ve vahşi

tip fare adipositleri üzerinde belirgin atrofiye neden olurken, FP reseptörü hasarlanmış fare adiposit kültüründe herhangi bir değişim izlenmemiştir [7]. Draman ve ark. 3T3-L1 murin preadiposit hücre dizisini, beş adet graves orbitopati hastası ve beş adet sağlıklı kişiden elde edilen primer insan orbital fibroblastlarını tek başına ve PGF2 α ile kültüre etmiştir. Her üç hücre kültüründe de PGF2 α eklenmesi ile birlikte, hücrelerin proliferasyonunda belirgin azalma meydana gelmiştir. 3T3-L1 hücrelerinde, PGF2 α eklendikten sonra adipogenezis değerlendirildiğinde, hücrelerde morfolojik olarak minimal etkilenme olduğu gösterilmesine rağmen, yağ dokusu farklılaşma faktörü olan gliserol-3-fosfat dehidrogenaz enzim düzeyinde belirgin azalma saptanmıştır. Primer insan orbital fibroblast kültürlerinde, PGF2 α eklenmesi ile birlikte, adipogeneziste azalma olduğu hem morfolojik olarak hem de yağ dokusu farklılaşma faktörlerinde meydana gelen azalma ile gösterilmiştir. PGF2 α ile her üç hücre kültüründe de lipoliz bulgusuna rastlanmamıştır. Bu çalışmada PA'ların, graves orbitopati tedavisinde efektif bir tedavi aracı olabileceği vurgulanmıştır [68].

PA'ların periorbital bölgede meydana getirdiği değişiklikler; göz kapağında involüsyon, üst göz kapağı katlantısında yükselme, süperior sulkusta çökme, dermatoşalaziste gerileme, orbital yağ dokusu kaybı ve enoftalmus birlikteliği şeklinde ilk kez Peplinski ve ark. tarafından tanımlanmıştır [2].

Prostaglandinlere bağlı yağ dokusu atrofisi, Jayaprakasam ve ark. tarafından manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ile gösterilmiştir. İki yıldır bimatoprost kullanan hastada, tek taraflı üst göz kapağı sulkusunda derinleşme, yaklaşık 2 mm rölatif enoftalmus ve belirgin periorbital yağ dokusu kaybı meydana geldiği saptanmıştır. MRG ile periorbital yağ dokusu atrofisinin, özellikle kapak altında ve medialde geliştiği gösterilmiştir. İlaç kesildikten yaklaşık 9 ay sonra, üst göz kapağı sulkusundaki derinleşmenin gerilediği ve kapaklar arasında simetrinin yeniden sağlandığı görülmüştür. Yazarlar yağ atrofisindeki geri dönüşün, PGF2 α molekülünün ortamdaki uzaklaşması ile adipogenezis üzerindeki inhibitör etkisinin ortadan kalkmasına ve üretimin tekrar başlamasına bağlı olduğunu düşünmüşlerdir [54].

Park ve ark. tarafından, PA kullanan hastalarda, üst göz kapağı preapönrotik yağ dokusundan alınan biyopsilerde, yağ dokusu atrofisi sonucu meydana gelen histolojik değişiklikler gösterilmiştir. Yağ dokusunda atrofi sonucu; hücre içi yağ miktarında azalma, birim alana düşen adiposit sayısında artma ve hücre

çekirdeklerinde kümelenme izlenmiştir. Histopatolojik kesitlerde inflamasyon, fibrozis ve nekroz bulgusuna rastlanmamıştır. Birim alana düşen hücre sayısı artışı, en fazla bimatoprost, daha sonra travoprost ile meydana gelmiştir. Latanoprost ile kontrol grubu arasında, birim alana düşen hücre sayısı bakımından anlamlı fark bulunmamıştır [4]. Erişkinlerde yağ dokusu hacim değişiklikleri, adiposit sayısından çok hücre içi yağ miktarı tarafından kontrol edilmektedir [65]. PA kullanımına bağlı, periorbital yağ dokusunda meydana gelen değişimlerin yağ dokusunda meydana gelen atrofiye sekonder olduğu düşünülürse; hücre içi yağ miktarında azalma meydana geleceği için, birim alana düşen hücre sayısında görece artış meydana gelmesi beklenmektedir. Bu çalışmada, PA kullanan hastalardan ve sağlıklı kişilerden alınan preapönötik yağ dokusu histolojik olarak incelenmiştir. PA kullanan hastalarda, kontrol grubuna göre birim alana düşen hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma ile bimatoprostun, $PGF2\alpha$ gibi, hatta ondan daha güçlü antiadipojenik etki gösterdiği ve PA'ların topikal kullanımında, periorbital bölgede meydana gelen derinleşmenin olası mekanizmasının yağ dokusu atrofisi olduğu gösterilmiştir [4].

2.4. Apoptozis ve Hücre Çekirdeklerinin Morfolojik Özellikleri

Apoptozis, hücrelerin fizyolojik olarak ölüme gittiği aktif bir süreçtir. Apoptozis, doku homeostazının gelişimi ve regülasyonu sırasında veya çevresel uyaranlarda meydana gelen değişimin sonucu olarak meydana gelmektedir [69].

Apoptozisin tetiklenmesi için, kaspaz olarak adlandırılan özel enzimlerin aktive olması gerekmektedir [70]. Bu enzimler hücre içerisinde inaktif olarak bulunan sinyal iletim molekülleri ve hücre organelleri ile ilişki halindedir [69].

Apoptozisin ileri evrelerindeki hücrelerde, nükleer ve sitoplazmik yoğunlaşma ve apoptotik gövdeye membran ile bağlı olan hücre parçacıkları ile karakterize morfolojik değişiklikler meydana gelmektedir. Bu morfolojik değişiklikler ışık mikroskobu ile saptanabilmektedir [71]. Apoptoz sırasında görülen diğer morfolojik değişiklikler, DNA parçalanması ya da DNA içeriğinde meydana gelen azalmadır [72].

Boyanmış çekirdekler üzerinde yapılan görüntü analizleri, apoptozis sırasında oluşan kromatin organizasyonunda meydana gelen değişiklikleri ve DNA miktarını

saptamakta faydalı olabilir. Bu analizler sonucunda, DNA miktarındaki azalma ile birlikte çekirdek morfolojinde meydana gelen hafif değişimler saptanarak, apoptozis erken evrelerde saptanabilir [73].

Hücre çekirdeklerinin morfolojilerinin değerlendirilmesinde kullanılan, nükleer alan, dairesellik, yuvarlaklık ve nükleer alan faktörü ölçümleri, görüntü işleme programları ile hesaplanabilen, apoptotik veya apoptoza giden hücrelerin saptanmasında kullanılan ölçümlerdir. Dairesellik $4\pi(\text{area}/\text{perimeter}^2)$ formülü ile hesaplanmakta olup, değer 1.0 ise mükemmel daireyi, değer sıfıra yaklaştıkça aşırı miktarda uzamış çokgeni göstermektedir. Yuvarlaklık değeri $(4*\text{area}/(\pi*\text{major_axis}^2))$ formülü, nükleer alan ise program tarafından (piksel²) formülü ile hesaplanmaktadır. Nükleer alan faktörü değeri ise dairesellik ve nükleer alan ölçümlerinin çarpımı ile hesaplanmaktadır [74,75].

DeCoster 15 günlük rat embriyolarından elde ettiği primer kortikal nöron hücrelerinde, apoptozisi uyararak hücre çekirdeklerinde meydana gelen morfolojik değişikleri incelemiştir. Primer kortikal nöron hücreleri tek başına ve apoptozisi uyarması için fosfolipaz A2 enzimi ile birlikte kültüre edilmiştir. Hücre çekirdeklerini boyaması için DAPI boyası kullanılmış, görüntüler Image J ve Image Pro Plus yazılımları ile değerlendirilmiştir. Apoptoza giden hücrelerde kontrol grubuna göre, Image J yazılımı ile nükleer alan değerinde minimal, dairesellik değerinde daha belirgin bir azalma olduğu gösterilmiştir. Image Pro Plus yazılımı ile hem nükleer alan hem de dairesellik değerlerinde, apoptoza giden hücrelerde belirgin azalma olduğu gösterilmiştir. Her iki yazılımda da apoptoza giden hücrelerde, nükleer alan faktöründe belirgin bir azalma meydana geldiği gösterilmiştir. Bu çalışmada nükleer alan faktörü ölçümünün, apoptozisi gösteren faydalı bir morfolojik belirteç olabileceği gösterilmiştir [74].

Helmy ve Azim yaptıkları çalışmada, skuamöz hücreli karsinom hücre dizisi olan Hep2 hücreleri üzerine, artan konsantrasyonda sisplatin ekleyerek apoptozisi uyarılmışlar ve hücre çekirdeklerinde meydana gelen morfolojik değişiklikleri incelemiştir. Hep2 hücreleri, kontrol grubu oluşturması için tek başına ve apoptozisin uyarılması için 10 µgm, 5µgm ve 2.5 µgm sisplatin eklenerek kültüre edilmiştir. Sisplatin eklenen hücreler hematoksilen-eozin ve giemsa boyası ile boyanmıştır. Tüm hücre kültürleri, hücre yaşılabirliği ve hücre çekirdeklerinin

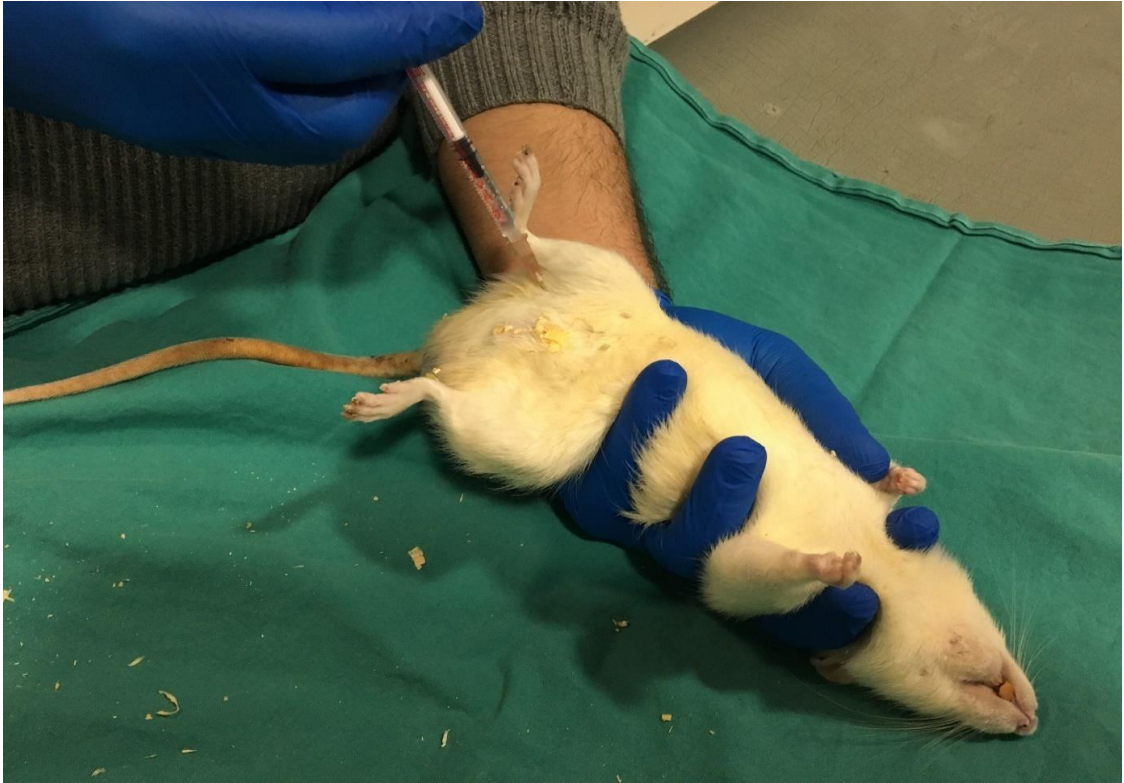
morfolojik özellikleri açısından değerlendirilmiştir. Artan sisplatin dozu ile birlikte, hücre yaşabilirliğinde azalma olduğu gösterilmesine rağmen, doz artımı ile birlikte apopitoza giden hücre sayısında artış olmadığı saptanmıştır. Hücre çekirdeklerinde meydana gelen morfolojik değişiklikler Image J yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır. Apopitotik ve apopitoza giden hücrelerde, nükleer alan faktörü değeri, her üç ilaç dozunda da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur. Bu çalışmada, nükleer alan faktörünün, apopitozisin değerlendirilmesinde en güvenilir morfolojik ölçüm olduğunu bildirilmiştir [75].

