



T.C.

ANKARA YILDIRIM BEYAZIT ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KERATOKONUS HASTALARININ KORNEA
EPİTELİNDE MİTOFAJİ BELİRTEÇLERİNİN
İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ferhan GÜLER

ANKARA, 2022



T.C.
ANKARA YILDIRIM BEYAZIT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KERATOKONUS HASTALARININ KORNEA
EPİTELİNDE MİTOFAJİ BELİRTEÇLERİNİN
İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ferhan GÜLER

TEZ DANIŞMANI:
Prof. Dr. Özge SARAÇ

ANKARA, 2022

T.C.
ANKARA YILDIRIM BEYAZIT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

KERATOKONUS HASTALARININ KORNEA EPİTELİNDE
MİTOFAJİ BELİRTEÇLERİNİN İNCELENMESİ

Dr. Ferhan GÜLER

Uzmanlık Tezi

Tez Savunma Sınav Tarihi:

23.12.2022

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Özge SARAÇ

Jüri Üyelerinin Unvanı, Adı Soyadı- İmzası

Prof. Dr. Özlem Evren KEMER

Prof. Dr. Yasin TOKLU

Prof. Dr. Fatma Yülek

Okuduğumuz ve savunmasını dinlediğimiz bu tezin bir Tıpta Uzmanlık derecesi için gereken tüm kapsam ve kalite şartlarını sağladığını beyan ederiz.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tezde kullanılmış olan tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim. 23-12-2022

Dr. Ferhan GÜLER

TEŞEKKÜR

Sadece uzmanlık tezi sürecinde değil asistanlığa başladığım ilk günden bitirene kadar geçen süre boyunca her türlü bilgi ve beceriyi kazanmam için uğraşan, akademik desteğini esirgemeyen, hayatın her alanında yönlendirmelerine ihtiyaç duyduğum, elimden tutup bugünlere getirerek tez danışmanı olmaktan çok daha öte meslek hayatıma ve akademik hayata bakışıma derin bir iz bırakmış saygıdeğer hocam Prof. Dr. Özge SARAÇ'a;

Birlikte çalışma fırsatı bulduğum için onur duyduğum, asistanlık süresince ailemden biri gibi özveriyle duygusal ve idari desteğini bir an esirgemeyen, hayati ve mesleki tecrübeleriyle kanatlarının altında olduğum için kendimi şanslı saydığım Eğitim ve İdari Sorumlumuz Prof. Dr. Özlem Evren KEMER'e;

Kendisinden el almanın gururunu meslek hayatım boyu taşıyacağım, tezin çıkmaza girdiği dönemde hızır gibi yetişerek destek olan, hastalara ve asistanlarına yaklaşımı, sabrıyla, akademik, cerrahi ve insancıl özellikleriyle mesleki olarak olgunlaşmamda en büyük paylardan birine sahip Prof. Dr. Nurullah ÇAĞIL'a;

Her zaman asistanlardan yana tavrı, güler yüzü ve tevazusuyla saygı duyduğum, örnek aldığım Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Fatma YÜLEK'e;

Kendisi bilmese de ihtisasa devam etme nedenlerimden biri olan, asistanların koruyucusu olmayı görev edinmiş, cerrahi olarak iyi yetiştiğimizden emin olmadan yanından ayrılmamamızı sağlayan, öz abim gibi koruyup kollayan ve mesleki rol modellerimden biri olan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Yasin TOKLU'ya;

Asistanlık sürecinde kendileriyle çalışmaktan onur duyduğum, eğitimimde önemli yere sahip kıymetli hocalarım Prof. Dr. Tamer TAKMAZ, Prof. Dr. Emine AKÇAY, Prof. Dr. M. Numan ALP, Prof. Dr. Alper YARANGÜMELİ, Prof. Dr. Nagihan Uğurlu, Doç. Dr. Nilay YÜKSEL, Doç. Dr. Mücella Arıkan YORGUN, Doç. Dr. Nilüfer Yeşilırmak, Doç. Dr. Esra KARACA, Dr. Ahmet KARAKURT, Dr. Sema YÜZBAŞIOĞLU'na

Tezimi bir ara benden daha fazla sahiplenen, tecrübesini her zaman erinmeden aktararak destek olan Dr. Burak TANRIVERDİ'ye;

Bu tezin ortaya çıkmasını sağlayan kendisiyle şahsen tanışmasam da birlikte bir çalışma ortaya koymuş olmaktan onur duyduğum Prof. Dr. Afsun ŞAHİN'e;

Yoğun iş temposunun arasında her zaman güleryüzlü ve sabırlı bir yaklaşım sergileyerek tezin en önemli aşamalarını gerçekleştiren ve çalışmaya en çok katkıyı sağlayan Dilara AYDEMİR'e;

Tez hastalarıyla benim fırsat bulamadığım zamanlarda bir an gocunmadan ilgilenen, çalışma boyunca türlü aşamalarda destek olmak için koşturan sadece çalışma süresince değil asistanlığım boyunca her zaman en büyük desteklerimden olan dostum Dr. Nurbanu MENDİ AYNACI'ya;

Örneklerin toplanması ve saklanması aşamasında büyük özveriyle çalışan ameliyathane hemşireleri ile ameliyathane personeline;

Birlikte çalıştığım ve bu zorlu süreci yürürken yanyana olduğumuzu hissettiren bütün asistan arkadaşlarıma;

Bugünlere gelmemde herkesten fazla emeği olan, yıllar geçtikçe her birinin kıymetini daha iyi anladığım, düşe kalka geçirdiğimiz yıllarda bir arada kalmanın verdiği güçle hep birlikte ayakta durabilmek için her türlü fedakarlığı yapan Babam, Annem, Ablam ve Kardeşim'e;

Yoğun iş temposu altında ezilmesine rağmen her zaman hayatta en büyük destekçim olmak için yıpranan, 10 seneden fazladır kaosun eksik olmadığı hayatımızda sevgisi, ilgisi, desteği, güleryüzü ile karşımıza çıkan zorlukları el ele aşmamızı sağlayan, bana benden fazla duyduğu güven ve sarsılmaz inançla en olmaz dediğim, en karanlık zamanda bile adım atmaya devam etmemin asıl nedeni olan hayat arkadaşım, sevgili eşim Dr. Melike GÜLER'E;

Uzmanlık yapma ve göz hastalıklarını tercih etme kararımın sebebi olan, nöbetler, yoğun çalışma temposu ve tez yazım sürecinde ayrı kalmayı sineye çekerek asistanlığımda aslında en büyük fedakarlığı yapan, masumiyeti ve sevimliliğiyle tükendiğim anlarda gücümü toplamamı sağlayan doğal antidepresanım, canım oğlum Ferhan Alaz GÜLER'e en içten şekilde teşekkür ederim.

Dr. Ferhan GÜLER

Ankara-2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	vii
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. KORNEA.....	4
2.1.1. Embriyoloji.....	4
2.1.2. Anatomi.....	5
2.1.3. Fizyoloji.....	5
2.1.4. Histoloji.....	6
2.1.4.1. Epitel.....	7
2.1.4.2. Bowman Membranı.....	8
2.1.4.3. Stroma.....	8
2.1.4.4. Descemet Membranı.....	9
2.1.4.5. Endotel.....	10
2.1.5. İnervasyon.....	11
2.2. KERATOKONUS.....	11
2.2.1. Tanım.....	11
2.2.2. Epidemiyoloji.....	12
2.2.3. Klinik Özellikler, Tanı Ve Sınıflandırma.....	13
2.2.3.1. Klinik Bulgular.....	13
2.2.3.2. Korneal Görüntüleme.....	16
2.2.3.3. Tanı ve Sınıflandırma.....	19
2.2.3.4. Ayırıcı Tanı.....	26
2.2.4. Histopatogenez.....	30
2.2.4.1. Bowman Membranı ve Epitel.....	30
2.2.4.2. Korneal Sinirler.....	31
2.2.4.3. Stroma.....	31
2.2.4.4. Descemet Membranı ve Endotel.....	32

2.2.5. Etiyopatogenez.....	32
2.2.5.1. Çevresel Faktörler.....	32
2.2.5.2. Heredite.....	34
2.2.5.3. Biyokimyasal Değişimler.....	35
2.2.5.4. İnflamasyon.....	36
2.2.4.5. Oksidatif Stres, Otofaji ve Mitofaji.....	36
2.2.5. Tedavi.....	40
2.2.5.1. Refraktif Düzeltme.....	40
2.2.5.2. Korneal Kollajen Çapraz Bağlama.....	40
2.2.5.3. İntrakorneal Halka Segment.....	42
2.2.5.4. Kornea Nakli.....	43
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	45
3.1. Araştırmanın Tasarımı.....	45
3.2. Etik Kurul.....	45
3.3. Hasta Seçimi ve Kriterleri.....	45
3.4. Değerlendirilen Parametreler.....	46
3.5. Örneklerin Toplanması.....	47
3.6. Western Blot Analizi.....	47
3.7. İstatistiksel Analiz.....	48
4. BULGULAR.....	49
5. TARTIŞMA.....	56
6. SONUÇLAR.....	65
7. KAYNAKLAR.....	67
8. EKLER.....	84
8.1. Ek-1. Etik Kurul Onayı.....	84
8.2. Ek-2. Hasta Takip Formu.....	85

ÖZET

Keratokonus Hastalarının Kornea Epitelinde Mitofaji Belirteçlerinin İncelenmesi

Amaç: Bu çalışmada insan keratokonik kornea epitelinde mitofaji belirteçlerinin koni bölgesi epiteli ile periferik kornea epiteli arasındaki farklılıkları da ortaya koyarak incelenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya keratokonus tanısıyla KÇB ameliyatı yapılan 52 hastanın 54 gözü ve refraktif cerrahi için başvuran 12 sağlıklı gönüllünün 23 gözü dahil edildi. KÇB ve PRK sırasında alınan epitelde Western Blot analiziyle PINK1, PARKIN ve LC3A/LC3B proteinlerinin ekspresyonları değerlendirildi. Sonuçlar hastaların demografik, korneal tomografik ve klinik özellikleri ile birlikte değerlendirilerek analiz edildi. Hastalar Kmean değerlerine göre evre 1 (≤ 48 D), evre 2 (>48 D, ≤ 53 D) evre 3 (>53 D) olarak evrelendirildi.

Bulgular: Gruplar arasında yaş ve cinsiyet açısından fark yoktu. Protein ekspresyonlarında PINK1 proteininde farklılık izlenmezken, PARKIN ve LC3 protein ekspresyonu hem koni hem de periferde kontrol grubuna göre daha az bulundu ($p < 0.05$). Koni epiteli ve periferik epitel kıyaslandığında PARKIN proteini koni bölgesinde perifere göre anlamlı olarak daha az LC3 proteinleri ise periferde koni bölgesine göre daha az olduğu gösterildi ($p < 0.05$). Hastalar keratometrik evrelerine göre değerlendirildiğinde evre 1’de 2’ye göre perifer-koni arası LC3 ekspresyon farklılığının daha fazla olduğu görüldü ($p < 0.05$). Evre 3’te bu fark gözlenmedi. Aynı farklılığın koni lokalizasyonuna göre gruplamada santral konilerde daha fazla olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). Cinsiyet, allerji öyküsü, aile öyküsü ile ekspresyonlar arasında anlamlı ilişki gösterilememiştir. Periferik kornea epitelinde PARKIN ekspresyonu ile Kmaks. değeri arasında negatif, koni epitelinde ise PINK1 ekspresyonu ile EİKK arasında pozitif, PARKIN ekspresyonu ile yaş arasında negatif korelasyon bulundu (bütün değerler için $p < 0.05$).