Park ve ark. tarafından, PA kullanan hastalarda, üst göz kapağı preapönrotik yağ dokusundan alınan biyopsilerde, yağ dokusu atrofi sonucu meydana gelen histolojik değişiklikler gösterilmiştir. Yağ dokusunda atrofi sonucu; hücre içi yağ miktarında azalma, birim alana düşen adiposit sayısında artma ve hücre çekirdeklerinde kümelenme meydana geldiği bildirilmiştir [4]. Atrofiye sekonder adiposit çekirdeklerinde meydana gelen kümelenmenin histolojik olarak gösterilmesine rağmen; retrobulber PA enjeksiyonu sonrası, adiposit hücre çekirdeklerinin morfolojik özelliklerinin değerlendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda, retrobulber PA enjeksiyonunun, adiposit çekirdeklerinde meydana getirdiği morfolojik değişiklikler ve meydana gelen bu değişikliklerin apopitozis ile ilgili olup olmadığı saptanmaya çalışılmıştır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu onayı alındıktan sonra, Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme Laboratuvarı'ndan, 18 adet erişkin, erkek Wistar-albino rat alındı. Ratlar bimatoprost, latanoprost ve travoprost olmak üzere, 6 hayvandan oluşan 3 gruba ayrıldı.

Ratlara intraperitoneal ksilazin (4-8 mg/kg)/ketamin (20-40 mg/kg) anestezisi uygulandıktan sonra (Şekil 3.1), 16 dedektörlü Somatom Sensation 16 (Siemens, Erlangen, Almanya) cihazında, 80 kV 270 mA değerleri ile verteksten 1. servikal vertebraya dek BT taramaları yapıldı. (Şekil 3.2) Değerlendirme yumuşak doku filtresi (30f) kullanılarak, 1 mm kesit kalınlığı ile elde olunmuş aksiyel düzlem görüntüleri ve bu görüntülerden oluşturulan koronal ve sagittal reformatlar ile birlikte yapıldı.



Şek 3.1. İntraperitoneal ksilazin+ketamin anestezisi uygulanması



Şekil 3.2. Bilgisayarlı tomografi çekimi

BT çekimleri tamamlandıktan sonra, bimatoprost grubundaki ratların sağ orbitalarına 0,1 ml bimatoprost (Lumigan, Allergan, Irvine, CA, USA) enjeksiyonu, sol orbitalarına 0.1 ml %0.9 konsantrasyonunda serum fizyolojik enjeksiyonu; latanoprost grubundaki ratların sağ orbitalarına 0.1 ml latanoprost (Xalatan, Pfizer, Inc, New York, NY), sol orbitalarına 0.1 ml %0.9 konsantrasyonunda serum fizyolojik enjeksiyonu; travoprost grubundaki ratların sağ orbitalarına travoprost (Travatan, Alcon, Fort Worth, TX, USA) enjeksiyonu, sol orbitalarına %0.9 konsantrasyonunda serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı. (Şekil 3.3) Orbita enjeksiyon işlemleri, PPD enjektörü ile globun kaudal tarafındaki ligament geçildikten sonra, yaklaşık 45 derece eğim verilerek globun arkasına uygulandı. Ardından ratlar, 3 hafta boyunca Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi'nde gözleme alındı.



Şekil 3.3. Retrobulber enjeksiyon uygulanması

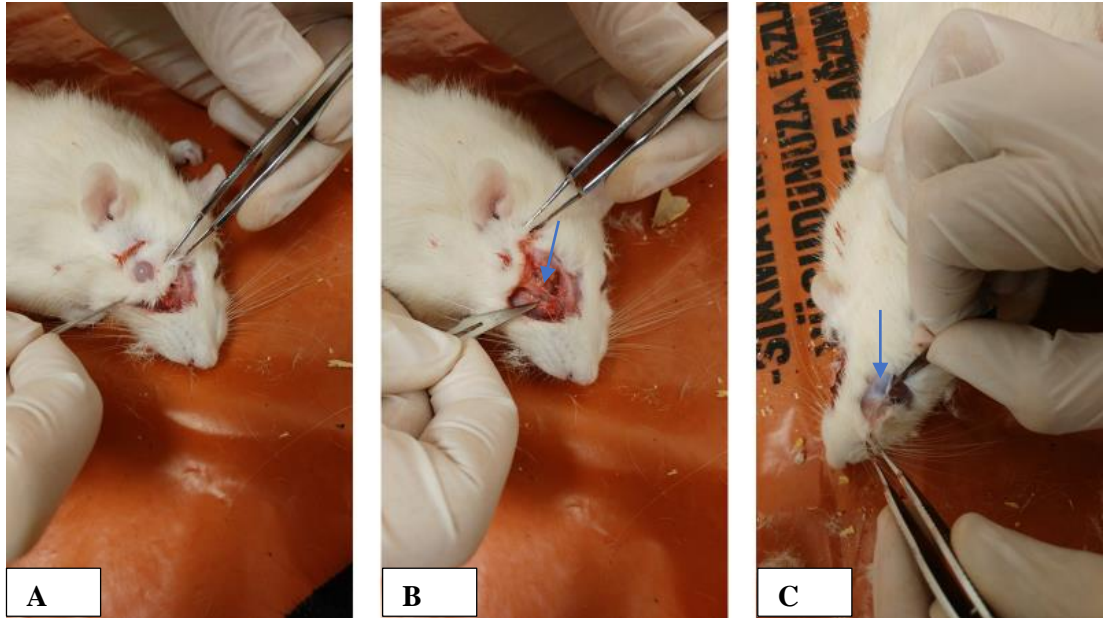
Üç haftalık gözlem süresinin sonunda, ratlara tekrardan ksilazin (4-8 mg/kg)/ketamin (20-40 mg/kg) anestezisi uygulandı ve aynı parametreler kullanılarak kontrol BT taramaları yapıldı. Ardından bimatoprost, latanoprost ve travoprost grubundaki ratlar sırasıyla karbodioksit tankına alınarak ötenazi edildi.

Ötenazi işlemi tamamlandıktan sonra, ratların orbita sınırları, palpasyon ve bistüri yardımıyla belirlendi. (Şekil 3.4) Bistüri ve penset yardımı ile orbita kranial, kaudal, dorsal ve ventral sınırları çizilerek cilt ve cilt altı dokular diseke edildi. (Şekil 3.5-A) Globun, kranial ve kaudal uçta yer alan ligamentler ile orbita içerisinde asılı durduğu görüldü. Kranial uçtaki ligamentin, kemik dokuya sıkı bir şekilde yapışık olduğu (Şekil 3.5-B), kaudal uçtaki ligamentin ise fasya şeklinde kas dokusu üzerine yayılım gösterdiği izlendi. (Şekil 3.5-C) Kranial uçtaki ligament kesildikten sonra, orbitanın dorsal ve ventral sınırlarından kemik doku üzerindeki periost da dahil edilerek, orbita içerisindeki doku orbita apeksine kadar diseke edildi. Ardından kaudal uçta bulunan ligament kas dokusu ile birlikte kesilerek orbita kemik yapısına kadar diseke edildi. (Şekil 3.6-A) Son olarak optik sinir kesilerek, orbital doku

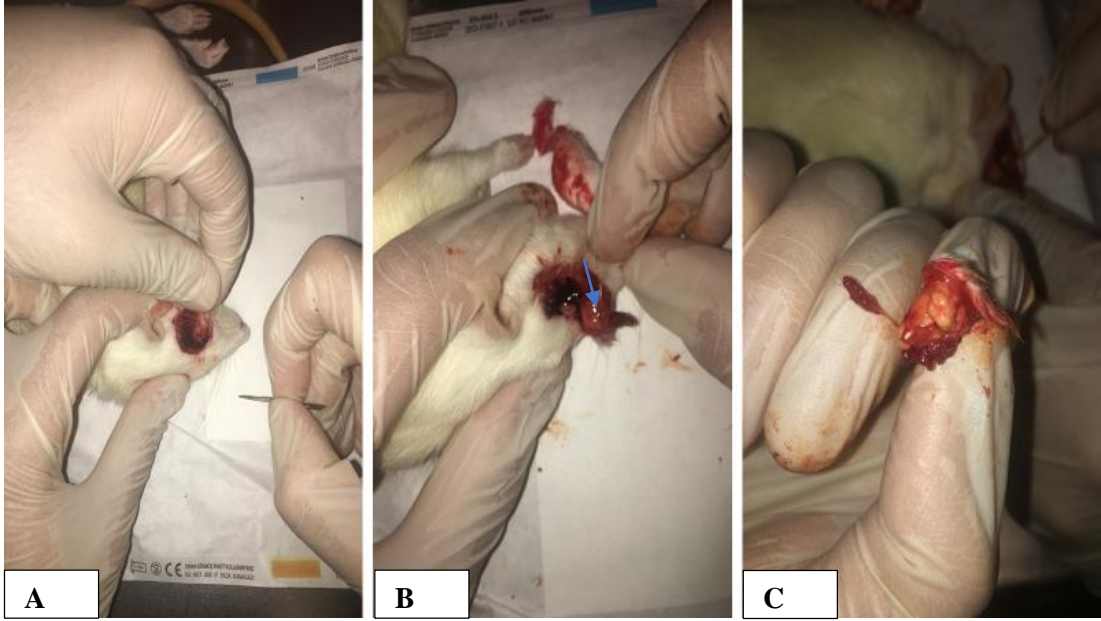
serbestleştirildi (Şekil 3.6-B) ve cilt, cilt altı dokusu, glob ve orbita içi yumuşak dokudan oluşan ekzenterasyon materyali elde edildi. (Şekil 3.6-C) Bu işlem sırasıyla tüm ratların sağ ve sol orbitalarına uygulandı.



Şekil 3.4. Ekzenterasyon öncesi orbita sınırlarının palpasyon ve bistüri yardımıyla belirlenmesi



Şekil 3.5. Orbita kranial, kaudal, dorsal ve ventral sınırlarının çizilerek, cilt ve cilt altı dokuların diseksiyonu (A), kemik dokuya sıkı şekilde yapışık olan fibröz ligament (ok) (B), fasya şeklinde kas üzerine yayılım gösteren ligament (ok) (C)

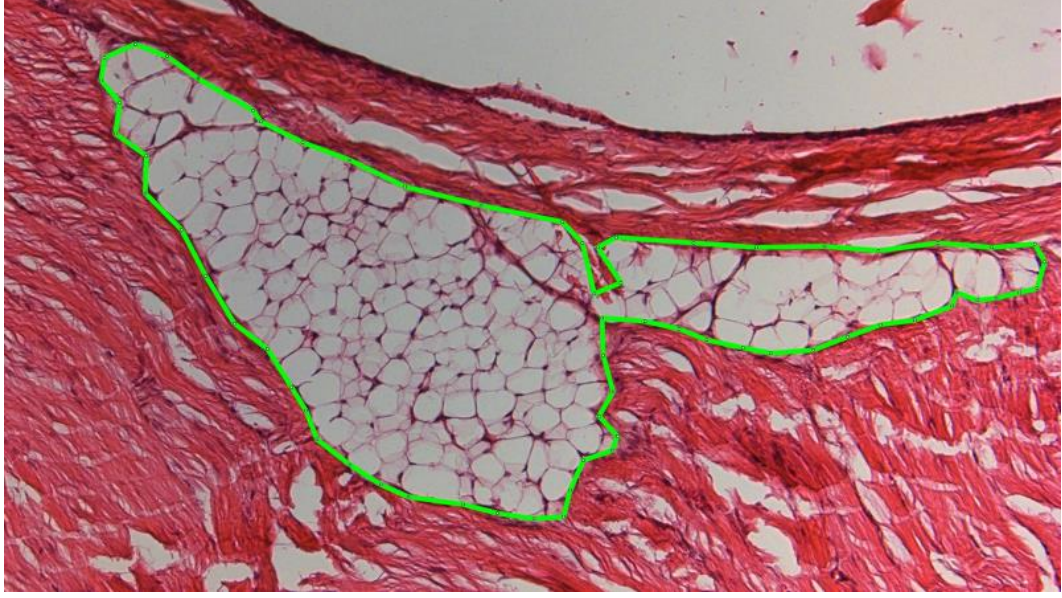


Şekil 3.6. Orbita içerisinde yer alan dokunun, orbita apeksine kadar diseke edilmesi (A), optik sinirin (ok) kesilerek orbital dokunun serbestleştirilmesi (B), ekzenterasyon materyali (C)

Ekzenterasyon işlemi tamamlandıktan sonra, cerrahi olarak eksize edilen dokular %10 nötral formaldehit içinde 14 gün tespit edildi. Doku örnekleri takip için Leica TP 1020 ışık mikroskobu takip cihazına alındı. Doku takip cihazından alınan örnekler, Leica Eg1150H parafin istasyonunda saf parafine gömülerek parafin bloklar elde edildi. Elde edilen parafin bloklardan 4µm kalınlığında kesitler alındı. Deparafinizasyon sonrası, kesitler hematoksilin-eosin ile boyandı ve Leica DM6B ışık mikroskobu ile incelendi ve görüntüler Leica DFC7000T (Wetzlar-Germany) dijital kamera ile bilgisayar ortamına aktarıldı.

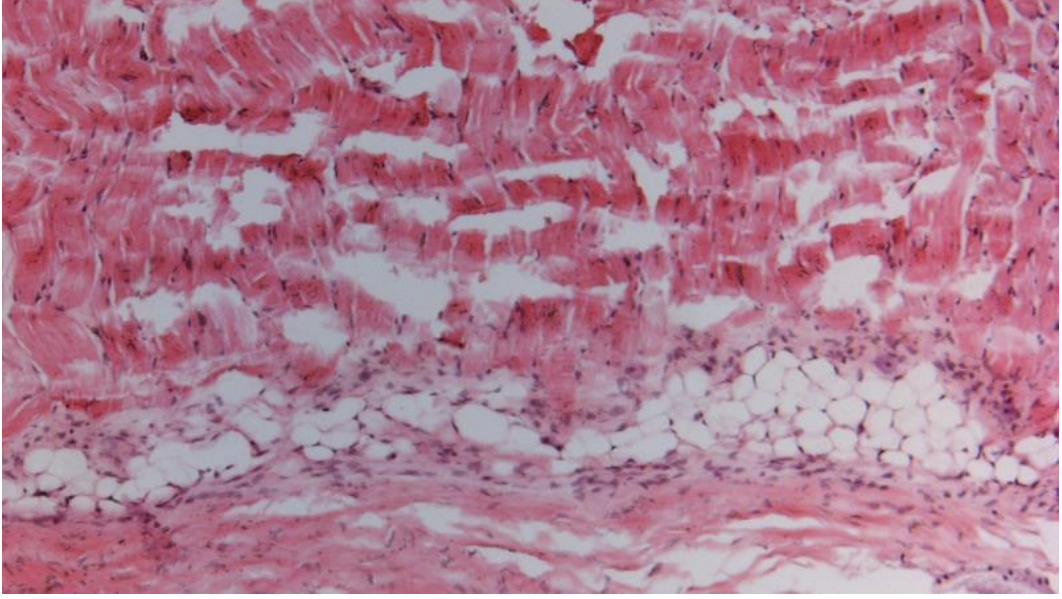
Dijital kamera ile bilgisayar ortamına aktarılan histolojik kesitlerden, her ratın sağ ve sol orbitasına ait olan 10'luk büyütmedeki kesitler seçildi. Seçilen kesitlerde, ImageJ (Rasband, W.S., US National Institutes of Health, Bethesda, MD) yazılımı kullanılarak adiposit yoğunluğu ölçümü yapıldı. (Şekil 3.7) Adiposit yoğunluğu ölçümü, iki farklı gözlemci tarafından farklı zamanlarda çift kör olarak birim alana düşen adiposit sayısı sayıldıktan sonra, her kesit için sayılan hücrelerin ortalama sayıları alınarak hesaplandı. Birim alana düşen adiposit sayısı hesaplanırken, histolojik kesitin periferinde yer alan yağ dokusu hücreleri, kan damarları ve bağ doku

elemanları birim alana dahil edilmemiştir [8]. Her histolojik kesit için ayrı ayrı ölçümler yapılarak, her grupta PA enjeksiyonu yapılan orbitaya ait olan ölçümler, serum fizyolojik enjeksiyonu yapılan orbitaya ait olan ölçümler ile karşılaştırıldı.

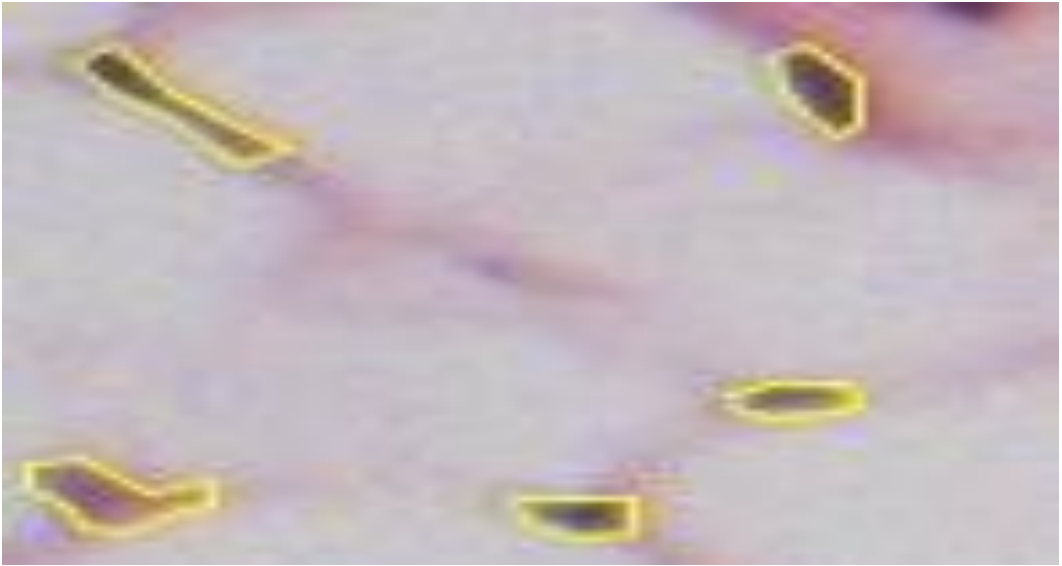


Şekil 3.7. 10'luk büyütmedeki histolojik kesit üzerinde yağ dokusu sınırlarının Image J programı ile belirlenmesi, birim alana düşen adiposit yoğunluğu hesabı

Her hayvanın 10'luk büyütmedeki histolojik kesitinden (Şekil 3.8), randomize olarak çizilen 100x100 mikrometrelik bir alan (Şekil 3.9), iki ayrı gözlemci tarafından çift kör olacak şekilde değerlendirilerek, alan içerisine giren hücre çekirdeklerinin toplam alan, dairesellik (circularity) ve yuvarlaklık (roundness) değerleri ImageJ (Rasband, W.S., US National Institutes of Health, Bethesda, MD) yazılımı kullanılarak hesaplandı. Daha sonra bu değerlerin ortalaması alınarak, her grupta PA enjeksiyonu yapılan orbitaya ait olan ölçümler, serum fizyolojik enjeksiyonu yapılan orbitaya ait olan ölçümler ile karşılaştırıldı.



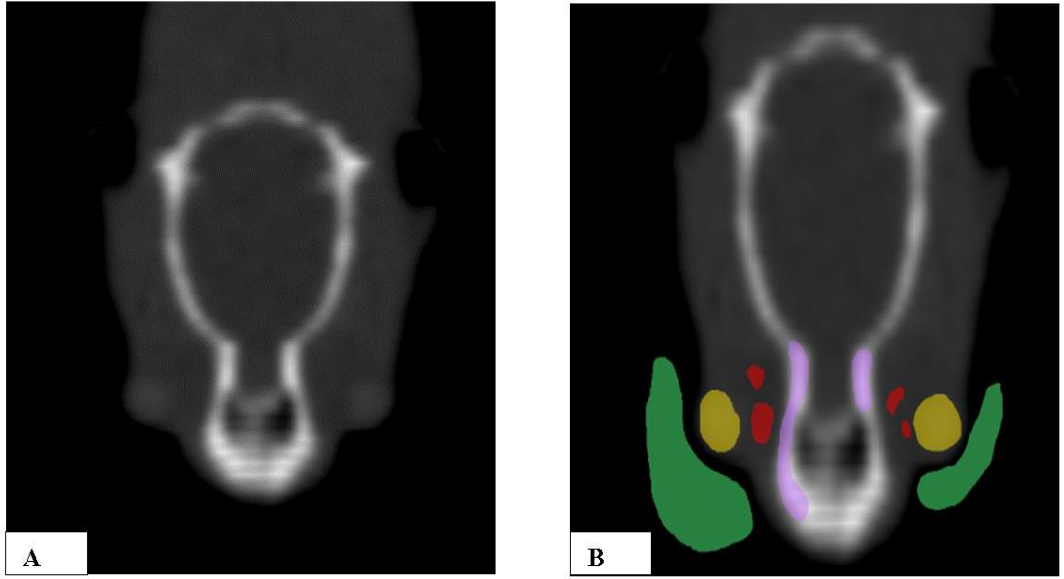
Şekil 3.8. 10'luk büyütmedeki histolojik kesit



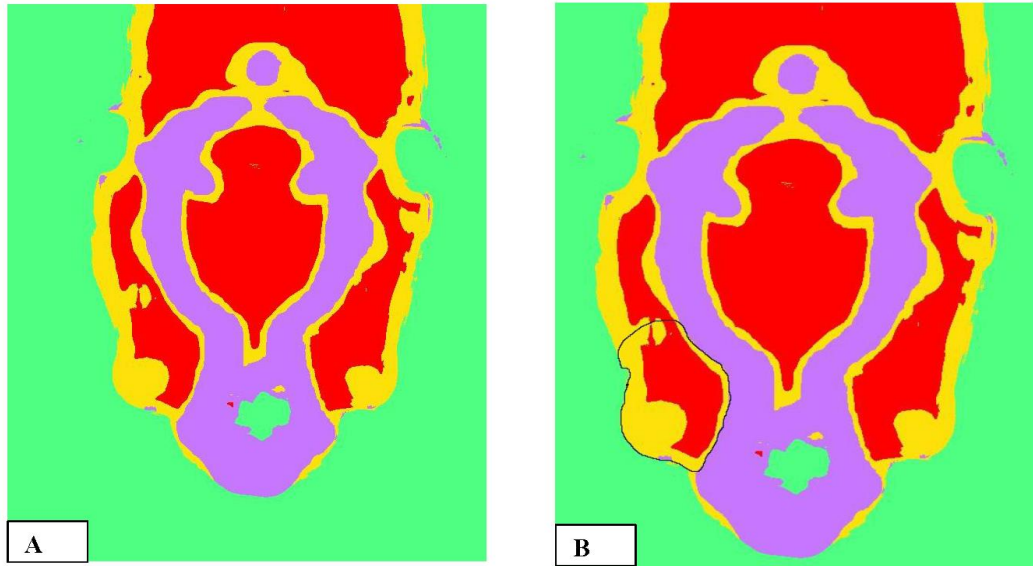
Şekil 3.9. 10'luk büyütmedeki histolojik kesitten rastgele alınan, 100x100 mikronluk görüntüde, Image J programı ile hücre çekirdeklerinin morfolojik ölçümlerinin yapılması

Enjeksiyon yapılmadan önce bilgisayarlı tomografi ile elde edilen aksiyel kesitler, ImageJ (Rasband, W.S., US National Institutes of Health, Bethesda, MD) yazılımı kullanılarak, sekanslara ayrılıp kayıt edildi. (Şekil 3.10-A) Image J yazılımındaki Trainable Weka Segmentation sekmesi kullanılarak, yağ dokusu, kemik

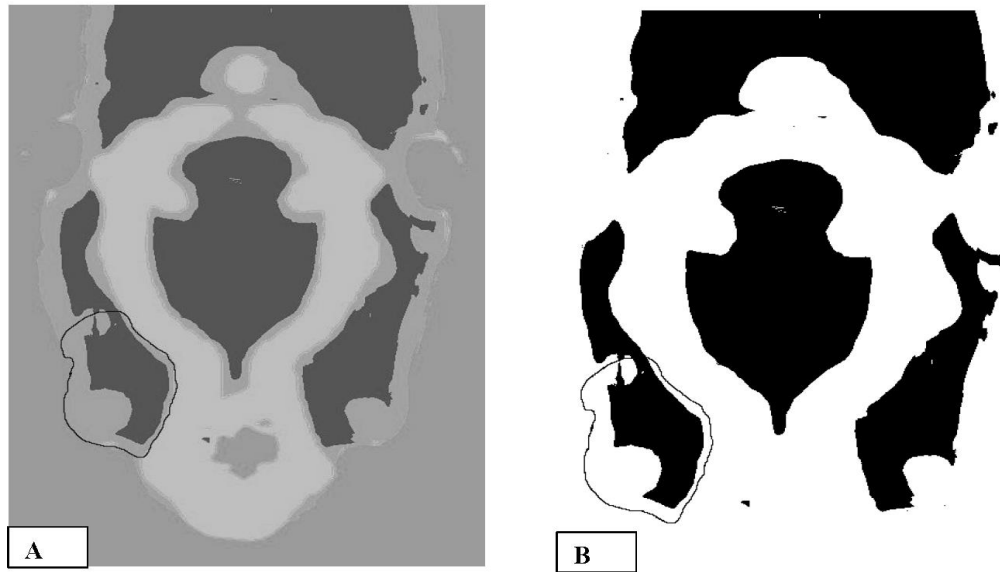
dokusu, glob ve boşluk içeren alanlar tanımlandı. (Şekil 3.10-B) Trainable Weka Segmantation programı tarafından işlenen BT görüntüsü üzerinde (Şekil 3.11-A), orbita sınırları manuel olarak çizildi. Orbita sınırları çizilirken; lateralde ve kranialde cilt altından başlayıp, globu ve arkasında kalan yumuşak dokuyu içine alacak şekilde, orbitanın medial duvarına kadar ulaşıldı. Daha sonra kranial-kaudal yönde orbita medial duvarı takip edilerek, kaudal uçta kranial kemikteki orbita dışı kasların birleşim noktasına gelindi. Ardından laterale doğru dönülerek cilt altındaki başlangıç noktasına ulaşıldı. (Şekil 3.11-B) Bu çizim işlemi globun ilk görüldüğü aksiyel kesitten başlayarak, zigomatik kemik gövdesinin tek görüldüğü kesit dahil olacak şekilde tüm kesitlere tek tek uygulandı. Daha sonra görüntüler, 8 bit çözünürlükte gri skala görüntülere dönüştürüldü. (Şekil 3.12-A) Ardından bu görüntülerin treshold haritaları çıkarıldı. Treshold haritaları üzerinden, o kesit üzerinde sınırları çizilmiş olan alanın total hacmi ve bu hacim içerisindeki yağ dokusu yüzdesi hesaplandı. (Şekil 3.12-B) Daha sonra tüm kesitlerden elde edilen ölçümler toplanarak, total orbita hacmi ve orbita içerisindeki yağ dokusu olan alanların hacmi, tüm ratların sağ ve sol orbitaları için tek tek hesaplandı. Aynı işlemler enjeksiyon sonrası elde edilen aksiyel BT kesitlerine de uygulandı. Daha sonra işlem öncesi görüntülerden elde edilen total orbita hacmi ve yağ dokusu hacmi ölçümleri ile, işlem sonrası görüntülerden elde edilen total orbita hacmi ve yağ dokusu hacmi ölçümleri karşılaştırıldı.