Sonuç: Keratokonus hastalarının kornea epitelinde mitofaji ve otofaji belirteçlerinde azalma gösterilmiştir. Hastalığın patogenezinde bu yolaklardaki disregülasyonun önemli bir mekanizma olduğu düşünülmektedir. Koni bölgesinde ve periferde varyasyonlar gösteren bu protein ekspresyon farklılıklarının korneada incelmeye, hastalık gelişimi ve progresyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: keratokonus, otofaji, mitofaji, PINK1, PARKIN, LC3

ABSTRACT

Evaluation of Mitophagy Markers in the Corneal Epithelium of Keratoconus Patients

Purpose: In this study, it was aimed to examine the mitophagy markers in human keratoconic corneal epithelium by revealing the differences between cone epithelium and peripheral corneal epithelium.

Materials and Methods: Study included 54 eyes of 52 patients undergone CXL with diagnosis of keratoconus and 23 eyes of 12 healthy volunteers who applied for refractive surgery. Expressions of PINK1, PARKIN, LC3A/LC3B proteins were evaluated in epithelia taken during CXL and PRK by Western Blot analysis. Results were analyzed by evaluating demographic, topographic, clinical characteristics.

Results: While there was no difference in PINK1 expression, PARKIN and LC3 was found to be lower than the control group ($p < 0.05$). When conical and peripheral epithelium were compared, PARKIN was significantly less in conical region than periphery, and LC3 proteins were less in periphery ($p < 0.05$). When patients were evaluated according to stages, the difference in LC3 expression between the periphery and the cone was more in stages 1-2 ($p < 0.05$). This difference was not observed in stage 3. The same difference was found to be more in central cones according to the localization of the cone. No significant relationship was found between expression and gender, allergy, family history. There was a negative correlation between PARKIN expression and Kmaks value in the peripheral epithelium and a positive correlation between PINK1 expression and TCT, and a negative correlation between PARKIN expression and age in the conical epithelium ($p < 0.05$ for all).

Conclusion: Decreased expression of mitophagy and autophagy markers has been shown in the epithelium of keratoconus patients. It is thought that dysregulation in these pathways is an important mechanism in the pathogenesis of the disease. These protein expression differences, which show variations in the conical region and periphery, are thought to be related to the thinning of the cornea, the development and progression of the disease

Keywords: Keratoconus, Autophagy, Mitophagy, PINK1, PARKIN, LC3

KISALTMALAR DİZİNİ

DNA	: Deoksiribonükleik Asit
YBMD	: Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu
FED	: Fuchs Endotelial Distrofi
PINK1	: phosphatase and tensin homolog-induced putative kinase protein 1
LC3	: microtubule-associated protein 1 light chain 3
TKA	: Trikarboksilik Asit siklusu
HMF	: Heksoz Monofosfat yolu
UV	: Ultraviyole
TGF- β	: Transforming Growth Factor Beta
OKT	: Optik Koherens Tomografi
SB	: Simetrik Papyon
SS	: Superior Dik
IS	: Inferior Dik
SB/SRAX	: Simetrik Papyon/Eğik En Dik Radyal Eksen
AB/IS	: Asimetrik Papyon/Inferior Dik
AB/SS	: Asimetrik Papyon/Superior Dik
AB/SRAX	: Asimetrik Papyon/Eğik En Dik Radyal Eksen
BFS	: Best Fitted Sphere
PMD	: Pellüsid Marjinal Dejenerasyon
EİKK	: En İnce Kornea Kalınlığı
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
IL	: İnterlökin
LOX	: Lizil Oksidaz
TNF- α	: Tumor Necrosis Factor Alfa
MDA	: Malondialdehit
NT	: 3-nitrotyrosine
ATG	: Otofaji ilişkili proteinler
KÇB	: Korneal Kollajen Çapraz Bağlama
PTK	: Fototerapötik Keratektomi
IKHS	: İntrakorneal Halka Segment
PK	: Penetran Keratoplasti
DALK	: Derin Anterior Lameller Keratoplasti
DGK	: Düzeltilmemiş Görme Keskinliği
EİDGK	: En İyi Düzeltilmiş Görme Keskinliği
logMAR	: logarithm of the Minimum Angle of Resolution
Kmean	: Ortalama Keratometri
Kmaks	: Maksimum Keratometri
SKK	: Santral Kornea Kalınlığı
PRK	: Fotorefraktif Keratektomi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Korneanın hücresel tabakaları.....	6
Şekil 2.2. Charleoux yağ damlacığı görüntüsü.....	14
Şekil 2.3. Kobalt mavi aydınlatma altında Fleischer halkası.....	14
Şekil 2.4. Vogt striaları.....	15
Şekil 2.5. Apikal korneal skar.....	15
Şekil 2.6a. Munson Belirtisi 2.6b. Rizutti işareti.....	16
Şekil 2.7. Akut hidrops.....	16
Şekil 2.8. Güç haritalarında görülen topografik paternlerin şematize edilmiş görüntüleri.....	21
Şekil 2.9. Otofaji ve mitofaji süreçlerinde LC3 regülasyonu.....	38
Şekil 2.10. Mitofaji ve PINK1/PARKIN regülasyonunun şematize gösterimi.....	39
Şekil 4.1. PINK1, PARKIN ve LC3B/LC3A protein ekspresyonlarının grafiği.....	51
Şekil 4.2. Perifer ve koni arasında protein ekspresyonlarının hastaların evrelerine göre istatistiksel karşılaştırması.....	53
Şekil 4.3. Belin ABCD sınıflamasına göre evrelerde Koni-Perifer protein ekspresyonları karşılaştırması.....	54
Şekil 4.4. Koni lokalizasyonuna göre koni perifer protein ekspresyonları karşılaştırması.....	55

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. Belin ABCD Sınıflandırması.....	25
Tablo 4.1. Keratokonus ve kontrol grubu yaş ortalamaları.....	49
Tablo 4.2. Keratokonus ve kontrol grubu cinsiyet dağılımları.....	49
Tablo 4.3. Keratokonus ve kontrol grubunun topografik verilerinin karşılaştırılması.....	50
Tablo 4.4. Hastaların Kmean değerlerine göre evreleri.....	50
Tablo 4.5. Hastaların Belin ABCD evrelerine göre dağılımı.....	50
Tablo 4.6. Koni lokalizasyonuna göre dağılım.....	51
Tablo 4.7. Hastaların koni bölgesindeki ve periferdeki protein ekspresyonlarının çeşitli parametrelerle korelasyonu.....	52
Tablo 4.8. Perifer ve Koni arasında protein ekspresyonlarının istatistiksel karşılaştırması.....	53

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Keratokonus, ilerleyici görme kaybına neden olan, korneanın yapısal olarak incilmesi, sivrileşmesi ve düzensiz astigmatizma ile ilişkili yaklaşık 2 000'de 1 görüldüğü düşünülen bir göz hastalığıdır. Güncel tedavi seçenekleri arasında, refraktif düzeltmeler, korneal kollajen çapraz bağlama, intrakorneal halka segment implantasyonu ve kornea nakli bulunmaktadır (1). Hastalığın moleküler temeli kapsamlı bir şekilde anlaşılamadığından, hastalığın gelişimini ve progresyonunu engelleyecek cerrahi olmayan tedavi yöntemleri henüz mevcut değildir.

Yapılan çalışmalarda, keratokonik kornealarda protein ekspresyonunda anormal paternler tespit edilmiş olsa da hastalığa neden olan spesifik mekanizmalar hala belirsizliğini korumaktadır. Keratokonus patogenezinde katkıda bulunan ana faktörlerin arasında oksidatif stresin de olduğu bilinmektedir. Hastalık reaktif oksijen ve nitrojen türevleri gibi oksidatif stres belirteçlerinde artış ve aldehit dehidrogenaz, superoksit dismutaz gibi antioksidanlarda azalma ile karakterizedir (2). Çevresel olarak indüklenen oksidatif stres, serbest oksijen radikallerinde bir artışa ve hücrede antioksidan seviyelerinde azalmaya neden olmakta ve bu reaksiyonlar, hücre dışı matriksin bozulmasıyla ve kornea stromasında incelmeyle sonuçlanmaktadır (3). Oksidatif stres inflamatuvar apoptotik sitokinlerde artışa da neden olur. Korneal epitelyal incelmanin artan apoptozis ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. (4).

Makrotofaji yani daha sık kullanılan tabiri ile otofaji, oksidatif strese yanıt olarak aktifleşen bir hücresel savunma mekanizmasıdır. Otofaji indüksiyonunda veya dinamiklerinde yetersizlik apoptozis ile hücre ölümüne yol açabilir. Oküler hastalıkların bir kısmında otofajik disregülasyon gösterilmiş olup literatürde keratokonus ile ilişkisine yönelik çalışmalar çok az sayıdadır. Yapılan bir çalışmada oksidatif strese bağlı olarak, keratokonus patogenezinde, yetersiz otofajik aktivitenin rol oynayabileceği öne sürülmüştür (5).

Otofajinin mitokondriyi hedef alan selektif yolağına mitofaji adı verilir. Oksidatif strese bağlı ortaya çıkan reaktif oksijen türleri, mitokondri membranında depolarizasyona neden olarak mitofajiyi tetiklemektedir. Artmış oksidatif stres ve mitokondriyal deoksiribonükleik asit (DNA) bütünlüğünün değişmesi birbiriyle ilişkilidir. Sonuçta mitofaji yoluyla hasarlı mitokondrilerin degradasyonu ile hücrenin göreceği zarar azaltılır ve geciktirilir (6).

Yaşa bağlı makula dejenerasyonu (YBMD) ve Fuchs endotel distrofinde (FED) mitofaji disregülasyonuna ilişkin bulgular bildirilmiştir (7, 8). Keratokonuslu kornealarda artmış mitokondriyal DNA hasarı ve hasar ürünlerinin birikimi daha önce gösterilmiştir (9, 10). Buna bağlı olarak keratokonusu da hasarlı mitokondrilerin ortadan kaldırılmasını sağlayan mitofaji yolağında bir disregülasyonun söz konusu olduğu düşünülebilir. Ancak literatürde keratokonus ve mitofaji ilişkisini inceleyen yalnız bir çalışma mevcuttur. Yıldız ve ark. tarafından gerçekleştirilen çalışmada keratokonuslu hastaların kornea epitelinde mitofaji regülasyonunda görev alan PINK1 ekspresyonunda normal kornea epiteline kıyasla anlamlı miktarda azalma tespit edilmiştir (9). Mitofaji yolağının regülasyonunda iki majör regülatör protein mevcuttur. Bunlar phosphatase and tensin homolog-induced putative kinase protein 1 (PINK1) ve PARKIN'dir. Mitokondri hasarlandığında oluşan depolarizasyon ile PINK1 mitokondriyal membranda birikmeye başlar ve PARKIN'i çalıştırarak LC3 proteinleri ile indüklenen otofajik mekanizmanın çalışması için sinyal başlatır. Takiben lizozomal hidrolazlar ile degradasyon gerçekleşir ve bu yolla mitokondriyal sağlık devam ettirilmiş olur (11). Sonuç olarak otofaji ve mitofajinin oksidatif stresi azaltan, hasarlı organellerin eliminasyonuyla apoptozisi engelleyen sitoprotektif bir cevabı oluşturduğu düşünülebilir. Otofajinin inhibisyonu hücre ölümünü dramatik olarak arttırken stimülasyonu ise tam tersi etkiye sahiptir (12). Keratokonus patogenezinde bu süreçlerin aydınlatılması yeni tedaviler geliştirilmesine öncülük edebilir.