Şekil 3.10. Bilgisayarlı tomografi ile elde edilen aksiyel kesitlerin Image J yazılımı ile sekanslara ayrılıp kayıt edilmesi (A), Image J yazılımındaki Trainable Weka Segmentation sekmesi kullanılarak yağ dokusu (kırmızı), kemik dokusu (mor), glob (sarı) ve boşluk (yeşil) içeren alanların tanımlanması (B)



Şekil 3.11. Image J yazılımındaki Trainable Weka Segmantation sekmesi tarafından işlenen BT görüntüsü (A), görüntü üzerinden orbita sınırlarının çizilmesi (B)



Şekil 3.12. Image J yazılımındaki Trainable Weka Segmentation sekmesi tarafından görüntünün 8 bit gri skalaya dönüştürülmesi (A), treshhold haritası çıkarılarak sınırları çizilen alanın hacminin ve bu hacim içerisindeki yağ dokusu yüzdesinin hesaplanması (B)

3.1. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada ratların sağ ve sol gözleri bağımsız kabul edilmiştir. Sadece sağ gözlerde farklı ilaç denemeleri yapılmıştır. Bu nedenle hem her bir ilaç uygulamasında ayrı olarak, hem de tüm ilaç denemelerinde aynı anda sağ-sol gözlere ilişkin sayısal değişkenlerin karşılaştırılması “İki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi” ile yapılmıştır.

Sadece farklı ilaç denemeleri yapılan sağ gözlerde ilaç uygulamaları arasındaki farklılık “Tek yönlü Varyans Analizi” ile incelenmiştir. Farklılık bulunan değişkenlerde farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını anlamak için çoklu karşılaştırma testi olarak LSD testi uygulanmıştır. Gözlerde ilaç uygulama öncesi ve sonrası elde edilen özellikler “İki eş arasındaki farkın önemlilik testi” ile karşılaştırılmıştır.

Tanımlayıcı istatistik olarak ortalama \pm standart sapma verilmiştir. Tüm analizler IBM SPSS Statistics 23.0 programında yapılmıştır. $P < 0.05$ olduğunda istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilmiştir.

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Ratlarda Retrobulber Prostaglandin Analogu Enjeksiyonunun Orbital Yağ Dokusu Üzerine Etkisinin Bilgisayarlı Tomografi ile ve Histolojik Olarak İncelenmesi İsimli Çalışma Veri Toplama Formu	
Hayvan No:	
Deney Cinsi:	Olgu/ Kontrol
Kullanılan Etken Madde:	Bimatoprost/ Latanoprost/ Travoprost
Enjeksiyon Öncesi Bilgisayarlı Tomografi Tarihi:	
Enjeksiyon Öncesi Bilgisayarlı Tomografi Orbita Hacmi:	
Bekleme Süresince İzlenen Beklenmedik Olaylar:	
Enjeksiyon Sonrası Bilgisayarlı Tomografi Tarihi:	
Enjeksiyon Sonrası Bilgisayarlı Tomografi Orbita Hacmi:	
Histolojik İnceleme:	
Orbital Yağ Dokusu Hücre Yoğunluğu:	
Orbital Yağ Dokusu Hücre Morfolojisi:	
Diğer:	

Şekil 3.13. Veri toplama formu

4. BULGULAR

Çalışmamızda 18 adet Wistar-albino erişkin erkek rat; bimatoprost, latanoprost ve travoprost olarak 6 hayvandan oluşan 3 gruba ayrıldı. Hayvanların sağ orbitalarına 0,1 ml ilaç enjeksiyonu, sol orbitalarına 0,1 ml SF enjeksiyonu yapıldı. Enjeksiyon öncesi ve sonrası BT çekilerek, orbita yağ dokusu hacmi ile total orbita hacmi ölçümleri hesaplandı. Daha sonra ratlara ekzenterasyon uygulanarak, histolojik kesitler üzerinden birim alana düşen hücre sayıları ve hücre çekirdeklerinin morfolojik özellikleri hesaplandı.

Bimatoprost grubunda, histolojik kesitlerde birim alana düşen hücre sayısı sağ tarafta $2803,7 \pm 241,2/\text{mmkare}$, sol tarafta $2804,9 \pm 443,1/\text{mmkare}$ olarak hesaplandı. T testi sonucuna göre her iki orbita arasında birim alana düşen hücre sayıları açısından anlamlı fark saptanmadı. ($p=0,995$) Hücre çekirdeklerinin morfolojik özelliklerine bakıldığında; nükleer alan sağ tarafta $81,3 \pm 19,8$ (pikselkare), sol tarafta $89,8 \pm 20,7$ (pikselkare), dairesellik sağ tarafta $0,69 \pm 0,07$, sol tarafta $0,69 \pm 0,07$, yuvarlaklık sağ tarafta $0,53 \pm 0,09$, sol tarafta $0,61 \pm 0,12$ olarak hesaplanmıştır. T testi ile her 3 morfolojik özellikte sağ ve sol taraf arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. ($p > 0,05$) Tablo 4.1' de bimatoprost grubunda, histolojik kesitlerde birim alana düşen hücre sayısı ve hücre çekirdeklerinin morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması gösterilmektedir. Bimatoprost enjeksiyonu yapılan ratlarda, histolojik kesitlerde birim alana düşen hücre sayısı ve hücre çekirdeklerinin morfolojik özellikleri karşılaştırıldığında, her iki orbita arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 4.1. Bimatoprost grubunda, histolojik kesitlerde birim alana düşen hücre sayısı ve hücre çekirdeklerinin morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması

Bimatoprost		Yön	Sayı	Ortalama	Standart Sapma	P değeri (T testi)
Birim alana düşen hücre sayısı	Sağ	6	2803,7/mm ²	241,2	0,995	
	Sol	6	2804,9/mm ²	443,1		
Hücre çekirdek alanı (pikselkare)	Sağ	6	81,3	19,8	0,485	
	Sol	6	89,8	20,7		
Dairesellik	Sağ	6	0,69	0,07	0,998	
	Sol	6	0,69	0,07		
Yuvarlaklık	Sağ	6	0,53	0,09	0,238	
	Sol	6	0,61	0,12		

Bimatoprost grubunda, enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümleri karşılaştırıldığında; enjeksiyon öncesi ortalama orbita yağ hacmi sağ tarafta $287,33 \pm 54,1$ mmküp, sol tarafta $286,2 \pm 74,2$ mmküp olarak hesaplandı. ($p=0,977$) Enjeksiyon öncesi ortalama orbita yağ hacminin, ortalama total orbita hacmine oranı her iki tarafta $0,40 \pm 0,08$ olarak hesaplandı. ($p=0,926$) Enjeksiyon sonrası ortalama orbita yağ hacmi sağ tarafta $320,3 \pm 64,1$ mmküp, sol tarafta $317,1 \pm 48,8$ mmküp olarak hesaplandı. ($p=0,925$) Enjeksiyon sonrası ortalama orbita yağ hacminin, ortalama total orbita hacmine oranı sağ tarafta $0,44 \pm 0,08$, sol tarafta $0,43 \pm 0,08$ olarak hesaplandı. ($p=0,718$) Enjeksiyon sonrası ortalama orbita yağ hacminde meydana gelen fark; sağ tarafta $33 \pm 71,6$ mmküp iken, sol tarafta $30,9 \pm 75,2$ mmküp olarak hesaplandı. ($p=0,962$) Enjeksiyon sonrası ve öncesi, ortalama orbita yağ hacminin, ortalama total orbita hacmine oranının farkı, sağ tarafta $0,039 \pm 0,118$, sol tarafta $0,031 \pm 0,076$ olarak hesaplandı. ($p=0,898$) Tablo 4.2' de bimatoprost grubunda enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümlerinin karşılaştırılması gösterilmiştir. Bimatoprost grubunda, enjeksiyon öncesi ve sonrası, sağ ve sol orbita BT ölçümleri karşılaştırıldığında, hiçbir parametrede istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 4.2. Bimatoprost grubunda enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümlerinin karşılaştırılması

Bimatoprost	Yön	Sayı	Ortalama	Standart Sapma	P değeri (T testi)
Enjeksiyon öncesi yağ hacmi (mmküp)	Sağ	6	287,33	54,1	0,977
	Sol	6	286,2	74,2	
Enjeksiyon öncesi total orbita hacmi (mmküp)	Sağ	6	717,5	110,8	0,988
	Sol	6	716,4	136,3	
Enjeksiyon öncesi yağ/orbita hacmi	Sağ	6	0,40	0,083	0,926
	Sol	6	0,40	0,08	
Enjeksiyon sonrası yağ hacmi (mmküp)	Sağ	6	320,3	64,1	0,925
	Sol	6	317,1	48,8	
Enjeksiyon sonrası total orbita hacmi (mmküp)	Sağ	6	716,9	59,1	0,638
	Sol	6	732,4	50,6	
Enjeksiyon sonrası yağ/orbita hacmi	Sağ	6	0,44	0,083	0,718
	Sol	6	0,43	0,08	
Enjeksiyon sonrası-öncesi yağ hacmi farkı (mmküp)	Sağ	6	33	71,6	0,962
	Sol	6	30,9	75,2	
Enjeksiyon sonrası- öncesi total orbita hacmi farkı (mmküp)	Sağ	6	-0,63	115,6	0,848
	Sol	6	15,9	171,7	
Enjeksiyon sonrası-öncesi yağ/total orbita hacmi farkı	Sağ	6	0,039	0,118	0,898
	Sol	6	0,031	0,076	

Latanoprost grubunda, histolojik kesitlerde birim alana düşen hücre sayısı sağ tarafta $3654 \pm 1192/\text{mmkare}$, sol tarafta $3138 \pm 812/\text{mmkare}$ olarak hesaplandı. T testi sonucuna göre her iki orbita arasında birim alana düşen hücre sayıları açısından anlamlı fark saptanmadı. ($p=0,402$) Hücre çekirdeklerinin morfolojik özelliklerine bakıldığında; nükleer alan sağ tarafta $77,9 \pm 13,7$ pikselkare, sol tarafta $83,8 \pm 21,9$ pikselkare, dairesellik sağ tarafta $0,57 \pm 0,067$, sol tarafta $0,64 \pm 0,081$, yuvarlaklık sağ tarafta $0,50 \pm 0,1$, sol tarafta $0,52 \pm 0,04$ olarak hesaplanmıştır. T testi ile her 3 morfolojik özellikte, sağ ve sol taraf arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. ($p > 0,05$) Tablo 4.3' te latanoprost grubunda, histolojik kesitlerde birim alana düşen hücre sayısı ve hücre çekirdeklerinin morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması gösterilmektedir. Latanoprost enjeksiyonu yapılan ratlarda, histolojik kesitlerde birim alana düşen hücre sayısı ve hücre çekirdeklerinin morfolojik özellikleri karşılaştırıldığında, her iki orbita arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 4.3. Latanoprost grubunda, histolojik kesitlerde birim alana düşen hücre sayısı ve hücre çekirdeklerinin morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması

Latanoprost		Yön	Sayı	Ortalama	Standart Sapma	P değeri (T testi)
	Birim alana düşen hücre sayısı	Sağ	6	3654/mmkare	1192	0,402
		Sol	6	3138/mmkare	812	
	Hücre çekirdek alanı (pikselkare)	Sağ	6	77,9	13,7	0,585
		Sol	6	83,8	21,9	
	Dairesellik	Sağ	6	0,57	0,067	0,125
Sol		6	0,64	0,081		
Yuvarlaklık	Sağ	6	0,50	0,10	0,7	
	Sol	6	0,52	0,04		