Histopatolojik analizler; keratokonuslu kornealarda apikal koni bölgesinde epitel ve stroma incelmesini, Bowman tabakasında kırılmaları, fibrozisi ve anterior stromal keratositlerin apoptozunu göstermektedir (13). Hastalarda morfolojik olarak birbirinden farklı yapıdaki koni ve perifer epitel örneklerinin farklı moleküler ekspresyon paternleri gösterdiği bilinmektedir. Buna bağlı olarak hücresel

apoptozisin koni bölgesinde daha fazla olduğu öne sürülmüştür. Konik ve periferik kornea epitelindeki otofajik süreçlerdeki farklılıklar daha önce incelenmiş olsa da mitofaji yolağı üzerinde benzer bir çalışma literatürde mevcut değildir (5). Literatürdeki tek çalışma mitofaji belirteçlerini bütün kornea epitelinde araştırmıştır (9).

Keratokonusta primer patolojinin stromada olduğu düşüncesine karşıt olarak son yıllarda yapılan araştırmalarda epiteldeki anormalliklerin stromal degradasyona neden olduğu, epitel tabakasının da hastalığın şiddetiyle orantılı olarak etkilendiği tespit edilmiştir. Korneal epitelde proteomik bozukluklar gösterilen çalışmalar yayınlanmıştır (4, 14-16). Fakat hastalığın ortaya çıkmasına neden olan olası patolojilerin, yalnızca topografik bozukluğun görüldüğü koni bölgesinde kısıtlı ya da bütün korneayı etkileyen bir durum olup olmadığı hala belirsizliğini korumaktadır (4). Koni bölgesini ve topografik olarak normal görünümdeki periferik korneal epitelini kıyaslayan çalışma sayısı literatürde hala oldukça az sayıdadır ve bu çalışmalar iki bölgenin de farklı şekillerde etkilendiğine yönelik ipuçları vermektedir (4, 5, 17, 18).

Bu çalışmada farklı evrelerdeki keratokonus hastalarından korneal kollajen çapraz bağlama tedavisi uygulaması esnasında alınan epitel, koni ve perifer olarak ayrıldı ve refraktif cerrahi esnasında elde edilen sağlam kornea epitelini kontrol grubu kabul edilerek Western Blot analiziyle korneal epitel hücrelerinde mitofaji ve otofaji belirteçlerinin incelenmesi amaçlandı. Protein ekspresyon paternleri hastaların klinik, demografik ve topografik özellikleri ile birlikte analiz edildi. Böylece keratokonus patogenezinde mitofaji ve otofaji yollarındaki disregülasyonun rolünün gösterilmesi ve bu yolda koni ile perifer epitelini arası farklılık olup olmadığının aydınlatılması amaçlanmıştır. Çalışma literatürde keratokonus hastalarında koni ve perifer kornea epitelinin mitofajik protein ekspresyonlarını kıyaslayan ilk çalışmadır. Aynı zamanda mitofaji ve otofaji markerlarının birlikte hasta özellikleriyle detaylı kıyaslanarak incelendiği mevcut literatürdeki en kapsamlı çalışmadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kornea

2.1.1. Embriyoloji

Kornea gelişimini lens vezikülünün yüzey ektoderminden ayrılması başlatır. Korneal epitel ve endotel ilk önce 5. haftada belirir (19). Gestasyonel 5. hafta sonunda ektoderm ince bazal lamina üzerindeki 2 tabakalı epitelyum hücrelerinden ibarettir. Lens vezikülünün ayrılmasıyla epitelyal hücrelerin bazal tabakası lens ve korneal epitel arasındaki boşluğu doldurarak birincil stromayı oluşturacak kollajen fibrilleri ve glikozaminoglikanları üretmeye başlar. Mezenkimal hücreler optik çukur riminin kenarlarından birincil stroma arka yüzeyi boyunca göç ederler. Nöral tomurcuk kökenli hücrelerin korneal endoteli oluşturması üç içe büyüme dalgasının ilkidir (20).

Stromanın gelişiminin ilerlemesi optik çukurun riminden başlayıp 2 yönde ilerleyecek olan mezenkimal hücrelerin başka bir içe büyüme dalgası ile sağlanmaktadır. Arkaya doğru yayılan hücreler lens epiteli ile korneal endotel arasında büyür ve birincil pupiller membranı oluşturur. Eş zamanlı olarak birincil stromanın hiyalüronik asit komponentlerinin hidrasyonu yeni göç dalgasına katılacak hücrelere uygun boşluk sağlar. Yaklaşık 7. gestasyon haftasında öne uzanan mezenkim hücreleri korneal stromaya göç eder. Bu hücreler tip 1 kollajen fibrilleri salan matür (ikincil) stromanın matriksini oluşturacak keratositlere farklılaşır (20).

Keratositlerin morfogenezi posterior stromada başlar ve öne doğru ilerler. Hücreler lamella şeklinde organize olan proteoglikanlar ve kollajen fibrilleri sentezler. Her lamella ek fibriller sayesinde büyümeye devam eder. Eş zamanlı olarak ardı ardına lamella tabakaları eklenir. Lamellalar boy ve genişlik olarak büyüdükçe kornea çapı ve kalınlığı artar. Korneanın santral alanındaki endotel gestasyonun 3. ayında tek katlı yassılaştırmış hücrelerden oluşan bir tabaka haline gelir.

Hücreler descemet membranını oluşturacak kesintili bazal lamina üzerindedir. Gelişimin bu aşamasında descemet membranı 2 zondan oluşmaktadır. Stromaya doğru olan zon lamina densa, endotele komşu olan ise lamina lusida olarak adlandırılır (20).

Dördüncü gestasyonel ayın ortalarında komşu endotel hücreleri apekslerinden zonula okludensler ile birleşir. 4. ayın sonunda ön stromanın hücesiz bowman zonu oluşur (20). Kesin bir korneoskleral ayırım 4. ayda mevcuttur (19).

2.1.2. Anatomi

Kornea yapısal bariyer olarak rol alan ve gözü enfeksiyonlara karşı koruyan şeffaf, avasküler bir dokudur (21). Ortalama bir yetişkinde korneanın horizontal çapı yaklaşık 11.5-12 mm'dir ve vertikal çapından 1mm daha büyüktür. Merkezinde aşağı yukarı 0.5 mm kalınlığındadır ve periferde doğru git gide kalınlık artar. Korneanın şekli periferde daha düz ve merkezde daha diktir bu da asferik bir optik sistem yaratır (22). Ön kurvatürü 7.8 mm'dir ve arka kurvatürü 6.5 mm'dir (21). Gözyaşı film tabakası ile birlikte göz için düzgün bir ön refraktif yüzey sağlamaktadır. Refraktif güce 40-44 Diyoptrilik bir katkıda bulunur ki bu total refraksiyonun yaklaşık %70'idir (13). Ortalama refraktif indeksi 1.3375'tir (21, 22).

2.1.3. Fizyoloji

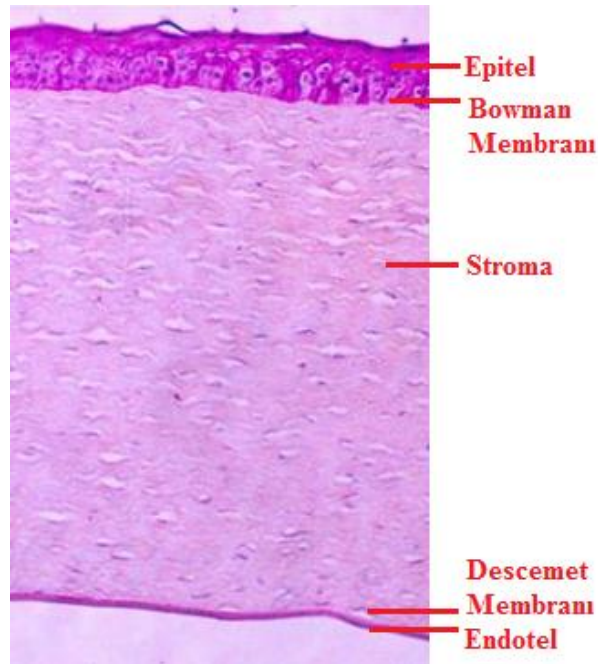
Normal korneanın damarlanması yoktur. Korneanın beslenmesini ve metabolik atıkların uzaklaştırılmasını arka yüzeyde humör aköz, ön yüzeyde göz yaşı film tabakası ve kapak damar yapısı sağlar. Epitelyal hücreler, keratositler ve endotel hücreleri için ana metabolizma kaynağı glikozdur. Stroma, glikozu endotelden geçen taşıyıcı aracılı transport ile humör aközden alır. Epitel ise stromadan pasif difüzyonla alır. Göz yaşı film tabakası ve limbal vasküler yapılar kornea glikozunun yaklaşık %10'unu sağlar. Glikoz korneada trikarboksilik asit (TKA) siklusu, anaerobik glikoliz ve heksoz monofosfat (HMF) yolu ile metabolize edilir. Epitel ve endotelde glikozun %35-65'i HMF yoluyla yıkılırken, keratositlerde 6-fosfolukonat

dehidrogenaz bulunmadığından stromal keratositler bu yolla çok az glikoz metbolize eder. TKA siklusu endotelde daha etkindir. Glikolizin son ürünü olan pirüvik asit, aerobik şartlarda CO₂ ve H₂O'ya; anaerobik ortamda ise laktik aside çevrilir. Laktik asit düşük oksijen geçirgen kontakt lens kullanımı gibi oksijen azlığı yaratan durumlarda artar. Artmış laktik asit düzeyinin ise ödem veya endoteli etkileyen stromal asidoz gibi zararlı sonuçları vardır (23).

İnsan korneasında yüksek oranda aldehid dehidrogenaz ile transketolaz vardır ve lensin enzim kristalinlerinde olduğu gibi bu enzimler korneanın optik özelliğine katkıda bulunur. Bu iki protein korneal stromal çözünebilir proteinlerin %40-50'sini oluşturur ve kornea hücrelerini, serbest radikallere ve oksidatif hasara karşı UV-B ışınlarını emerek korur (24).

2.1.4. Histoloji

İnsan korneası epitel, stroma ve endotel adında 3 hücresel tabaka ve bowman membranı ile descemet membranı olmak üzere 2 ara yüzey tabakasının oluşturduğu 5 tabaka ile tanımlanmıştır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Korneanın hücresel tabakaları (25).

2.1.4.1. Epitel

Korneanın epitelyal yüzeyi dış etkenlere karşı ilk korumayı oluşturur. Çok katlı, nonkeratinize skuamöz epitel yapısındadır ve 4-6 hücre tabakasından meydana gelir. Yaklaşık 50 µm kalınlığındadır.

Gözyaşı film tabakası ile anatomik ve fizyolojik olarak simbiyotik ilişki içindedir. Ön epitelyal yüzeydeki mikrodüzensizliklerin giderilmesi açısından bu ilişki optik önem arz etmektedir (22).

Kornea epitelindeki tabakalar yüzeyel hücreler, kanat hücreler ve bazal hücreler olmak üzere 3 hücre tipinden oluşur. En yüzeydeki 2-3 tabaka yüzeyel hücreler düz ve poligonal şekildedir. Yüzey alanını arttıran apikal mikrovili ve mikropilika yapılarına sahiptir (26). Bu yapıların üzerinde glikokaliks tabakası mevcuttur (27). Gözyaşının konjonktival goblet hücreleri tarafından üretilen müsinöz tabakası ile etkileşime girerek her göz kırpmada gözyaşı tabakasının hidrofilik yayılımını sağlar (21). Hücreler arası sıkı bağlantılar gözyaşı geçirmez bir yalıtım oluşturur ve patojenik mikroorganizmaların ve toksinlerin korneaya girişini önlemeye yardımcı olur (26)

Yüzeyel hücre tabakasının altında kanat veya suprabazal olarak adlandırılan hücreler daha az yassı 2-3 hücre tabakası oluşturur ve bu hücreler de aralarında benzer sıkı bağlantılar içerir.

En derindeki hücre tabakası bazal hücre tabakasıdır ve kolumnar özellikte tek bir hücre sırasından oluşur (22). Bazal hücreler, kök hücreler ve geçici çoğalabilen hücreler dışında mitoz yapabilen tek korneal epitel hücresidir (28). Epitelyal kök hücreler limbal bazal epitelde lokalizedir. Hücreler santral korneaya migrasyon ile geçici çoğalabilen hücrelere ve bazal hücrelere farklılaşırlar. Kanat hücrelerin ve yüzeyel hücrelerin kaynağı bazal hücrelerdir. Yüzeydeki hücreler apoptozis ve dökülme yoluyla kaybedilir. Epitel hücrelerinin yaşam döngüsü 7-10 gündür (29). Thoft ve Friend santral epitelyal sürekliliği XYZ hipotezi ile açıklamışlardır. X bazal

hücre proliferasyonunu, Y hücrelerin periferden santrale migrasyonunu ve Z yüzeyden hücre kaybını simgeler (30).

Bazal hücreler alttaki bazal membrana hemidesmozomlarla bağlanırlar. Bu sıkı bağlantılar epitelin alttaki kornea tabakalarından ayrılmasını önler. Bu bağlarda anormallikler rekürren korneal erozyon sendromları ya da iyileşmeyen epitel defektleri ile sonuçlanabilir (22). Bazal membran bazal hücrelerden salgılanan Tip IV kollajen ve lamininden oluşur (21).

2.1.4.2. Bowman Membranı

Bowman membranı stromanın ön kısmında aselüler bir yapıdır ve gerçek bir membran değildir. Tip I, Tip V kollajen ve proteoglikan yapıdadır. Rejenerasyon yeteneği yoktur bu yüzden hasarlandığında skarla sonuçlanabilir. Korneanın şeklini korumasına yardımcı olur (21,22).

2.1.4.3. Stroma

Stroma önde bowman ve epitelyal bazal membran ile arkada descemet ve endotelyal bazal membran arasında uzanır. Korneal yapıların ve korneal kalınlığın %90'ını oluşturur. Kornea işlevleri için zorunlu olan şeffaflık, avasküleriteyi sağlar. Kornea şeklinin korunması ve dayanıklılığı için gerekli mekanik özellikler taşır.

Stroma esas olarak ekstraselüler matriks molekülleri ve bunları sentezleyen keratositler ile sudan oluşmaktadır (31). Keratositler stromanın major hücre tipidir ve hepsi stromal homeostazisi sağlamakta önemli olan kollajen molekülleri, glikozaminoglikanları, matriks metalloproteinazları sentezlerler. Ayrıca hücre içinde ışığın saçılımını azaltan ve korneal şeffaflığı sağlayan kristalin proteinleri içerir (22).

Keratositler haricinde stromada limbal stromal bölgede lokalize kök hücreler ve immün cevabı düzenleyen fagositik doku spesifik antijen sunan hücreler olan dendritik hücreler bulunmaktadır.

Korneanın şeffaflığı homojen, küçük çaplı kollajen fibrillerin düzgün dizilimine dayanır. Bu fibriller lamella olarak adlandırılan tabakalar oluşturur (31). İnsan korneasındaki stroma 200-250 ayrı lamelladan oluşur ve her tabaka komşu lamellalardaki fibriller ile dik açı oluşturacak şekilde düzenlenmiştir.

Periferal stroma merkezdeki stromadan daha kalındır ve kollajen fibriller limbusa yaklaştıkça daireselleşecek şekilde yön değiştirebilir. Derindeki tabakalar yüzeysel tabakalara göre daha sıkı düzenlenmiştir.

Stromal kollajen fibriller tip V kollajen ile heterodimerik kompleks oluşturan tip I kollajenden oluşur. Bu kompleksler hidrasyon regülasyonuna ve yapısal özelliklere yardımcı olan keratan sülfat, kondroitin sülfat ya da dermatan sülfat yan zincirleri içeren özelleşmiş proteoglikanlar ile çevrelenmiştir (22).

2.1.4.4. Descemet Membranı

Descemet membranının diğer bazal membranlarla birkaç komponenti benzer olsa da diğer organlardaki bazal membranlarla hatta korneal epitelyal bazal membranla karşılaştırıldığında eşsiz bir yapıya sahiptir. Descemet membranı tip VIII kollajen, fibronektin, keratan sülfat ve dermatan sülfat bileşenlerinden oluşur. Fibronektin kollajen fibrilleri ile etkileşime girerek stroma ve endotelial hücre tabakasının descemet membranına adezyonunda rol oynar ve bu sayede membran yapısının korunmasına yardımcı olur. Çoğu bazal membranda tip IV kollajen major bileşen iken descemet membranının major kollajeni tip VIII'dir ve görece descemet membranına spesifik olarak tanımlanmıştır. Hekzagonal örgü yapısında olup besin maddeleri ve diğer makromoleküllerin aköz hümörden korneal stromaya taşınmasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

Diğer bazal membranların aksine descemet ince değil kalın yapıdadır ve lamina lusida ve lamina densa içermez. Descemet membranı korneal şeffaflığın, kornea yapısının ve homeostazisin korunmasında önemli rol oynamaktadır. Endotel tabakasının korneaya adezyonunu sağlayarak korneal bütünlüğe katkıda bulunurken

aynı zamanda endotel ile birlikte besin maddeleri, büyüme faktörleri ve sitokinler gibi makromoleküllerin iki yönlü olarak stroma ve aköz sıvısı arasında geçişine izin veren bir bariyer fonksiyonu görmektedir. Korneanın avasküler bir doku olması nedeniyle bu geçiş keratositler, korneal sinirler ve epitelyal metabolizma için yaşamsaldır.

Descemet membranının stromaya büyüme faktörlerinin girişini düzenlemesi miyofibroblastların gelişimi ve stromal fibrozis ile skarlaşmayı engellemek için zorunludur. Endotel ve descemet membranını içeren yaralanmalardan sonra aktive keratositlerin miyofibroblastlara farklılaşması ve dezorganize ekstrasellüler matriks üretmesi sonucu kornea opaklaşabilir. Bu süreç normalde aköz sıvısında bulunan ve travma sonucu endotel hücrelerinde sentezi artan Transforming Growth Factor-Beta (TGF- β) ile düzenlenir. Descemet yapısında bulunan perlekan da içerdiği anyonik bölgeler ile TGF- β gibi negatif yüklü moleküllerin geçişini düzenleyen elektriksel bariyer yapısı oluşturur (32). Fakoemülsifikasyon esnasında descemet-endotel kompleksinde oluşan küçük defektler gibi durumlarda rejenerasyon olup stromal şeffaflığı tekrar sağlayabilse de descemet membranı korneal epitelyal bazal membran ile kıyaslandığında travmatik ve enfeksiyöz defektlere karşı daha zayıf rejenerasyon potansiyeline sahiptir (33).

2.1.4.5. Endotel

Korneanın endotel tabakası görece dehidrasyon durumu oluşturarak korneanın şeffaf halinin korunmasını ve ışık geçirgenliğinin maksimize olmasını sağlar (22, 26). İntakt endotel tabakası arka yüzeyden bakıldığında bal peteği benzeri mozaik yapıdadır. Komşu hücreler yaygın lateral interdijitasyonları paylaşır ve lateral sınırları boyunca gap junction ve tight junctionlara sahiptir. Lateral membranlar yüksek yoğunlukta Na^+ - K^+ -ATPaz pompa alanları içerir. Bu pompalar bikarbonat bağımlı Mg^{+2} -ATPaz pompaları ile birlikte hidrasyon gradiyentini oluşturur. Endotelin bazal yüzeyinde descemet membranına adezyonu sağlayan çok sayıda hemidesmozomlar mevcuttur (22).

Endotel hücre yoğunluğu doğumda yaklaşık 3 000-4 000 hücre/mm² iken geç yetişkinlik döneminde bu sayı 2 500 hücre/mm²'ye kadar düşer. Yaşam boyu hücre kaybı yılda 10.92 hücre/mm²'dir. Endotelyal yoğunluğun yaş, intraoküler cerrahi, travma, inflamasyon ya da fuchs endotelyal distrofisi gibi hastalıklarla birkaç yüze kadar azalması ile endotel yetmezliği gelişebilir (22, 26). Endotelyal yetmezlik pompalar tarafından dışarıya pompalanandan daha fazla sıvının görece daha hipertonic yapıda olan aközden hipotonik stromaya girişiyle korneal ödem gelişmesiyle sonuçlanır (22).

Epitelin aksine endotel hücrelerinde mitoz izlenmez. Hasar ve hücre ölümü sonrası endotel hücre fonksiyonunun tekrar sağlanması hücre bölünmesi ile değil migrasyon ile gerçekleşir. Santralde fokal hücre kaybı komşu endotel hücrelerin sentripedal migrasyonu ve sonrasında sıkı bağlantıların oluşumu ile pompa fonksiyonunun geri kazanımı ile sonuçlanır. Daha sonra genişlemiş irregüler yapılı endotel hücrelerinin daha hegzagonal bir patterne remodelingi ile sonlanır (26).

2.1.5. İnnervasyon

Kornea vücuttaki en fazla innervasyona sahip en hassas dokulardan biridir. Korneal sinirler ve duyu trigeminal sinirin oftalmik bölümünden köken alan nazosilyer dalı ile innerve edilir. Sinirler yüzeyel korneada stromaya pleksiform bileşkeler oluşturan radyal kalın dallar olarak girer bowman membranını deler ve bazal epitelyal tabakanın altında zengin bir pleksus yapısı oluşturur. Kornea aynı zamanda otonom sempatik sinir lifleri de içerir (22).

2.2. Keratokonus

2.2.1. Tanım

Keratokonus kelimesi yunanca kornea anlamına gelen Kerato ve koni anlamına gelen Konos kelimelerinin birleşimiyle oluşmuştur ve koni şeklinde kornea

anlamındadır. Korneada yüksek miyopi ve irregüler astigmatizmaya yol açarak görme keskinliğini azaltabilen ilerleyici bir incelme ve dikleşme ile sonuçlanan bilateral, asimetrik bir dejenerasyondur. Kornea santraliyle birlikte genelde alt temporalde incelme olsa da superior lokalizasyonlar da tanımlanmıştır.

Hastalık genellikle 20'li yaşlarda ortaya çıkıp 40'lı yaşlara kadar progresyon sonrası stabil hale gelir fakat daha erken ya da daha geç yaşlarda da görülebilmektedir (22).

Geleneksel olarak noninflamatuvar bir hastalık olarak tanımlansa da inflamatuvar mediyatörlerde önemli değişikliklerle keratokonik gözlerde bir tür oküler inflamasyonun bulunduğu işaret eden çalışmalar bildirilmiştir. Genellikle izole bir oküler hastalık olsa da bazen başka oküler ve sistemik hastalıklarla birlikte olabilir.