Latanoprost grubunda, enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümleri karşılaştırıldığında; sağ taraf enjeksiyon öncesi ortalama orbita yağ hacmi $374,5 \pm 121,4$ mmküp, sol taraf enjeksiyon öncesi ortalama orbita yağ hacmi $413 \pm 153,9$ mmküp olarak hesaplandı. ($p=0,640$) Enjeksiyon öncesi ortalama orbita yağ hacminin, ortalama total orbita hacmine oranı sağ tarafta $0,44 \pm 0,097$, sol tarafta $0,48 \pm 0,084$ olarak hesaplandı. ($p=0,491$) Enjeksiyon sonrası ortalama orbita yağ hacmi sağ tarafta $390,3 \pm 92$ mmküp, sol tarafta $407,9 \pm 65,9$ mmküp olarak hesaplandı. ($p=0,711$) Enjeksiyon sonrası ortalama orbita yağ hacminin, ortalama total orbita hacmine oranı

sağ tarafta $0,47 \pm 0,094$, sol tarafta $0,49 \pm 0,073$ olarak hesaplandı. ($p=0,694$) Enjeksiyon sonrası ortalama orbita yağ hacminde meydana gelen fark; sağ tarafta $15,7 \pm 134,7$ mmküp, sol tarafta $-5,1 \pm 144,9$ mmküp olarak hesaplandı. ($p=0,801$) Enjeksiyon sonrası ve öncesi, ortalama yağ hacminin, ortalama total orbita hacmine oranının farkı, sağ tarafta $0,06 \pm 0,15$, sol tarafta $0,0099 \pm 0,08$ olarak hesaplandı. ($p=0,765$) Tablo 4.4' te latanoprost grubunda enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümlerinin karşılaştırılması gösterilmiştir. Latanoprost grubunda, enjeksiyon öncesi ve sonrası, sağ ve sol orbita BT ölçümleri karşılaştırıldığında, hiçbir parametrede istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 4.4. Latanoprost grubunda enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümlerinin karşılaştırılması

Latanoprost	Yön	Sayı	Ortalama	Standart Sapma	P değeri (T testi)
Enjeksiyon öncesi yağ hacmi (mmküp)	Sağ	6	374,5	121,4	0,640
	Sol	6	413	153,9	
Enjeksiyon öncesi total orbita hacmi (mmküp)	Sağ	6	837	134,7	0,951
	Sol	6	843	189,7	
Enjeksiyon öncesi yağ/orbita hacmi	Sağ	6	0,44	0,097	0,491
	Sol	6	0,48	0,084	
Enjeksiyon sonrası yağ hacmi (mmküp)	Sağ	6	390,3	92	0,711
	Sol	6	407,9	65,9	
Enjeksiyon sonrası total orbita hacmi (mmküp)	Sağ	6	827,6	82,4	0,930
	Sol	6	831,2	56,9	
Enjeksiyon sonrası yağ/orbita hacmi	Sağ	6	0,47	0,094	0,694
	Sol	6	0,49	0,073	
Enjeksiyon sonrası- öncesi yağ hacmi farkı (mmküp)	Sağ	6	15,7	134,7	0,801
	Sol	6	-5,1	144,9	
Enjeksiyon sonrası- öncesi total orbita hacmi farkı (mmküp)	Sağ	6	-9,4	129,4	0,979
	Sol	6	-11,7	165,9	
Enjeksiyon sonrası-öncesi yağ/total orbita hacmi farkı	Sağ	6	0,06	0,15	0,765
	Sol	6	0,0099	0,08	

Travoprost grubunda, histolojik kesitlerde birim alana düşen hücre sayısı sağ tarafta $2868,5 \pm 382$ /mmkare, sol tarafta $2897,7 \pm 596,7$ /mmkare olarak hesaplandı. T testi sonucuna göre her iki orbita arasında birim alana düşen hücre sayıları açısından anlamlı fark saptanmadı. ($p=0,992$) Hücre çekirdeklerinin morfolojik özelliklerine bakıldığında; nükleer alan sağ tarafta $95,8 \pm 31,4$ pikselkare, sol tarafta $91,4 \pm 12,3$ pikselkare, dairesellik sağ tarafta $0,60 \pm 0,1$, sol tarafta $0,65 \pm 0,08$, yuvarlaklık sağ

tarafında $0,49 \pm 0,13$, sol tarafında $0,50 \pm 0,13$ olarak hesaplanmıştır. T testi ile her 3 morfolojik özellikte sağ ve sol taraf arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. ($p > 0,05$) Tablo 4.5’ te travoprost grubunda, histolojik kesitlerde birim alana düşen hücre sayısı ve hücre çekirdeklerinin morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması gösterilmektedir. Travoprost enjeksiyonu yapılan ratlarda, birim alana düşen hücre sayısı ve hücre çekirdeklerinin morfolojik özellikleri karşılaştırıldığında, her iki orbita arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 4.5. Travoprost grubunda, histolojik kesitlerde birim alana düşen hücre sayısı ve hücre çekirdeklerinin morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması

Travoprost		Yön	Sayı	Ortalama	Standart Sapma	P değeri (T testi)
	Birim alana düşen hücre sayısı	Sağ	6	2868,5/mm ²	382	0,922
		Sol	6	2897,7/mm ²	596,7	
	Hücre çekirdek alanı (pikselkare)	Sağ	6	95,8	31,4	0,753
		Sol	6	91,4	12,3	
	Dairesellik	Sağ	6	0,60	0,10	0,331
Sol		6	0,65	0,08		
Yuvarlaklık	Sağ	6	0,49	0,13	0,863	
	Sol	6	0,50	0,13		

Travoprost grubunda, enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümleri karşılaştırıldığında; sağ taraf enjeksiyon öncesi ortalama orbita yağ hacmi $381 \pm 83,6$ mm³, sol taraf enjeksiyon öncesi ortalama orbita yağ hacmi $360,6 \pm 61,6$ mm³ olarak hesaplandı. ($p=0,641$) Enjeksiyon öncesi ortalama orbita yağ hacminin, ortalama total orbita hacmine oranı; sağ tarafında $0,49 \pm 0,1$, sol tarafında $0,50 \pm 0,04$ olarak hesaplandı. ($p=0,751$) Enjeksiyon sonrası ortalama orbita yağ hacmi sağ tarafında $407 \pm 108,7$ mm³, sol tarafında $392,4 \pm 103$ mm³ olarak hesaplandı. ($p=0,816$) Enjeksiyon sonrası ortalama orbita yağ hacminin, ortalama total orbita hacmine oranı sağ tarafında $0,55 \pm 0,097$, sol tarafında $0,51 \pm 0,069$ olarak hesaplandı. ($p=0,47$) Enjeksiyon sonrası ortalama orbita yağ hacminde meydana gelen fark; sağ tarafında $25,9 \pm 144,7$ mm³, sol tarafında $31,7 \pm 116,6$ mm³ olarak hesaplandı. ($p=0,941$) Enjeksiyon sonrası ve öncesi, ortalama orbita yağ hacminin, ortalama total orbita hacmine oranının farkı, sağ tarafında $0,06 \pm 0,15$, sol tarafında $0,0099 \pm 0,08$ olarak hesaplandı. ($p=0,482$) Tablo 4.6’ da travoprost grubunda, enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümlerinin karşılaştırılması gösterilmiştir. Travoprost grubunda, enjeksiyon

öncesi ve sonrası, sağ ve sol orbita BT ölçümleri karşılaştırıldığında, hiçbir parametrede istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 4.6. Travoprost grubunda, enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümlerinin karşılaştırılması

Travoprost	Yön	Sayı	Ortalama	Standart Sapma	P değeri (T testi)
Enjeksiyon öncesi yağ hacmi (mmküp)	Sağ	6	381	83,6	0,641
	Sol	6	360,6	61,6	
Enjeksiyon öncesi total orbita hacmi (mmküp)	Sağ	6	788,4	157,5	0,350
	Sol	6	711,3	111,2	
Enjeksiyon öncesi yağ/orbita hacmi	Sağ	6	0,49	0,10	0,751
	Sol	6	0,50	0,04	
Enjeksiyon sonrası yağ hacmi (mmküp)	Sağ	6	407	108,7	0,816
	Sol	6	392,4	103	
Enjeksiyon sonrası total orbita hacmi (mmküp)	Sağ	6	725,4	79,3	0,702
	Sol	6	746,2	102,3	
Enjeksiyon sonrası yağ/orbita hacmi	Sağ	6	0,55	0,097	0,470
	Sol	6	0,51	0,069	
Enjeksiyon sonrası- öncesi yağ hacmi farkı (mmküp)	Sağ	6	25,9	144,7	0,941
	Sol	6	31,7	116,6	
Enjeksiyon sonrası-öncesi total orbita hacmi farkı (mmküp)	Sağ	6	-63	129,2	0,224
	Sol	6	34,8	144,1	
Enjeksiyon sonrası-öncesi yağ/total orbita hacmi farkı	Sağ	6	0,0623	0,15	0,482
	Sol	6	0,0099	0,08	

Gruplara ayırmadan, tüm PA enjeksiyonu yapılan ve yapılmayan orbitalarda, histolojik kesitlerde birim alana düşen hücre sayısına bakıldığında; birim alana düşen hücre sayısı sağ tarafta $3108,7 \pm 797,9/\text{mmkare}$, sol tarafta $2947,1 \pm 614,5/\text{mmkare}$ olarak hesaplandı. T testi sonucuna göre her iki orbita arasında birim alana düşen hücre sayıları açısından anlamlı fark saptanmadı. ($p=0,5$) Hücre çekirdeklerinin morfolojik özelliklerine bakıldığında; nükleer alan sağ tarafta $85 \pm 22,9$ pikselkare, sol tarafta $88,3 \pm 17,9$ pikselkare, dairesellik sağ tarafta $0,62 \pm 0,09$, sol tarafta $0,66 \pm 0,07$, yuvarlaklık sağ tarafta $0,51 \pm 0,1$, sol tarafta $0,54 \pm 0,11$ olarak hesaplanmıştır. T testi ile her 3 morfolojik özellikte, sağ ve sol orbita arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. ($p > 0,05$) Tablo 4.7' de tüm PA enjeksiyonu yapılan ve yapılmayan orbitalarda, histolojik kesitlerde birim alana düşen hücre sayısı ve hücre çekirdeklerinin morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması gösterilmektedir. PA enjeksiyonu yapılan ve yapılmayan orbitalarda, histolojik kesitlerde birim alana düşen

hücre sayısı ve hücre çekirdeklerinin morfolojik özellikleri karşılaştırıldığında, her iki orbita arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 4.7. Tüm PA enjeksiyonu yapılan ve yapılmayan orbitalarda, histolojik kesitlerde birim alana düşen hücre sayısı ve hücre çekirdeklerinin morfolojik özelliklerinin karşılaştırılması

	Yön	Sayı	Ortalama	Standart Sapma	P değeri (T testi)
Birim alana düşen hücre sayısı	Sağ	18	3108,7/mm ²	797,9	0,5
	Sol	18	2947,1/mm ²	614,5	
Hücre çekirdek alanı (pikselkare)	Sağ	18	85	22,9	0,632
	Sol	18	88,3	17,9	
Dairesellik	Sağ	18	0,62	0,09	0,146
	Sol	18	0,66	0,07	
Yuvarlaklık	Sağ	18	0,51	0,10	0,319
	Sol	18	0,54	0,11	

Tüm PA enjeksiyonu yapılan ve yapılmayan orbitalarda, enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümleri karşılaştırıldığında; sağ taraf enjeksiyon öncesi ortalama orbita yağ hacmi $347,6 \pm 95,8$ mm³, sol taraf enjeksiyon öncesi ortalama orbita yağ hacmi $353,3 \pm 112,1$ mm³ olarak hesaplandı. ($p=0,871$) Enjeksiyon öncesi ortalama orbita yağ hacminin, ortalama total orbita hacmine oranı, sağ tarafta $0,44 \pm 0,09$, sol tarafta $0,46 \pm 0,08$ olarak hesaplandı. ($p=0,595$) Enjeksiyon sonrası ortalama orbita yağ hacmi sağ tarafta $372 \pm 93,1$ mm³, sol tarafta $372 \pm 82,2$ mm³ olarak hesaplandı. ($p=0,999$) Enjeksiyon sonrası ortalama orbita yağ hacminin, ortalama total orbita hacmine oranı sağ tarafta $0,49 \pm 0,09$, sol tarafta $0,48 \pm 0,07$ olarak hesaplandı. ($p=0,731$) Enjeksiyon sonrası ortalama orbita yağ hacminde meydana gelen fark; sağ tarafta $24,9 \pm 114,3$ mm³, sol tarafta $19,1 \pm 110,2$ mm³ olarak hesaplandı. ($p=0,879$) Enjeksiyon sonrası ve öncesi, ortalama orbita yağ hacminin, ortalama total orbita hacmine oranının farkı; sağ tarafta $0,04 \pm 0,12$, sol tarafta $0,01 \pm 0,07$ olarak hesaplandı. ($p=0,455$) Tablo 4.8' de tüm PA enjeksiyonu yapılan ve yapılmayan orbitalarda, enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümlerinin karşılaştırılması gösterilmiştir. Tüm PA enjeksiyonu yapılan ve yapılmayan orbitalar arasında, BT ölçümleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 4.8. Tüm PA enjeksiyonu yapılan ve yapılmayan orbitalarda, enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümleri karşılaştırılması

	Yön	Sayı	Ortalama	Standart Sapma	P değeri (T testi)
Enjeksiyon öncesi yağ hacmi (mmküp)	Sağ	18	347,6	95,8	0,871
	Sol	18	353,3	112,1	
Enjeksiyon öncesi total orbita hacmi (mmküp)	Sağ	18	781	137,1	0,623
	Sol	18	756,9	153,7	
Enjeksiyon öncesi yağ/orbita hacmi	Sağ	18	0,44	0,09	0,595
	Sol	18	0,46	0,08	
Enjeksiyon sonrası yağ hacmi (mmküp)	Sağ	18	372	93,1	0,999
	Sol	18	372	82,2	
Enjeksiyon sonrası total orbita hacmi (mmküp)	Sağ	18	756,6	86,9	0,641
	Sol	18	769,9	82,5	
Enjeksiyon sonrası yağ/orbita hacmi	Sağ	18	0,49	0,09	0,731
	Sol	18	0,48	0,07	
Enjeksiyon sonrası- öncesi yağ hacmi farkı (mmküp)	Sağ	18	24,9	114,3	0,879
	Sol	18	19,1	110,2	
Enjeksiyon sonrası- öncesi total orbita hacmi farkı (mmküp)	Sağ	18	- 24,3	120,7	0,420
	Sol	18	13	152,5	
Enjeksiyon sonrası-öncesi yağ/total orbita hacmi farkı	Sağ	18	0,04	0,12	0,455
	Sol	18	0,01	0,07	