2.2.2. Epidemiyoloji

Keratokonus tanısının retinoskopi, keratometri ve subjektif klinik bulgulara dayandığı eski çalışmalar daha ziyade ileri evre keratokonus hastalarını tanımlamaktadır. Fakat keratokonusu hastalığın yeni başladığı aşamalarda tanımlayabilmeyi sağlayan yazılımlar içeren korneal topografi ve tomografi kullanımının giderek yaygınlaşması son yıllarda yapılan çalışmalarda keratokonus oranlarının giderek artan şekilde bildirilmesiyle sonuçlanmıştır.

Epidemiyolojik çalışmalarda keratokonus prevalans oranı 0.2 - 4 790/100 000 ve insidans oranı yılda 1.5-25/100 000 arasında değişecek şekilde önemli global varyasyonlar göstermektedir. Çalışmalar arasındaki bu değişken oranlar coğrafik bölge, etnik grup, keratokonus tanımı ve tanı kriterleri, yaş gibi çalışmaların dizaynı arasındaki farklılıklara atfedilmektedir (2). Ayrıca çalışmalarda insidans ve prevalans oranlarını hesaplarken pay ve paydaları tanımlamak için kullanılan kriterler arasındaki farklılıklardan ötürü de bu çalışmalar arası adil kıyaslamalar yapmak zordur (35).

Klinik bazlı çalışmalarda Rusya'da hastalık prevalansı 0.2-0.4/100 000 iken (36), Suudi Arabistan'daki bir çalışmada bu oran 4 790/100 000'e kadar yükselmektedir (37). İnsidans oranı ise 1.5/100 000 ile en düşük Finlandiya'da bildirilmişken (38) bu oran Asya ve Ortadoğu ülkelerinde yapılan çalışmalarda 20/100 000'i geçmektedir (39,40). Fakat klinik bazlı çalışmalar hastaneye başvuran hastaların genellikle semptomatik ve sağlık sistemine erişim imkanı bulunan hastalar olması nedeniyle hastalığın erken evreleri tespit edilemediği için toplumdaki gerçek prevalans oranını öngörmekte yetersiz kalmaktadır. Bu yüzden toplum temelli epidemiyolojik çalışmalar toplumdaki gerçek insidans ve prevelans oranlarını daha iyi temsil etmektedir. Toplum temelli çalışmalara bakıldığında keratokonus prevalansı Danimarka'da 4/100 000 kadar düşük iken, Ortadoğu'da 22/100 000'e kadar yükselmektedir. İnsidans oranı ise yine en düşük Danimarka'da yılda 3.6/100000 olarak bildirilmişken, İran'da bu oran yılda 22.3/100000 seviyesindedir (41, 42).

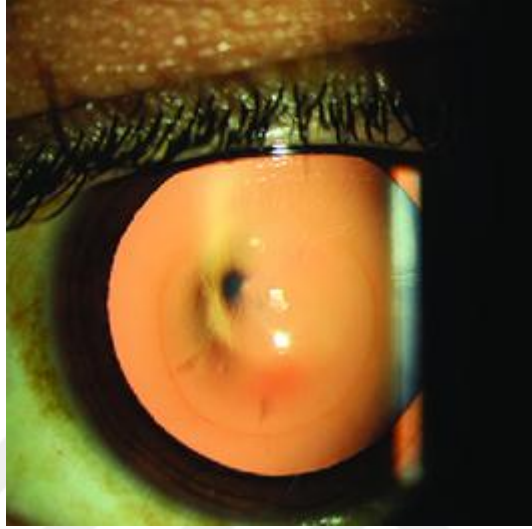
Bazı çalışmalarda keratokonus erkeklerde daha yüksek oranlarda bildirilirken, çoğu çalışma da tersini ya da iki cinsiyet arasında anlamlı bir fark olmadığını göstermiştir.

2.2.3. Klinik Özellikler, Tanı ve Sınıflandırma

2.2.3.1. Klinik Bulgular

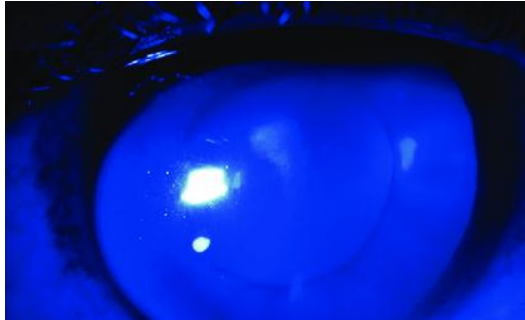
Keratokonusun oküler semptom ve bulguları hastalığın ciddiyetine bağlı olarak oldukça değişkenlik göstermektedir. Başlangıç evrelerinde basit refraktif hatalar dışında herhangi bir semptom göstermez ve bu yüzden özellikli testler yapılmadıkça hasta ve klinisyen tarafından farkedilmeyebilir (43). Hastalıkta progresyon kendini gözlüklerle düzeltilemeyen anlamlı görme keskinliği kaybı ile gösterir (34). Bu sebeple klinisyenler artmış kurala aykırı astigmatizma varlığında görme keskinliğini arttırmada zorluk yaşadıklarında keratokonustan şüphelenmelidir (13).

Retinoskopi esnasında irregüler astigmatizmayı işaret eden makaslama refleşi görülebilir. Dilate pupillada retroillüminasyon ile bakıldığında korneanın midperiferinde koni bölgesinde koyu yuvarlak bir gölge görüntüsü olan Charlouex yağ damlacığı (oil drop) görülebilir (Şekil 2.2).



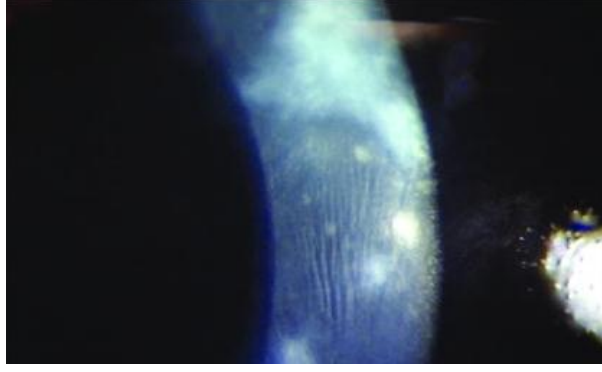
Şekil 2.2. Charlouex yağ damlacığı görüntüsü (44).

Korneada demir depozitlerinin oluşturduğu sarı-kahverengi sirküler bir hemosiderin arkı olan Fleischer halkası da ileri keratokonus bulgularındandır. En iyi kobalt mavi ışık altında gözlemlenir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Kobalt mavi aydınlatma altında Fleischer halkası (44).

Descemet membranının kompresyonuna bağlı olarak posterior stromada ortayan çıkan kornea üzerine dijital bir basınç uygulandığında kaybolan vertikal çizgilenmelere Vogt striaları adı verilir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Vogt striaları (44).

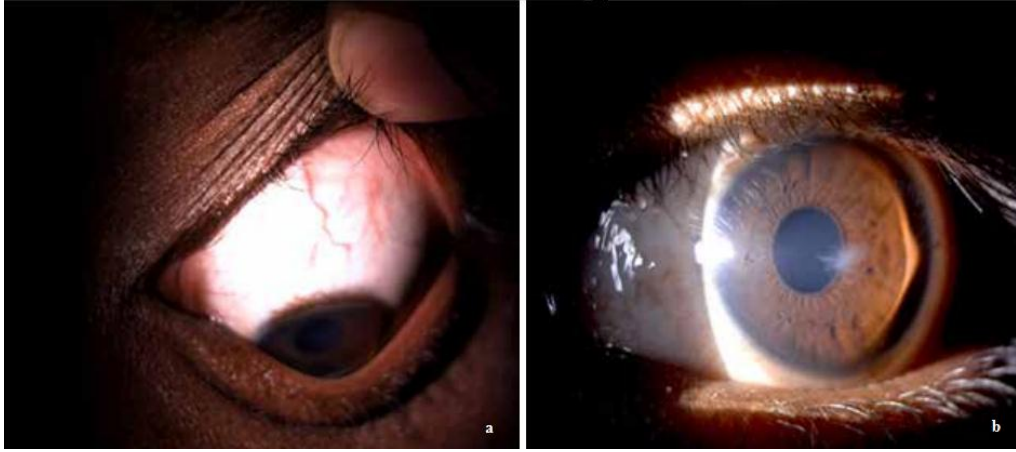
Biyomikroskopik muayenede stromal incelme görülebilir. Korneal sinirlerde belirginleşme ve yüzeysel-derin korneal opasiteler de yaygın bulgulardandır. Epitelyal veya subepitelyal korneal apikal skar da daha genç yaşta tanı alan, 55 D'den yüksek korneal kurvatüre sahip korneası olan ve kontakt lens kullanan hastalarda daha sıklıkla görülen keratokonusun karakteristik bir bulgusudur (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Apikal korneal skar (45).

İleri olgularda aşağı bakışta alt göz kapaklarında V şeklinde deformite (Munson's sign) görülebilir (Şekil 2.6a).

Slit ışığı temporalden tutulduğunda nazal bölgede ışığın parlak bir refle şeklinde toplanmasına Rizzuti bulgusu adı verilir ve ileri evrelerde gözlenir (Şekil 2.6b).



Şekil 2.6a. Munson Belirtisi 2.6b. Rizutti işareti (45).

Descemet membranında çatlaklar sonucunda ani görme kaybı ve ağrı ile sonuçlanan akut stromal ödem tablosu hidrops olarak bilinir (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Akut hidrops (45).

2.2.3.2. Korneal Görüntüleme

Keratoskopi ve Fotokeratoskopi

Keratoskopi modern korneal topografinin öncüsüdür. Placido diski denilen ortasında gözlem deliği olan bir alettaki 9 adet parlak halkanın ön kornea yüzeyinden yansımaları klinisyen tarafından incelenerek irregüler astigmatizma veya keratokonus açısından değerlendirilir. Fotokeratoskopide farklı olarak placido diski arkadan aydınlatılır ve gözlem deliği yerine mevcut olan kamera ile yansıyan halka deseni fotograflanır.

Normal sferik bir korneada halkalar daireseldir. Keratokonusta ise halkalar düzensiz ve koni bölgesinde daha sıkıştırılır. Hafif keratokonusu ve santral keratokonusu asimetrik görüntü oluşmadığı için ayırt etmek zordur.

Bu yöntemler yerlerini aynı prensiple çalışarak halkaların görüntülerini bilgisayar yardımıyla işleyerek harita ve indeksler sunan modern topografi cihazlarına bırakmıştır (46).

Korneal Histerezis

Oküler Cevap Analizörü (Ocular Response Analyzer) cihazı ile korneayı hava akımı ile içeri ve dışarı doğru hareket ettirdikten sonra kornea içe eğilirken ve normale dönerken iki noktada aplanasyon basıncı ölçülür ve bu iki basınç arasındaki fark korneal histerezis olarak adlandırılır. Keratokonuslu kornealarda normal kornealara göre daha düşük değerler gözlenir (46).

Konfokal Mikroskopi

Keratokonusta konfokal mikroskopide stromal incelme, yüzeysel epitel hücrelerinde uzama ve dökülme, kanat hücreler ve bazal epitel hücrelerinde büyüme, subbazal sinir liflerinde kalınlaşma, artmış stromal bulanıklık, keratositler ve nükleuslarında yapısal anormallikler, stromada z şeklinde kıvrımlar, endotelde pleomorfizm gibi bulgular görülebilir fakat çoğu keratokonusa özgü olmayıp diğer korneal bozukluklarda da görülebilir (46).

Speküler Mikroskopi

Keratokonusta speküler mikroskopide endotel hücre morfolojisinde artmış polimegatizm ve pleomorfizm görülürken hegzagonal hücreler önemli ölçüde azalmıştır (46).