PA enjeksiyonu yapılan tarafta (sağ), PA enjeksiyonu öncesi ve sonrası, ortalama orbita yağ dokusu hacmi ve ortalama orbita yağ dokusu hacminin, ortalama total orbita hacmine oranına bakılmıştır. Bimatoprost grubunda, enjeksiyon öncesi ortalama orbita yağ hacmi $287,3 \pm 54,1$ mmküp, enjeksiyon sonrası ortalama orbita yağ hacmi $320,3 \pm 64,1$ mmküp olarak hesaplanmıştır. ($p=0,310$) Ortalama orbita yağ hacminin, ortalama total orbita hacmine oranı, enjeksiyon öncesi $0,40 \pm 0,08$, enjeksiyon sonrası $0,44 \pm 0,06$ olarak hesaplanmıştır. ($p=0,456$) Latanoprost grubunda, enjeksiyon öncesi ortalama orbita yağ hacmi $374,5 \pm 121,4$ mmküp, enjeksiyon sonrası ortalama orbita yağ hacmi $390,3 \pm 92$ mmküp olarak hesaplanmıştır. ($p=0,786$) Ortalama orbita yağ hacminin, ortalama total orbita hacmine oranı, enjeksiyon öncesi $0,44 \pm 0,09$, enjeksiyon sonrası $0,47 \pm 0,09$ olarak

hesaplanmıştır. ($p=0,606$) Travoprost grubunda, enjeksiyon öncesi ortalama orbita yağ hacmi $381 \pm 83,6$ mmküp, enjeksiyon sonrası ortalama orbita yağ hacmi $407 \pm 108,7$ mmküp olarak hesaplanmıştır. ($p=0,679$) Ortalama orbita yağ hacminin, ortalama total orbita hacmine oranı, enjeksiyon öncesi $0,49 \pm 0,1$, enjeksiyon sonrası $0,55 \pm 0,09$ olarak hesaplanmıştır. ($p=0,372$) Tablo 4.9' da PA enjeksiyonu yapılan orbitalarda, enjeksiyon öncesi ve sonrası orbita yağ dokusu hacmi, total orbita hacmi ve orbita yağ dokusu hacminin, total orbita hacmine oranının karşılaştırılması gösterilmiştir. PA enjeksiyonu yapılan orbitalarda, enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümlerinde, istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 4.9. PA enjeksiyonu yapılan orbitalarda, enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümlerinin karşılaştırılması

		Sayı	Ortalama	Standart Sapma	P değeri (T testi)
Bimatoprost	Enjeksiyon öncesi yağ hacmi (mmküp)	6	287,3	54,1	0,310
	Enjeksiyon sonrası yağ hacmi (mmküp)	6	320,3	64,1	
	Enjeksiyon öncesi total orbita hacmi (mmküp)	6	717,5	110,8	0,990
	Enjeksiyon sonrası total orbita hacmi (mmküp)	6	716,9	59,1	
	Enjeksiyon öncesi yağ/orbita hacmi	6	0,40	0,08	0,456
	Enjeksiyon sonrası yağ/orbita hacmi	6	0,44	0,06	
Latanoprost	Enjeksiyon öncesi yağ hacmi (mmküp)	6	374,5	121,4	0,786
	Enjeksiyon sonrası yağ hacmi (mmküp)	6	390,3	92	
	Enjeksiyon öncesi total orbita hacmi (mmküp)	6	837	134,7	0,866
	Enjeksiyon sonrası total orbita hacmi (mmküp)	6	827,6	82,4	
	Enjeksiyon öncesi yağ/orbita hacmi	6	0,44	0,09	0,606
	Enjeksiyon sonrası yağ/orbita hacmi	6	0,47	0,09	
Travoprost	Enjeksiyon öncesi yağ hacmi (mmküp)	6	381	83,6	0,679
	Enjeksiyon sonrası yağ hacmi (mmküp)	6	407	108,7	
	Enjeksiyon öncesi total orbita hacmi (mmküp)	6	788,4	157,5	0,285
	Enjeksiyon sonrası total orbita hacmi (mmküp)	6	725,4	79,3	
	Enjeksiyon öncesi yağ/orbita hacmi	6	0,49	0,10	0,372
	Enjeksiyon sonrası yağ/orbita hacmi	6	0,55	0,09	

Tüm gruplarda PA enjeksiyonu yapılan orbitalarda, enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümleri bir arada incelendiğinde; enjeksiyon öncesi ortalama orbita yağ hacmi $347,6 \pm 95,8$ mmküp, enjeksiyon sonrası ortalama orbita yağ hacmi $372,6 \pm 93,1$ mmküp, enjeksiyon öncesi ortalama orbita yağ hacminin, ortalama total orbita hacmine oranı $0,44 \pm 0,09$, enjeksiyon sonrası ortalama orbita yağ hacminin, ortalama

total orbita hacmine oranı $0,49 \pm 0,09$ olarak hesaplandı. ($p>0,05$) Tablo 4.10' da tüm gruplarda PA enjeksiyonu yapılan orbitalarda, enjeksiyon öncesi ve sonrası orbita yağ dokusu hacmi, total orbita hacmi ve orbita yağ dokusu hacminin, total orbita hacmine oranının karşılaştırılması gösterilmiştir. Tüm gruplarda PA enjeksiyonu yapılan orbitalarda, enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümleri arasında, istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 4.10. Tüm gruplarda PA enjeksiyonu yapılan orbitalarda, enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümlerinin karşılaştırılması

	Sayı	Ortalama	Standart Sapma	P değeri (T testi)
Enjeksiyon öncesi yağ hacmi (mmküp)	18	347,6	95,8	0,368
Enjeksiyon sonrası yağ hacmi (mmküp)	18	372,5	93,1	
Enjeksiyon öncesi total orbita hacmi (mmküp)	18	781	137,1	0,404
Enjeksiyon sonrası total orbita hacmi (mmküp)	18	756	86,9	
Enjeksiyon öncesi yağ/orbita hacmi	18	0,44	0,09	0,166
Enjeksiyon sonrası yağ/orbita hacmi	18	0,49	0,09	

5. TARTIŞMA

Vücutta yağ metabolizması, hormonlar (insülin, katekolaminler) ve parakrin faktörler (sitokin, adenozin ve prostoglandinler) aracılığı ile düzenlenmektedir.[65] FP agonisti olan, fluprostenol ve cloprostenol, adiposit diferansiyasyonun erken dönem belirteçleri olan, lipoprotein lipaz ve yağ asidi bağlayıcı protein üretimini inhibe etmektedir. Aynı zamanda gliserol-3-fosfat dehidrogenaz enziminin aktivitesini de azaltmaktadır. Gliserol-3-fosfat dehidrogenazın aktivitesinde azalma sonucu, yağ asitleri hücre içerisine alınamaz ve yağ hücrelerinde hacim kaybı meydana gelir.[5] Prostoglandin F'e duyarlı selektif prostanoid reseptör uyarımı, preadiposit farklılaşmasını inhibe etmektedir.[5, 67]

Erkek sinamolgos maymunlarında, topikal %0.1'lik bimatoprostun bir kez uygulanması ile yapılan farmakokinetik çalışmalarda, kapak dokusunun aköze oranla 2000 kat; iris ve siliyer cisme göre 16 kat daha yüksek konsantrasyonda ilaç içerdiği ve PA'ların topikal kullanımı sonucu, yüksek miktarda periorbital absorpsiyon meydana geldiği gösterilmiştir.[76]

Tappainer ve ark. tarafından, 48-60 ay arasında değişen sürelerde tek taraflı bimatoprost kullanan beş glokom hastası retrospektif olarak incelenmiştir. Hastaların hepsinde üst göz kapağı sulkusunda derinleşme, orbital yağ dokusunda azalma ve rölatif enoftalmus saptanmıştır. Bu yan etkinin, iyatrojenik orbita yağ dokusu atrofisine bağlı gelişebileceği bildirilmiştir. Bu patolojideki altta yatan olası mekanizmanın, ekstraselüler matriks yeniden düzenlenmesiyle birlikte, orbital fibroblast apoptozisinin indüklenmesi olabileceği düşünülmüştür.[77]

Prostoglandinlere bağlı yağ dokusu atrofisi, Jayaprakasam ve ark. tarafından MRG ile ilk defa gösterilmiştir. İki yıldır tek taraflı bimatoprost kullanan hastada, ilaç kullanılan tarafta üst göz kapağı sulkusunda derinleşme, yaklaşık 2 mm rölatif enoftalmus ve belirgin periorbital yağ dokusu kaybı saptanmıştır. İlaç kesildikten yaklaşık 9 ay sonra, üst göz kapağı sulkusundaki derinleşmenin gerilediği ve kapaklar arasındaki simetrinin yeniden sağlandığı gösterilmiştir. Yazarlar yağ atrofisindeki geri dönüşün, PGF2 α agonisti olan bimatoprostun, ortamdan uzaklaşması ile adipogenezis üzerindeki inhibitör etkisinin ortadan kalkmasına ve adipogenezisin tekrar başlamasına bağlı olduğunu vurgulamıştır.[54]

Park ve ark. bimatoprost, travoprost ve latanoprost kullanan hastalarda, üst göz kapağı yağ dokusunda meydana gelen değişiklikleri ilk defa histopatolojik olarak göstermiştir. Tek ya da çift taraflı PA kullanan hastalardan ve sağlıklı kişilerden preapönrotik yağ dokusu biyopsisi alınmıştır. Alınan örneklerde, birim alana düşen adiposit sayısı ve diğer patolojik değişiklikler, histopatolojik olarak incelenmiştir. PA kullanan hastalarda, yağ atrofisine bağlı olarak hücre içi yağ miktarında azalma, birim alana düşen adiposit sayısında artma ve adiposit çekirdeklerinde kümelenme meydana geldiği gösterilmiştir. Histopatolojik kesitlerde inflamasyon, fibrozis ve nekroz bulgusuna rastlanmamıştır. Birim alana düşen hücre sayısı artışı, en fazla bimatoprost, daha sonra travoprost ile meydana gelmiştir. Latanoprost ile kontrol grubu arasında, birim alana düşen hücre sayısı bakımından anlamlı fark bulunmamıştır. Erişkinlerde yağ dokusu hacim değişiklikleri, adiposit sayısından çok hücre içi yağ miktarı tarafından kontrol edilmektedir.[65] Üst göz kapağı yağ dokusunda meydana gelen değişimlerin, atrofiye sekonder olduğu düşünülürse; hücre içi yağ miktarında azalma meydana geleceği için, birim alana düşen hücre sayısında görece artış meydana gelmesi beklenmektedir. Bu çalışmada PA kullanan hastalarda, birim alana düşen hücre sayısında, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma ile bimatoprostun, $PGF2\alpha$ gibi, hatta ondan daha güçlü antiadipojenik etki gösterdiği ve PA'nın topikal kullanımında üst göz kapağı sulkusunda meydana gelen derinleşmenin olası mekanizmasının, yağ dokusu atrofisi olduğu gösterilmiştir.[4]

PA'nın yağ dokusu hücreleri üzerinde atrofi yaptığı ve yağ asidi bağlayıcı proteinlerin sentezini azalttığı yapılan *in vitro* çalışmalarda da gösterilmiştir.[5, 67] Taketani ve ark. 3T3-L1 murin preadiposit hücre dizisi, vahşi tip fare adiposit hücre dizisi ve FP reseptörleri hasarlanmış fare adiposit hücre dizisi üzerinde, PA'ların etkilerini incelemiştir. PA'ların, 3T3-L1 murin preadiposit dizisi ve vahşi tip fare adipositleri üzerinde belirgin atrofi meydana getirirken, FP reseptörü hasarlanmış fare adiposit kültüründe atrofi etkisinin ortaya çıkmadığı gösterilmiştir.[7] Draman ve ark. 3T3-L1 murin preadiposit hücre dizisi, beş adet graves orbitopati hastası ve beş adet sağlıklı kişiden elde edilen primer insan orbital fibroblastlarını tek başına ve $PGF2\alpha$ ile kültüre etmiştir. $PGF2\alpha$ 'nın, her üç hücre kültüründe de proliferasyonu ve adipogenezisi inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu çalışmada, PA'nın graves orbitopati

tedavisinde efektif bir tedavi aracı olabileceği vurgulanmıştır.[68] Choi ve ark. tip 1 (orbital yağ dokusu proliferasyonu), tip 2 (ekstraoküler kaslarda fibrozis ve genişleme) TAO ve kontrol hastalarından orbital adiposit kökenli kök hücreleri izole ederek, bimatoprostla birlikte hücrelerde meydana gelen değişimleri incelemiştir. Tüm hücre kültürlerinde, bimatoprost eklenmesi sonucu; hücre yaşayabilirliği, migrasyon kapasitesi ve lipid içeriğinde azalma meydana geldiği gösterilmiştir. Hücre morfolojilerine bakıldığında, bimatoprost eklenmeden kültüre edilen kök hücreler büyük, uniloküler yağ damlacıkları içerirken; bimatoprost eklenen kök hücrelerde, küçük multiloküler yağ damlacıkları olduğu görülmüştür. Her üç grupta, kahverengi yağ dokusu belirteci olan UPC-1 ve mitokondriyal biyogenezis belirteci olan PGC-1alfa seviyesinde belirgin artış olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada, bimatoprostun TAO tedavisinde, potansiyel tedavi ajanı olarak kullanılabilmesi vurgulanmıştır.[59]

Retrolbulber PA enjeksiyonu, yağ hipertrofisi ile seyreden tip 1 TAO hastalarında ümit verici bir tedavi adayı olabilir. PA'lar yıllardır glokom tedavisinde kullanılmasına rağmen, PA'ların retrolbulber enjeksiyonunun güvenilirliği, etkinliği ve kullanılacak ilaç konsantrasyonu ile ilgili bir bilgi bulunmamaktadır. Literatürde retrolbulber PA enjeksiyonunun orbitaya ve orbital yağ dokusuna etkilerini inceleyen sadece iki adet in vivo çalışma mevcuttur.