Korneal Topografi ve Tomografi

Günümüzde keratokonus tanı ve takibinde altın standart görüntülemelerdir. Placido disk temelli topografi cihazları korneanın yalnızca ön yüzeyinin değerlendirilmesini sağlar bu da ektatik kornea hastalıklarında önemli olan arka yüzey değerlendirilmesinde yetersiz kalmalarına neden olur.

Placido disk dışında PAR kornea topografi sistemi denilen kornea yüzeyine yansıtılan bir ızgarayı analiz ederek topografik harita üreten bir sistem ve çok sayıda renkli noktanın speküler yansımalarının rekonstrüksiyonuyla kornea şeklini analiz eden ve 2. purkinje görüntülemesiyle arka yüzeyin de değerlendirilmesini sağlayan renkli LED kornea topografi sistemleri de mevcuttur.

Korneal tomografi cihazları ise farklı olarak ön ve arka yüzey elevasyonlarını saptar ve pakimetri haritaları sunarak lokal incelme ve dikleşme ile giden ektatik durumların tespitini kolaylaştırırlar.

Korneal tomografi görüntüleri günümüzde tarayıcı slit cihazları, Scheimpflug kameralı cihazlar ve optik koherens tomografi temelli cihazlar ile elde edilir. Tarayıcı slit prensibiyle çalışan Orbscan cihazında 20 nazal 20 temporal yarıktan her birinde 240 noktayı değerlendirmek için kornea üzerine yansıtılan ışınlar ön-arka kornea eğriliğini ve pakimetriyi analiz etmek için kullanılır.

Scheimpflug kamera ile çalışan cihazlarda (Pentacam, Sirius, Galilei) dönen bir kamera sistemi bulunur ve bu sistemler optik eksen boyunca ışığın dağılımını ölçme kabiliyeti ile kornea ön yüzeyinden lens arka yüzüne kadar tüm ön segmenti değerlendirerek keratometri değerleri ve güç haritaları, pakimetri indeksleri ve haritaları, elevasyon haritaları, korneal aberrasyonlar, pupil çapı, ön kamara analizi gibi veriler ile birlikte kendi içlerinde keratokonus/ektazi riskini tespit etmeyi ve tanı koymayı kolaylaştıran yazılımsal indeksler sağlarlar.

OKT sistemleri ise interferometre yardımıyla geri yansıtılan ışığın eko zaman gecikmesinin ölçümlerini analiz eder ve kornea, ön kamara ve iridokorneal açının görüntülenmesine izin verirler. Bazı platformlarda OKT görüntüleri Placido disk

topografisiyle birleştirilerek 3 boyutlu kornea analizi yapılabilmektedir. Scheimpflug cihazlarının aksine daha kaliteli ve yüksek çözünürlüklü görüntüler elde edilebilir. Kornea epitelinin görüntülenmesine ve kalınlık tayinine imkan vererek keratokonus gibi lokal inceleme ile seyreden durumların takip ve tanısına katkıda bulunmaktadırlar (47).

2.2.3.3. Tanı ve Sınıflandırma

Normal bir kornea topografik açıdan geniş bir yelpazeye sahiptir. Güç haritasında görülen patern sıklıkla birbirine eşit boyutta ve simetrik iki lobdan oluşan simetrik papyon (SB) şeklindedir. Loblar aynı hizada ve aralarındaki açı 21° 'nin altında olmalıdır. Çoğunlukla vertikal meridyenin horizontalden daha dik olduğu kurala uygun astigmatizma şeklinde görülür.

Normal bireylerde her iki korneanın topografisi birbirinin ayna görüntüsü şeklindedir ve bu enantiomorfizm fenomeni olarak adlandırılır. Keratokonus hastalarında bu fenomen gözlenmez. Keratokonus hastalığı koni morfolojisi ve topografik güç haritalarındaki paternlere göre sınıflandırılabilir.

Koni Morfolojisine Göre Sınıflandırma

Sivri(nipple) koni: Daha çok inferonazal yerleşimli 5mm'den küçük dik konilerdir, santral ya da parasantral olabilir.

Oval koni: 5-6 mm elipsoid yapıda inferotemporal yerleşimli konilerdir

Globus Koni: 6mm'den büyük, korneanın %75'inden fazlasını içeren konilerdir.

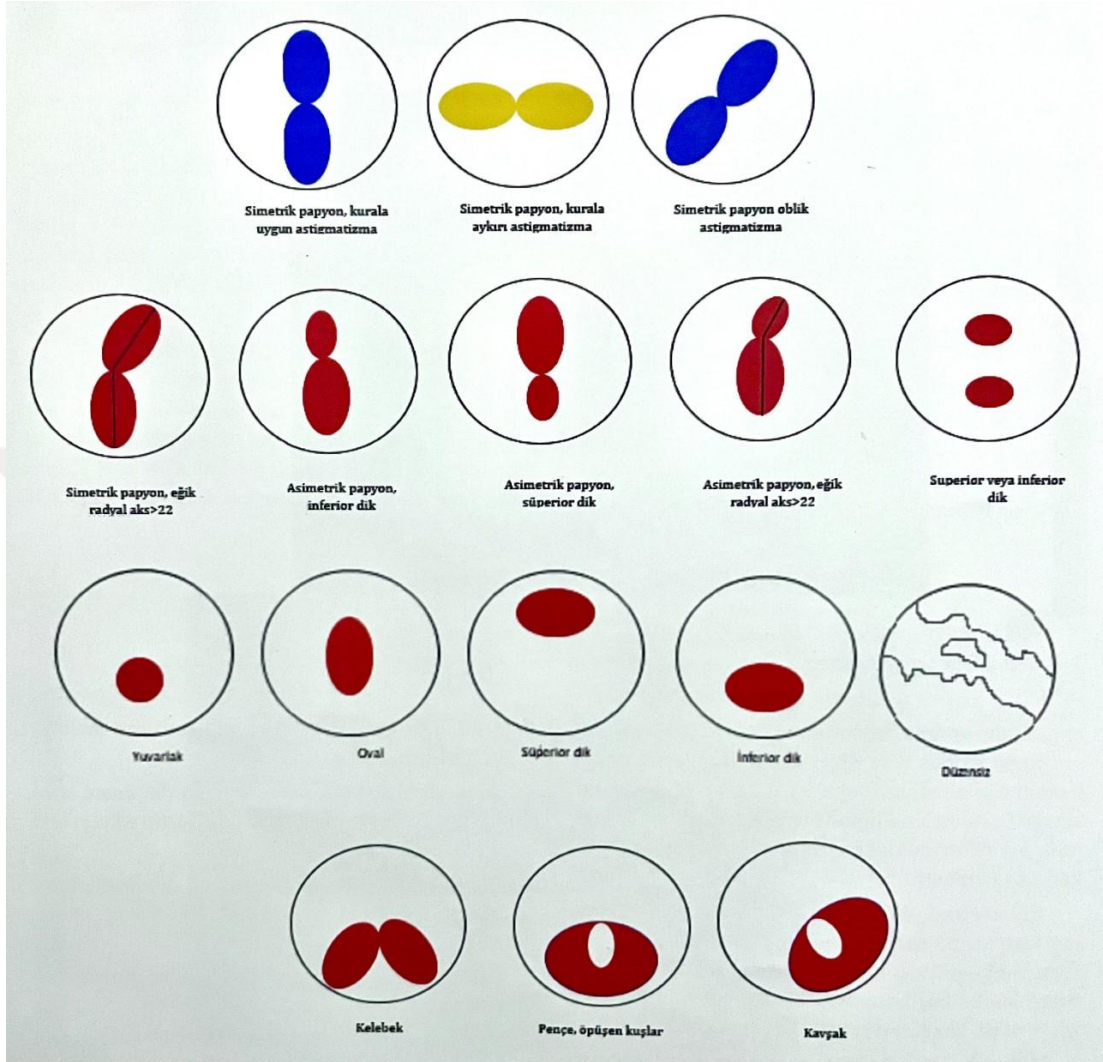
Topografik Paternler

Güç Haritalarında Görülen Paternler

Bu paternlerden bazıları normal kabul edilebilirken bazıları ektazi lehine yorumlanır (Şekil 8).

1. Yuvarlak: Korneanın en dik kısmı genellikle desantralize ve yuvarlaktır.
2. Oval: Korneanın en dik kısmı santraldedir ve ovaldır.
3. Superior Dik (SS): En dik kısım kornea apeksinin üst kısmında lokalizedir.
4. Inferior Dik (IS): En dik kısım kornea apeksinin alt kısmına lokalizedir.
5. Düzensiz: Dik alanlar özel bir şekil göstermez
6. Simetrik Papyon (SB): Bazı durumlarda keratokonus hastalarında da görülebilir.
7. Simetrik Papyon/Eğik En Dik Radyal Eksen İndeksi (SB/SRAX): Loblar simetriktir fakat aralarında açılanma vardır, bu açı 21° 'nin üzerinde ise keratokonus açısından risklidir.
8. Asimetrik Papyon/Inferior Dik (AB/IS): Asimetrik loblardan inferiordaki daha diktir. Santral 4 mm hayali halka üzerinde karşılıklı iki noktadan inferiordaki değer superiordan 1.5 D'den fazla ise keratokonus açısından risklidir.
9. Asimetrik Papyon/Superior Dik (AB/SS): Asimetrik loblardan superiordaki daha diktir. Santral 4 mm hayali halka üzerindeki karşılıklı iki noktadan superiordaki değer inferiordan 2.5 D'den fazla ise keratokonus açısından risklidir.
10. Asimetrik Papyon/Eğik En Dik Radyal Eksen İndeksi (AB/SRAX): Asimetrik lobları mevcuttur ve aralarında açılanma vardır. Açı 21° 'in üzerinde ise keratokonus açısından risklidir.
11. Kavşak Paterni: İki lobun ardarda bağlandığı dairesel bir şekildir. Şüpheli bir paternidir.
12. Kelebek Paterni: Horizontal papyonun lobları aşağı doğru kelebek kanatları benzeri şekilde açılanmıştır. Ektazi için yüksek risklidir.
13. Peçe Paterni: Öpüşen kuşlar olarak da adlandırılan bu patern kelebek paterninin lobları aşağıda birleşmiş şeklidir. Pellüsid Marjinal Dejenerasyon veya pellüsid benzeri keratokonusta görülür.

14. Vertikal D paterni: Koninin vertikal olarak dik şekilde parasantralde bulunmasıdır. Ektazi için yüksek risklidir.



Şekil 2.8. Güç haritalarında görülen topografik paternlerin şematize edilmiş görüntüleri

Elevasyon Haritalarında Görülen Paternler

Kurula uygun astigmatizmaya sahip normal bir korneanın paterni simetrik kum saati şeklindedir. Normal olmayan paternler ise eğik veya düzensiz kum saati, dil şeklinde uzantı veya izole adadır.

Keratokonusta korneanın en yüksek noktası koninin tepe bölgesi olup elevasyon haritasında santral ada ile karakterizedir. Best Fitted Sphere (BFS)

modunda koni merkezi 3 mm içindeyse santral, 3-5 mm arasında parasantral, 5 mm'nin dışında ise periferik olarak adlandırılır.

Pakimetri Haritalarına Göre Paternler

Normal kornea şekli kalınlık haritasında simetrik ve konsantriktir. Keratokonusta kalınlık haritası konik veya kubbe benzeri (dome-like) şekildedir. Çan şekli de görülebilmekle birlikte daha sıklıkla Pellüsid Marjinal Dejenerasyon (PMD)'da rastlanmaktadır.