Choi ve ark. 8 adet farenin, bir orbitasına retrolbulber 100 mikrolitre %0,03'lük bimatoprost enjeksiyonu yapıp, diğer orbitalarına aynı miktarda salin enjeksiyonu yaparak, salin yapılan orbitayı kontrol grubu olarak kullanmışlardır. Retrolbulber bimatoprost enjeksiyonundan önce ve enjeksiyondan bir ay sonra, farelere retina sinir lifi tabakası kalınlığı (RNFL) ve pattern elektroretinografi (PERG) ölçümleri yapılmıştır. Daha sonra farelerin orbitaları ekzentere edilerek histopatolojik değerlendirilme yapılmıştır. Enjeksiyon öncesi ve sonrası RNFL ölçümleri ve PERG amplitüdlerinde, kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptanmıştır. Bimatoprost enjeksiyonu yapılan orbitalarda, hematoksilen-eozin ile yapılan kesitlerde, oküler ve orbital yapıların normal morfolojide olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada, retrolbulber bimatoprost enjeksiyonunun güvenle yapılabileceği gösterilmiştir.[59]

Eftekhari ve ark. retrolbulber bimatoprost enjeksiyonunun, orbita yağ dokusu üzerindeki etkilerini incelemiştir. Çalışmada 3 adet ratın sağ orbitasına 0,1 ml

%0,03'lük retrobulber bimatoprost enjeksiyonu, sol orbitasına 0,1 ml retrobulber salin enjeksiyonu yapılmıştır. Enjeksiyondan önce ve 3 hafta sonra ratların göz içi basınçları ölçülmüş, daha sonra ratlara ekzenterasyon uygulanmıştır. Bimatoprost enjeksiyonu öncesi ve sonrası ölçülen göz içi basıncı değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Bimatoprost enjeksiyonu yapılan orbitalardan elde edilen histolojik kesitlerde, adipositler küçük, düzensiz şekilli olarak izlenmiş ve hücre içi yağ miktarında azalma meydana geldiği görülmüştür. Kesitlerde inflamatuvar değişiklikler izlenmemiştir. Birim alana düşen hücre sayısı, bimatoprost enjeksiyonu yapılan orbitalarda, salin enjeksiyonu yapılan orbitalara göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Adiposit boyutlarındaki heterojenite, MATLAB (Natick, MA) yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir. Bimatoprost enjeksiyonu yapılan orbitalarda, kontrol orbitalara göre adiposit boyutlarındaki heterojenite anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada, retrobulber PA enjeksiyonunun orbital yağ dokusunu etkileyen hastalıklarda, orbita yağ dokusu hacmini azaltmak için cerrahi dışı bir tedavi seçeneği olabileceği vurgulanmıştır.[8] Bu çalışma retrobulber PA'ların orbita yağ dokusu üzerindeki atrofi etkisini gösteren ilk in vivo çalışmadır. Fakat çok az sayıda rat üzerinde yapılması bakımından ancak bir ön çalışma niteliğindedir.

Çalışmamız 3 farklı PA'nın retrobulber enjeksiyonu ile orbita yağ dokusu hücrelerinde meydana gelen değişimlerin incelendiği ilk in vivo çalışmadır. Çalışmamızda sadece latanoprost enjeksiyonu yapılan ratlarda, histopatolojik incelemede, birim alana düşen hücre sayısı kontrol grubuna göre daha yüksek olarak bulunmuş, fakat birim alana düşen hücre sayısındaki bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Park ve ark. yaptığı çalışmada, yağ dokusu atrofisi sonucu, hücre çekirdeklerinde kümelenme meydana geldiğini göstermişlerdir.[4] Buradan yola çıkarak çalışmamızda, yağ atrofisine bağlı olarak hücre çekirdeklerinde meydana gelen morfolojik değişiklikler saptanmaya çalışılmış ve bu değişiklikler apoptozis açısından incelenmiştir. Çalışmamız retrobulber PA enjeksiyonu yapılan ratlarda, hücre çekirdeklerinin morfolojik özelliklerinin değerlendirildiği ilk çalışmadır. Nükleer alan, dairesellik ve yuvarlaklık ölçümlerinde, retrobulber PA enjeksiyonu yapılan ve yapılmayan orbitalar arasında, her 3 ilaç grubunda istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Literatürde, ratların orbita hacminin hesaplandığı bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız BT görüntüleri üzerinden, yapay zeka kullanılarak, ratların total orbita hacmi ve orbita yağ dokusu hacminin hesaplandığı ilk çalışmadır. Tüm ilaç gruplarında, PA enjeksiyonu yapılan orbitalar ve kontrol orbitalar arasında, enjeksiyon sonrası orbita yağ hacmi ve orbita yağ hacminin total orbita hacmine oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gösterilememiştir. Yine aynı şekilde sadece PA enjeksiyonu yapılan orbitalar kendi aralarında incelendiğinde, tüm ilaç gruplarında enjeksiyon öncesi ve sonrası, orbita yağ hacmi ve orbita yağ hacminin total orbita hacmine oranı ölçümlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Denekler ilaç gruplarına ayrılmadan, retrobulber PA yapılan ve yapılmayan orbitalar şeklinde incelendiğinde de, enjeksiyon öncesi ve sonrası BT ölçümleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Çalışmamızda retrobulber PA enjeksiyonunun 3 hafta sonrasında, rat orbita yağ dokusunda histopatolojik veya radyolojik olarak atrofi gösterilememiştir. Çalışmamızdan önceki, 3 adet rat üzerinde yapılan retrobulber bimatoprost enjeksiyonunun, rat orbita yağ dokusu üzerindeki histopatolojik etkilerinin incelendiği ilk in vivo çalışmada gözlenen atrofi ile uyumlu bulgular[8], daha çok denek kullanılarak gerçekleştirilen çalışmamızda, histopatolojik ve radyolojik olarak gösterilememiştir. Çalışmamızda, literatürde bu konu ile ilgili tek in vivo çalışma olan bu ön çalışmanın, PA konsantrasyonu, hacmi ve enjeksiyon sonrası bekleme süresi parametreleri örnek alınmıştır.

Bu bulgularımızın çeşitli nedenleri olabilir. PAP, tek taraflı prostoglandin analogu kullanan hastalarda, 1 ila 9 aylık ilaç kullanımı sonrası ortaya çıkmaktadır.[2] Çalışmamızdaki 3 haftalık bekleme süresi, PA'ların yağ dokusu üzerindeki atrofi etkisinin ortaya çıkması için yeterli olmayabilir. Aynı şekilde kullanılan PA'larının doz ve konsantrasyonu veya yapılan enjeksiyon sayısı da yağ dokusu üzerinde atrofi oluşturmak için yeterli olmayabilir.

Rat orbitasının intraorbital patoloji için bir model olarak kullanılması, ratlarda büyük bir Harderian bezinin varlığı gibi doğal anatomik farklılıklar ile sınırlıdır.[59] Ratların orbitalarında yer alan Harderian bezi, rat orbitasının büyük bir kısmını doldurmakta, adipositler için göreceli olarak daha küçük bir alan kalmaktadır.[8] Rat orbita yağ dokusunun göreceli olarak daha küçük bir alan kaplıyor olması, PA'ların

orbita yağ dokusu üzerinde meydana getirdiği değişimin saptanmasını güçleştiriyor olabilir.

Kullanılan denek sayısının az olması, literatürde daha önce ratların orbita hacminin hesaplandığı bir çalışma olmaması nedeniyle orbita sınırlarının saptanmasındaki güçlük, rat orbitalarının küçük olması nedeniyle çekilen BT görüntülerinin çözünürlüğünün düşük olması ve bu nedenle orbita yağ dokusunun diğer orbita içi yumuşak dokulardan ayrılmasındaki güçlük, orbita içerisindeki büyük Harderian bez varlığı nedeniyle orbita yağ dokusunun daha küçük bir hacim kaplıyor olmasından dolayı yağ dokusunda meydana gelen değişimlerin saptanmasının zorluğu çalışmanın kısıtlılıklarını oluşturmaktadır.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızda, rat hayvan modelinde, retrobulber PA enjeksiyonunun, orbita yağ dokusu üzerindeki etkileri BT ile ve histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamız, 3 farklı PA'nın retrobulber enjeksiyonu sonrası orbita yağ dokusunda meydana gelen değişimlerin radyolojik ve histopatolojik olarak değerlendirdiği ilk in vivo çalışmadır. Retrobulber latanoprost, bimatoprost ve travoprost enjeksiyonu yapılan ratlarda, 3 haftalık bekleme süresinin sonunda, orbita yağ dokusunda radyolojik ve histopatolojik olarak anlamlı atrofi gösterilememiştir. Apoptotik veya apoptozise gitmek üzere olduğu düşünülen hücreleri saptamak için kullanılan, orbita yağ hücresi çekirdeklerinin nükleer alan, dairesellik ve yuvarlaklık ölçümlerinde ilaç enjeksiyonu yapılan ve yapılmayan orbitalar arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Prostoglandin analogları, uzun yıllar boyunca glokom tedavisinde kullanılmalarına rağmen, bu ilaçların retrobulber enjeksiyonunun güvenilirliği, etkinliği ve etkin ilaç dozu hakkında literatürde bilgi bulunmamaktadır. Retrobulber PA enjeksiyonunun, tiroid orbitopati gibi yağ proliferasyonu ile giden orbital hastalıklarda, cerrahi tedaviye alternatif bir tedavi olarak kullanılabilmesi için, daha fazla sayıda denek içeren, farklı hayvan modellerinde, daha yüksek doz/konsantrasyonda PA kullanıldığı in vivo çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Aptel, F., M. Cucherat, and P. Denis, *Efficacy and tolerability of prostaglandin analogs: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials*. J Glaucoma, 2008. **17**(8): p. 667-73.
2. Peplinski, L.S. and K. Albiani Smith, *Deepening of lid sulcus from topical bimatoprost therapy*. Optom Vis Sci, 2004. **81**(8): p. 574-7.
3. Kucukevcilioglu, M., et al., *Prostaglandin associated periorbitopathy in patients using bimatoprost, latanoprost and travoprost*. Clin Exp Ophthalmol, 2014. **42**(2): p. 126-31.
4. Park, J., H.K. Cho, and J.I. Moon, *Changes to upper eyelid orbital fat from use of topical bimatoprost, travoprost, and latanoprost*. Jpn J Ophthalmol, 2011. **55**(1): p. 22-7.
5. Serrero, G. and N.M. Lepak, *Prostaglandin F2alpha receptor (FP receptor) agonists are potent adipose differentiation inhibitors for primary culture of adipocyte precursors in defined medium*. Biochem Biophys Res Commun, 1997. **233**(1): p. 200-2.
6. Choi, H.Y., et al., *In vitro study of antiadipogenic profile of latanoprost, travoprost, bimatoprost, and tafluprost in human orbital preadipocytes*. J Ocul Pharmacol Ther, 2012. **28**(2): p. 146-52.
7. Taketani, Y., et al., *Activation of the prostanoid FP receptor inhibits adipogenesis leading to deepening of the upper eyelid sulcus in prostaglandin-associated periorbitopathy*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014. **55**(3): p. 1269-76.
8. Eftekhari, K., et al., *In Vivo Effects of Retrobulbar Bimatoprost Injection on Orbital Fat*. Ophthalmic Plast Reconstr Surg, 2018. **34**(3): p. 201-204.
9. Bahn, R.S., *Graves' ophthalmopathy*. The New England journal of medicine, 2010. **362**(8): p. 726-738.
10. Weetman, A.P., *Graves' disease*. The New England journal of medicine, 2000. **343**(17): p. 1236-1248.
11. Hiromatsu, Y., et al., *Cytokine profiles in eye muscle tissue and orbital fat tissue from patients with thyroid-associated ophthalmopathy*. The Journal of clinical endocrinology and metabolism, 2000. **85**(3): p. 1194-1199.

12. Garrity, J.A. and R.S. Bahn, *Pathogenesis of graves ophthalmopathy: implications for prediction, prevention, and treatment*. American journal of ophthalmology, 2006. **142**(1): p. 147-153.
13. Smith, T.J., et al., *Teprotumumab for Thyroid-Associated Ophthalmopathy*. The New England journal of medicine, 2017. **376**(18): p. 1748-1761.
14. Jefferis, J.M., et al., *Orbital decompression for thyroid eye disease: methods, outcomes, and complications*. Eye (London, England), 2018. **32**(3): p. 626-636.
15. Camras, C.B. and L.Z. Bito, *Reduction of intraocular pressure in normal and glaucomatous primate (Aotus trivirgatus) eyes by topically applied prostaglandin F2 alpha*. Curr Eye Res, 1981. **1**(4): p. 205-9.
16. Ishida, N., et al., *Prostanoids in the therapy of glaucoma*. Cardiovasc Drug Rev, 2006. **24**(1): p. 1-10.
17. Ganesh, T., *Prostanoid receptor EP2 as a therapeutic target*. J Med Chem, 2014. **57**(11): p. 4454-65.
18. Alexander, S.P., et al., *THE CONCISE GUIDE TO PHARMACOLOGY 2017/18: G protein-coupled receptors*. Br J Pharmacol, 2017. **174** Suppl 1: p. S17-s129.
19. Woodward, D.F., et al., *The molecular biology and ocular distribution of prostanoid receptors*. Surv Ophthalmol, 1997. **41** Suppl 2: p. S15-21.
20. Millard, L.H., D.F. Woodward, and W.D. Stamer, *The role of the prostaglandin EP4 receptor in the regulation of human outflow facility*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011. **52**(6): p. 3506-13.
21. Mukhopadhyay, P., et al., *Localization of EP(1) and FP receptors in human ocular tissues by in situ hybridization*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2001. **42**(2): p. 424-8.
22. Schlotzer-Schrehardt, U., M. Zenkel, and R.M. Nusing, *Expression and localization of FP and EP prostanoid receptor subtypes in human ocular tissues*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2002. **43**(5): p. 1475-87.
23. Schachtschabel, U., J.D. Lindsey, and R.N. Weinreb, *The mechanism of action of prostaglandins on uveoscleral outflow*. Curr Opin Ophthalmol, 2000. **11**(2): p. 112-5.

24. Winkler, N.S. and M.P. Fautsch, *Effects of prostaglandin analogues on aqueous humor outflow pathways*. J Ocul Pharmacol Ther, 2014. **30**(2-3): p. 102-9.
25. Goel, M., et al., *Aqueous humor dynamics: a review*. Open Ophthalmol J, 2010. **4**: p. 52-9.
26. Klimko, P.G. and N.A. Sharif, *Discovery, characterization and clinical utility of prostaglandin agonists for the treatment of glaucoma*. Br J Pharmacol, 2019. **176**(8): p. 1051-1058.
27. *Glaucoma*. American Academy of Ophthalmology. 2017-2018. p. 170-171.
28. Blini, M., et al., *Ocular hypotensive efficacy and safety of travoprost 0.004% in inadequately controlled primary open-angle glaucoma or ocular hypertension: short-term, multicenter, prospective study*. Curr Med Res Opin, 2009. **25**(1): p. 57-63.
29. Waugh, J. and B. Jarvis, *Travoprost*. Drugs Aging, 2002. **19**(6): p. 465-71; discussion 472-3.
30. Gupta, V., et al., *Comparative evaluation of bimatoprost monotherapy in primary chronic angle closure and primary open angle glaucoma eyes: a three-year study*. J Ocul Pharmacol Ther, 2007. **23**(4): p. 351-8.
31. Woodward, D.F., et al., *Identification of an antagonist that selectively blocks the activity of prostamides (prostaglandin-ethanolamides) in the feline iris*. Br J Pharmacol, 2007. **150**(3): p. 342-52.
32. Patil, A.J., T.S. Vajaranant, and D.P. Edward, *Bimatoprost - a review*. Expert Opin Pharmacother, 2009. **10**(16): p. 2759-68.
33. Astin, M., J. Stjernschantz, and G. Selen, *Role of nitric oxide in PGF2 alpha-induced ocular hyperemia*. Exp Eye Res, 1994. **59**(4): p. 401-7.
34. Whitson, J.T., *Travoprost--a new prostaglandin analogue for the treatment of glaucoma*. Expert Opin Pharmacother, 2002. **3**(7): p. 965-77.
35. Sugimoto, M., M. Sugimoto, and Y. Uji, *Quantitative analysis of eyelash lengthening following topical latanoprost therapy*. Can J Ophthalmol, 2002. **37**(6): p. 342-5.
36. Herndon, L.W., et al., *Increased periocular pigmentation with ocular hypotensive lipid use in African Americans*. Am J Ophthalmol, 2003. **135**(5): p. 713-5.

37. Wand, M., et al., *Latanoprost and periocular skin color changes*. Arch Ophthalmol, 2001. **119**(4): p. 614-5.
38. Doshi, M., D.P. Edward, and S. Osmanovic, *Clinical course of bimatoprost-induced periocular skin changes in Caucasians*. Ophthalmology, 2006. **113**(11): p. 1961-7.
39. Kapur, R., et al., *Bimatoprost-induced periocular skin hyperpigmentation: histopathological study*. Arch Ophthalmol, 2005. **123**(11): p. 1541-6.
40. Watson, P. and J. Stjernschantz, *A six-month, randomized, double-masked study comparing latanoprost with timolol in open-angle glaucoma and ocular hypertension*. The Latanoprost Study Group. Ophthalmology, 1996. **103**(1): p. 126-37.
41. Bito, L.Z., *Prostaglandins: a new approach to glaucoma management with a new, intriguing side effect*. Surv Ophthalmol, 1997. **41 Suppl 2**: p. S1-14.
42. Alm, A., J. Schoenfelder, and J. McDermott, *A 5-year, multicenter, open-label, safety study of adjunctive latanoprost therapy for glaucoma*. Arch Ophthalmol, 2004. **122**(7): p. 957-65.
43. Dams, I., et al., *Therapeutic uses of prostaglandin F(2alpha) analogues in ocular disease and novel synthetic strategies*. Prostaglandins Other Lipid Mediat, 2013. **104-105**: p. 109-21.
44. Ayyala, R.S., et al., *Cystoid macular edema associated with latanoprost in aphakic and pseudophakic eyes*. Am J Ophthalmol, 1998. **126**(4): p. 602-4.
45. Moroi, S.E., et al., *Cystoid macular edema associated with latanoprost therapy in a case series of patients with glaucoma and ocular hypertension*. Ophthalmology, 1999. **106**(5): p. 1024-9.
46. Rowe, J.A., M.G. Hattenhauer, and D.C. Herman, *Adverse side effects associated with latanoprost*. Am J Ophthalmol, 1997. **124**(5): p. 683-5.
47. Kroll, D.M. and J.S. Schuman, *Reactivation of herpes simplex virus keratitis after initiating bimatoprost treatment for glaucoma*. Am J Ophthalmol, 2002. **133**(3): p. 401-3.
48. Ekatomatis, P., *Herpes simplex dendritic keratitis after treatment with latanoprost for primary open angle glaucoma*. Br J Ophthalmol, 2001. **85**(8): p. 1008-9.

49. Kaufman, H.E., E.D. Varnell, and H.W. Thompson, *Latanoprost increases the severity and recurrence of herpetic keratitis in the rabbit*. Am J Ophthalmol, 1999. **127**(5): p. 531-6.
50. Filippopoulos, T., et al., *Periorbital changes associated with topical bimatoprost*. Ophthalmic Plast Reconstr Surg, 2008. **24**(4): p. 302-7.
51. Rabinowitz, M.P., et al., *Unilateral Prostaglandin-Associated Periorbitopathy: A Syndrome Involving Upper Eyelid Retraction Distinguishable From the Aging Sunken Eyelid*. Ophthalmic Plast Reconstr Surg, 2015. **31**(5): p. 373-8.
52. Liang, L., et al., *Ocular surface morbidity in eyes with senile sunken upper eyelids*. Ophthalmology, 2011. **118**(12): p. 2487-92.
53. Aydin, S., et al., *Recovery of orbital fat pad prolapsus and deepening of the lid sulcus from topical bimatoprost therapy: 2 case reports and review of the literature*. Cutan Ocul Toxicol, 2010. **29**(3): p. 212-6.
54. Jayaprakasam, A. and S. Ghazi-Nouri, *Periorbital fat atrophy - an unfamiliar side effect of prostaglandin analogues*. Orbit, 2010. **29**(6): p. 357-9.
55. Inoue, K., et al., *Deepening of the upper eyelid sulcus caused by 5 types of prostaglandin analogs*. J Glaucoma, 2013. **22**(8): p. 626-31.
56. Yang, H.K., et al., *Deepening of eyelid superior sulcus during topical travoprost treatment*. Jpn J Ophthalmol, 2009. **53**(2): p. 176-179.
57. Aihara, M., S. Shirato, and R. Sakata, *Incidence of deepening of the upper eyelid sulcus after switching from latanoprost to bimatoprost*. Jpn J Ophthalmol, 2011. **55**(6): p. 600-4.
58. Nakakura, S., H. Tabuchi, and Y. Kiuchi, *Latanoprost therapy after sunken eyes caused by travoprost or bimatoprost*. Optom Vis Sci, 2011. **88**(9): p. 1140-4.
59. Choi, C.J., et al., *The Effect of Prostaglandin Analogue Bimatoprost on Thyroid-Associated Orbitopathy*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2018. **59**(15): p. 5912-5923.
60. Kershaw, E.E. and J.S. Flier, *Adipose tissue as an endocrine organ*. The Journal of clinical endocrinology and metabolism, 2004. **89**(6): p. 2548-2556.
61. Spiegelman, B.M. and J.S. Flier, *Obesity and the regulation of energy balance*. Cell, 2001. **104**(4): p. 531-543.

62. Cheng, A.M.S., et al., *Celecoxib and Pioglitazone as Potential Therapeutics for Regulating TGF- β -Induced Hyaluronan in Dysthyroid Myopathy*. Investigative ophthalmology & visual science, 2016. **57**(4): p. 1951-1959.
63. Smorlesi, A., et al., *The adipose organ: white-brown adipocyte plasticity and metabolic inflammation*. Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity, 2012. **13 Suppl 2**: p. 83-96.
64. Evans, R.M., G.D. Barish, and Y.-X. Wang, *PPARs and the complex journey to obesity*. Nature medicine, 2004. **10**(4): p. 355-361.
65. Arner, P., *Human fat cell lipolysis: biochemistry, regulation and clinical role*. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2005. **19**(4): p. 471-82.
66. Fujimori, K., K. Aritake, and Y. Urade, *A novel pathway to enhance adipocyte differentiation of 3T3-L1 cells by up-regulation of lipocalin-type prostaglandin D synthase mediated by liver X receptor-activated sterol regulatory element-binding protein-1c*. The Journal of biological chemistry, 2007. **282**(25): p. 18458-18466.
67. Miller, C.W., D.A. Casimir, and J.M. Ntambi, *The mechanism of inhibition of 3T3-L1 preadipocyte differentiation by prostaglandin F₂ α* . Endocrinology, 1996. **137**(12): p. 5641-50.
68. Draman, M.S., et al., *Effects of prostaglandin F₂ α on adipocyte biology relevant to graves' orbitopathy*. Thyroid, 2013. **23**(12): p. 1600-8.
69. Sabbatini, M., et al., *Morphometric quantification of apoptotic stages in cell culture*. Cells, tissues, organs, 2004. **178**(3): p. 139-145.
70. Hynes, R.O., *Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion*. Cell, 1992. **69**(1): p. 11-25.
71. Wyllie, A.H., G.J. Beattie, and A.D. Hargreaves, *Chromatin changes in apoptosis*. The Histochemical journal, 1981. **13**(4): p. 681-692.
72. Cohen, G.M., et al., *Key morphological features of apoptosis may occur in the absence of internucleosomal DNA fragmentation*. The Biochemical journal, 1992. **286** (Pt 2)(Pt 2): p. 331-334.
73. Maria, S.S., B.d.C. Vidal, and M.L.S. Mello, *Image analysis of DNA fragmentation and loss in V79 cells under apoptosis*. Genetics and Molecular Biology, 2000. **23**: p. 109-112.

74. DeCoster, M., *The Nuclear Area Factor (NAF): a measure for cell apoptosis using microscopy and image analysis*. 2007.
75. Helmy, I.M. and A.M. Abdel Azim, *Efficacy of ImageJ in the assessment of apoptosis*. *Diagnostic Pathology*, 2012. **7**(1): p. 15.
76. Woodward, D.F., et al., *Pharmacological characterization of a novel antiglaucoma agent, Bimatoprost (AGN 192024)*. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003. **305**(2): p. 772-85.
77. Tappeiner, C., et al., *[Orbital fat atrophy in glaucoma patients treated with topical bimatoprost--can bimatoprost cause enophthalmos?]*. *Klin Monbl Augenheilkd*, 2008. **225**(5): p. 443-5.