Pakimetri haritalarında kubbe benzeri şekil varlığı, en ince kornea kalınlığı (EİKK)'nın 470 μm 'nin altında olması, apeks kalınlığı ile EİKK farkının 10 μm üzerinde olması, iki göz arasında EİKK 30 μm 'den fazla farklı olması, santral 5 mm'de S-I farkının 30 μm 'den fazla olması keratokonus tanısı için kuvvetli belirteçlerdir.

Topografik Kriterlerin Özeti

Aşağıdaki kriterlerden birden fazlası ile birlikte yukarıda sayılan topografik paternlerden herhangi biri mevcut ise keratokonus tanısı konulabilir.

Güç Haritalarında

1. Dik $K > 48 \text{ D}$
2. $\text{SRAX} > 21$ derece
3. Santral 5 mm S-I farkı $> 1.5 \text{ D}$
4. Korneal Astigmatizma $> 6 \text{ D}$
5. Kurala aykırı astigmatizma varlığı

Elevasyon Haritalarında

1. İzole ada veya dil benzeri uzanım
2. Ön elevasyon haritasında santral 5mm'de elevasyon değerinin $> 12 \mu\text{m}$ olması
3. Arka elevasyon haritasında santral 5mm'de elevasyon değerinin $> 15 \mu\text{m}$ olması

Pakimetri Haritalarında

1. Kubbe benzeri şekil
2. Santral 5 mm'de S-I farkı $> 30 \mu\text{m}$
3. EİKK $< 470 \mu\text{m}$
4. Apeks Kalınlığı-EİKK farkı $> 10 \mu\text{m}$
5. İki göz arası EİKK farkı $> 30 \mu\text{m}$

Pentacam, Sirius ve Galilei cihazlarında bunlara ilave olarak keratokonus tanısını kolaylaştırmak için yazılımsal bazı kendilerine özgü yüzey indeksleri de bulunmaktadır.

Sınıflandırma Sistemleri

Amsler Krumeich Sınıflandırma Sistemi

En eski ve yıllardır en yaygın kullanılan sistem olmakla beraber korneanın sadece ön yüzünü değerlendirdiği ve elevasyon değerleri hakkında bilgi içermemesi nedeniyle son yıllarda popülerliğini yitirmiştir.

Evre 1- Korneada eksantrik dikleşme

İndüklenmiş miyopi ve/veya astigmatizma $> 5 \text{ D}$

Ortalama K değeri $\leq 48 \text{ D}$

Vogt's stria, tipik topografi

Evre 2- İndüklenmiş miyopi ve/veya astigmatizma $> 5 \text{ D}, \leq 8 \text{ D}$

Ortalama K değeri $\leq 53 \text{ D}$

EİKK $\geq 400 \mu\text{m}$

Evre 3- İndüklenmiş miyopi ve/veya astigmatizma > 8 D

Ortalama K değeri > 53 D

EİKK 200-400 μm

Evre 4- Refraksiyon ölçülemiyor

Ortalama K değeri > 55 D

Santral korneal skar varlığı

EİKK ≤ 200 μm

Alio-Shabayek Sınıflandırma Sistemi

Amsler Krumeich sınıflandırmasına yüksek sıralı koma aberasyonun da eklenmesiyle modifiye edilerek oluşturulmuştur.

Evre 1- Ortalama K değeri ≤ 48 D

Koma Aberasyon: 1.5-2.5 μm

Korneal skar yok

Evre 2- Ortalama K değeri $48 \text{ D} < K \leq 53 \text{ D}$

Koma Aberasyon: $>2.5 \mu\text{m}, \leq 3.5 \mu\text{m}$

Korneal skar yok

EİKK > 400 μm

Evre 3- Ortalama K değeri $53 \text{ D} < K \leq 55 \text{ D}$

Koma Aberasyon: $>3.5 \mu\text{m}, \leq 4.5 \mu\text{m}$

Korneal skar yok

EİKK 300-400 μm

Evre 4- Ortalama K değeri > 55 D

Koma Aberasyon: $> 4.5 \mu\text{m}$

Santralde korneal skar var

EİKK ≤ 200 μm

Belin ABCD Sınıflandırma Sistemi

Korneanın ön yüzü ile birlikte arka yüz güç değerlerini de inceleyen daha güncel bir sistemdir. Apikal ölçümler yerine en ince bölgenin arka ve ön eğrilik

ölçümlerini içerdiği için anatomik değişiklikleri daha iyi yansıtır. Arka yüz ve kalınlık bilgilerini de içerdiği için progresyonun belirlenmesinde de önemlidir. Evrelemeyi dört parametre üzerinden yapar.

A (Anterior Radius of Curvature): Santral 3mm alanda en ince noktanın ön kurvatür eğriliği

B (Posterior Radius of Curvature): Santral 3mm alanda en ince noktanın arka kurvatür eğriliği

C (Corneal Thickness): En ince kornea kalınlığı

D (Distance Best Corrected Visual Acuity): En iyi düzeltilmiş görme keskinliği

Bunlara ilave olarak skar mevcudiyeti ve yoğunluğu da değerlendirilir. Sınıflandırmanın detayları Tablo 2.1’de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Belin ABCD Sınıflandırması.

ABCD evreleme	A	B	C	D	SKAR*
Evre 0	> 7.25 mm (<46.5 D)	> 5.90 mm (< 57.25 D)	> 490 µm	≥ 20/20	-
Evre 1	> 7.05 mm (<48 D)	> 5.70 mm (< 59.25 D)	> 450 µm	< 20/20	-, +, ++
Evre 2	> 6.35 mm (<53 D)	> 5.15 mm (< 65.5 D)	> 400 µm	< 20/40	-, +, ++
Evre 3	> 6.15 mm (<55 D)	> 4.95 mm (< 68.5 D)	> 300 µm	< 20/100	-, +, ++
Evre 4	< 6.15 mm (>55 D)	< 4.95 mm (> 68.5 D)	≤ 300 µm	< 20/400	-, +, ++

(*: skar yok ise -, var ancak iris detayları seçilebiliyor ise +, iris detayları seçilemiyor ise ++)

Subklinik ve Forme Fruste Keratokonus

Forme fruste keratokonus bir gözünde keratokonus tanısı bulunan hastanın diğer gözünde muayene bulguları normal iken topografide keratokonus şüpheli bulunması durumudur.

Subklinik keratokonus ise bir veya iki gözde kornea topografisinde keratokonus tanısı konulamayacak düzeyde keratokonus ilişkili bulguların mevcudiyetidir.

Bu tanımlamalar üzerinde literatürde fikir birliği yoktur (48).

2.2.3.4. Ayırıcı Tanı

Pellüsüd Marjinal Dejenerasyon

PMD kornea periferinin genellikle alt kadranlarında kresentik görünümde incilmesiyle karakterize nadir idiyopatik bir hastalıktır. Kesin etiyojisi belirsizdir (49). Keratokonus ve keratoglobuslu gözlerle birlikteliği de bazı çalışmalarda bildirilmiştir (50-52).

İnsidansı ve prevalansı üzerine günümüzde biyoistatistik çalışmaları olmasa da genel kanı PMD'nin keratokonustan daha nadir bir durum olduğu fakat keratoglobustan veya posterior keratokonustan daha sık görüldüğü yönündedir (53). Klasik olarak 20-50 yaş aralığında tanı alan yavaş ilerleyen bir hastalıktır (54). Mevcut literatürde bütün etnik grupları etkilediği ve coğrafik predispozisyon göstermediği iddia edilmektedir (49). Bilateral bir durum olduğu kabul edilmesine karşın tek taraflı vakalar da bildirilmiştir. Hastalık en çok inferior korneayı tutsa da superior, nazal ve temporal kadranları da içerebildiği gösterilmiştir. Tipik olarak saat 4-8 kadranları arasında uzanan 1-2 mm'lik dar, bant şeklinde bir korneal incelme ile karakterizedir. Limbus ve incelme alanı arasında 1-2 mm'lik bir bölge etkilenmemiştir. Protrüzyon çoğunlukla incelme alanının hemen üzerindedir. Santral korneal kalınlık genellikle normaldir.

Hastalar sıklıkla yüksek dereceli kurala aykırı astigmatizmanın sonucu olarak son zamanlarda ilerleyici görme kaybı ya da uzun süredir devam eden düşük görme keskinliği şikayetleri ile gelirler. Akut hidrops gelişmesine bağlı olarak ani görme kaybı, fotofobi, ağrı gibi şikayetler de söz konusu olabilir. Fleischer halkası, munson ya da rizutti belirtileri izlenmez. İ inferior limbusta korneaya basınç uygulanınca kaybolan descemet katlantıları gelişebilir. Slit lamba muayenesi ile incelme alanı görülebilir.

Topografik incelemelerde midperifere uzanan inferior periferik inferior oblik korneal meridyenlerdeki dikleşmeye bağlı olarak pençe paterni, kelebek paterni, öpüşen kuşlar paterni olarak adlandırılan görünümeler gösterilebilir. Fakat bu bulgular diagnostik olmayıp keratokonusta da görülebilir. Bu yüzden güvenilir tanı için

topografi ile birlikte slit lamba bulgularının ve pakimetri haritalarının da değerlendirilmesi gerektiği önerilmektedir (49).

Keratoglobus

Keratoglobus korneal incelme, protrüzyon ve skarlaşmayla karakterize noninflamatuvar korneal ektaziler grubunun daha nadir bir alt kümesini oluşturur. Asıl sebebi büyük oranda bilinmemektedir ve keratokonus gibi diğer ektazilerle benzerliklerine dayanarak çeşitli teoriler ortaya sürülmüştür. Bu benzerlikler bu gruptaki hastalıkların ayrı klinik bozukluklar mı yoksa benzer hastalık sürecinin bir spektrumu mu olduğu yönünde kafa karışıklığı yaratmaktadır.

Önceleri doğumdan itibaren var olan konjenital bir bozukluk olarak değerlendirilmekteydi. Fakat son yıllarda keratoglobusun kazanılmış formları olduğuna dair yayınlar da bildirilmiştir. Konjenital formu daima bilateralidir.

Hastalığın genetiği detaylı çalışılmamıştır ve kesin bir kalıtım paterni tanımlanmamıştır. Ehlers-Danlos sendromu, marfan sendromu gibi bağ doku hastalıklarıyla ilişkisi vardır. Kazanılmış formlarının ise vernal konjonktivit, kronik marjinal blefarit, idiyopatik orbital inflamasyon ve distiroid göz hastalığı ile ilişkisi tanımlanmıştır (55). Keratokonus ve PMD ile birlikteliği de gösterilmiştir(52, 56).

Keratoglobus korneanın limbustan limbusa diffüz incelme ile ilişkili olarak küresel protrüzyonu ile karakterizedir. İncelme yaygın olarak periferde maksimaldir ve normal korneal kalınlığının beşte birine kadar ulaşabilir. Kornea çapı normaldir bu da buftalmus gibi durumlardan ayırmak için önemli bir kriterdir. Hastalar genellikle hidrops ve skar ya da perforasyon olmadığı müddetçe şeffaf kornea ile başvururlar. Vogt striaları ve fleischer halkası gibi bulgular görülmez. İncelme ve dikleşmeye bağlı olarak yüksek miyopi ve irregüler astigmatizma gelişmesinin sonucu olarak hastalarda görme zayıftır ve refraktif düzeltme ile tedavi edilemez. Görme azlığı dışında hastalar genellikle asemptomatiktir. Karakteristik klinik bulguları nedeniyle keratoglobus tanısı aslında kliniklidir. Daha hafif seyirli vakalarda diğer ektatik durumlardan ayırma konusunda karışıklıklar olabilir. Topografide diffüz

incelme, ön ve arka korneal kurvatürde jeneralize dikleşme ve irregüler astigmatizma görülebilir.

Keratokonustan ve PMD'den başvuru yaşı ve klinik bulgular ile ayrılabilir. Keratoglobus genellikle doğuştan mevcut olup minimal progresyon gösteren ya da progresyon göstermeyen bir durumken keratokonus genellikle puberte ve sonrasında tanı alarak 40'lı yaşlara kadar progrese olan bir hastalıktır. Keratokonusta incelme genellikle alt parasantralde ve apekte maksimal derecededir ve protrüzyon koni şeklindedir (55).

İyatrojenik Keratokonus

İyatrojenik korneal ektazi olarak da tanımlanan bu durum refraktif cerrahinin insidansı %0.2-0.66 arasında olan nadir bir komplikasyonudur (57, 58). Ablasyon ve flep yaratılması sonucu oluşan korneal incelmenin korneada biyomekanik dejenerasyon nedeniyle zayıflığa yol açması sonucu oluştuğu düşünülmektedir (59). Sonuçta çok ince bir stromal yatak ve miyopik şift ile beraber progresif dikleşme, irregüler astigmatizma ve azalmış görme keskinliği ortaya çıkar (57).

İyatrojenik ektazi için ana risk faktörü AB/IS veya AB/SRAX gibi preoperatif irregüler topografi paternleridir. 250 µm'den ince stromal yatak bırakılması, yüksek miyopi, erken yaşta operasyon ve derin ablasyon da ilave risk faktörleridir (60). Cerrahi öncesi tanı konulmamış subklinik keratokonus, PMD gibi durumlar da iyatrojenik keratektazi nedenidir. Preoperatif dikkatli bir topografik inceleme ve perioperatif pakimetrik ölçümlerle rezidüel kornea kalınlığının iyi kontrolüyle önlenabilir (61).

Posterior Keratokonus

Korneanın arka yüzeyinde artmış kurvatür ile karakterize tipik olarak progresif olmayan ve non inflamatuvar nadir bir ektazik bozukluktur (62). Bütün arka korneanın etkilendiği haliyle keratokonus posticus generalis; anormallik lokalize bir alanda

olduğunda keratokonus posticus circumscriptus olarak iki alt tipte tanımlanmıştır (63). Lokalize formu topografi bulgularına göre santral/parasantral tutulum ve periferal tutulum olarak sınıflandırılmıştır (64). Hastalık çok nadir görüldüğü için prevalansı bilinmemektedir ve vaka raporları ve küçük vaka serileri dışında literatürdeki bilgi sınırlıdır. Sıklıkla konjenital, tek taraflı ve sporadiktir fakat kazanılmış, bilateral ve ailesel vakalar da bildirilmiştir(62).

Lokalize posterior keratokonusta en dikkate değer biyomikroskopik bulgu vakaların neredeyse hepsinde mevcut olan korneal stromal opasitedir. Korneal incelme ve posterior depresyon da muayenede görülebilir ve arka kornea yüzeyinde pigment depozitleri izlenebilir. Bulgular retroillüminasyon ile daha iyi görülebilir. Jeneralize formu tanımak ise daha zordur. Pakimetri korneal incelmenin derecesini belirlemede kullanışlıdır. Her iki tipte de anterior kornea normaldir aşık dikleşme veya irregülerite görülmez. Ultrason biyomikroskopi ve ön segment OKT gibi görüntülemelerle arka yüzeydeki çukurlaşma, stromal incelme ve stromal opasifikasyona bağlı artmış reflektivite görülerek klinik tanı teyit edilebilir(62).

Psödokeratokonus

Keratokonik olmayan gözlerde korneal topografi ve tomografilerde fokal dikleşme, artmış ya da düzensiz astigmatizma, anormal olarak artmış ön ya da arka elevasyon gibi parametreler ektatik patern gösterebilir. Yalancı keratokonus tanısına yol açan bu psödokeratokonus tablosuna ölçüm esnasında zayıf fiksasyon, gözyaşı filmi instabilitesine yol açan oküler rozasea gibi durumlar, korneal şeffaflığın kaybı ve santralize durmayan sert kontakt lens kullananlarda görülen warpage sendromu yol açabilir (65).

Keratokonusun diğer klinik bulguları ve korneal incelme görülmez (66). Psödokeratokonusu keratokonus ve subklinik keratokonustan ayırt etmek için korneal epitel görüntüleyen ön segment OKT kullanılabilir. Keratokonusta ön segment OKT’de görülen koni üzerindeki epitelyal incelme alanını çevreleyen donut şekli olarak adlandırılmış kalınlaşmış epitel halkası bu hastalarda görülmez (67).

2.2.4. Histopatogenez

Korneal stromada incelme, bowman tabakasında kırılma ve bazal epitel tabakalarında demir birikimi triadı keratokonusta bulunan klasik histopatolojik özelliklerdir (13). Hastalığın evresine göre korneanın her tabakası ve dokusu patolojik sürece dahil olabilir.

2.2.4.1. Bowman Membranı ve Epitel

Keratokonusta epitelyal incelme bildirilmiş ve hastalığın ciddiyetini belirleyen sınıflamalarda bir kriter olarak değerlendirilmektedir (68). Bazı yayınlarda hastalığın progresyonu ile kornea epitel kalınlığının azaldığı öne sürülürken bazılarında ise epitelyal kalınlaşma bildirilmiştir (69). Ek olarak bazı alanlarda incelme mevcutken bazı alanlarda kalınlaşma olması suretiyle keratokonusa spesifik bir patern oluştuğunu düşünenler de vardır (70).

Bowman membranı da keratokonusta değişikliğe uğrar. İlk olarak derin tabakalardaki kollajenöz proliferasyonla ilişkili olarak sıklıkla kırılmalar bildirilmiştir. İkinci olarak normalde aselüler olan bowman tabakasının epitelyumun hücresel elemanları ile infiltre olduğu gösterilmiştir (71).

Mevcut literatürde epitelin önemli ölçüde etkilendiği kabul edilmektedir fakat morfolojik değişiklikler hastalığın evresi, göz ovuşturma alışkanlıkları ve kontakt lens kullanımı gibi tabloyu komplike hale getiren durumlara bağlı değişebilir (72).

Keratokonus Epitelinde Koni ve Perifer Arası Farklılıklar

Çok sayıda çalışmada stromal değişikliklerin ön planda olması nedeniyle keratokonusta korneal disfonksiyonun primer olarak anormal stromal metabolizmaya bağlı olduğu düşünülmesine karşın son yıllarda yapılan araştırmalarda epitel tabakasındaki anormalliklerin proteolitik enzimlerin salınmasıyla stromal kollajen ve matriks komponentlerin degradasyonuna neden olduğu da gösterilmiştir. İn vivo

çalışmalarda epitel tabakasının da hastalığın şiddetiyle orantılı olarak etkilendiği tespit edilmiştir. Keratokonusta kornea epitelinde Wnt/beta-catenin yolağında defektler; alfa enolaz seviyelerinde azalma; MMP-9, IL-6 ve LOX gibi proteolitik enzimlerde hastalığın şiddeti ile ilişkili değişiklikler; hedgehog ve notch yolaklarında bozukluklar gösteren proteomik çalışmalar yayınlanmıştır (4, 14-16). Fakat keratokonusta patolojik değişikliklerin topografik deformasyonun görüldüğü lokalize koni bölgesinde kısıtlı durumda mı olduğu yoksa topografik olarak normal görünümde olan periferi de kapsayacak şekilde yaygın bir patolojik değişiklik durumunun mu söz konusu olduğu hala bilinmemektedir (110). Bu doğrultuda koni bölgesini ve periferik korneal epiteli kıyaslayan çalışma sayısı literatürde hala oldukça kısıtlı durumdadır. Yapılan kısıtlı sayıda çalışma ise iki bölgenin de hastalığa katkıda bulunan farklı değişikliklerden etkilendiğini ne sürmektedir (4, 5, 17, 18).

2.2.4.2. Korneal Sinirler

Korneal sinirlerde belirginleşme keratokonusun iyi bilinen bir klinik özelliğidir. Bu korneal inceleme ve artmış görünürlüğün sonucu olarak kabul edilir (73). Ek olarak ektazik alanda subbazal sinir pleksus yoğunluğunda azalma ile birlikte artmış tortuozite ve helezonlaşma gibi morfolojik değişiklikler de bildirilmiştir (74).

2.2.4.3. Stroma

Korneal kalınlığın %80'ini oluşturan stroma keratokonusta son derece değişmiştir. Öncelikle kollajenöz lamellalar ve keratositler sayıca azalır. Muhtemelen protrüzyonun bir sonucu olarak lamellaların morfolojisi daha geniş ve daha düz hale gelerek değişikliğe uğrar. Stromada non-keratositik hücreler görülür (75). Bunlar olasılıkla lkosittir ve katabolik enzimler salarak kollajenöz matriksin degradasyonunda rolleri olabilir (72).

2.2.4.4.Descemet Membranı ve Endotel

Keratokonusta tipik olarak descemet membranı etkilenmez. Fakat endotelyal pleomorfizm ve polimegatizm ile birlikte descemet katlantıları yaklaşık %8 hastada tanımlanmıştır (76). Akut hidrops gelişen hastalarda descemet membranında kırılmalar gözlenir (77).

2.2.5. Etiyopatogenez

2.2.5.1. Çevresel Faktörler

Yaş

Keratokonusun ortaya çıkışı genç yaşlarda özellikle 20'li yaşlarda olmaktadır. 4 yaş kadar erken tanı konulan pediatrik vakalar da bildirilmiştir. Daha genç yaş genellikle daha agresif, hızlı ilerleyen ve cerrahiye gitme riski yüksek hastalık tablosu ile ilişkilidir. Hastalık başlangıcı genellikle asemptomatik olduğu için literatürde bildirilen tanı alma yaşının hastalığın ortaya çıktığı yaştan daha yüksek olduğu düşüncesi mantıklıdır. Genç nesillerdeki yüksek prevalans daha iyi diagnostik teknikler ve yüksek atopi insidansı ile ilişkili de olabilir (72).

Cinsiyet

Yapılan çalışmalarda cinsiyet ilişkili sonuçlar değişiklik göstermektedir. Erkeklerde daha fazla olduğunu gösteren çalışmalar olduğu gibi kadın cinsiyette fazla görüldüğünü bildiren çalışmalar da mevcuttur (72).

Göz ovalama

Bu davranış uzun süredir keratokonusun gelişimi ve progresyonunda bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Keratokonusun hastalarının yaklaşık %50'sinde göz

ovma davranışı bulunduğu öngörülmüştür. Fakat göz ovma davranışının keratokonus için primer sebep olan faktörlerden mi olduğu yoksa atopi ve kaşıntının sekonder sonucu mu olduğuna hükmetmek zordur (72).

Kontakt lens kullanımı

Kontakt lensler keratokonus hastaları tarafından görme keskinliğini arttırmak amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Lensin kornea yüzeyinde hareketine bağlı oluşan sürtünmenin keratokonus gelişimine katkıda bulunabileceği öne sürülmüştür fakat direkt kanıt gösterilememiştir. İndirekt deliller kronik lens kullanımının proinflamatuvar sitokinleri indükleyerek keratosit apoptozisine katkıda bulunabileceğini öne sürmektedir (72).

Atopi

Atopi; ekzama, astım ve allerji gibi farklı hastalıkları kapsayan bir klinik terimdir. Keratokonuslu atopik hastalar genellikle genç hastalardır. Bu da atopinin hastalığın gidişatını hızlandığı düşünmektedir. Ek olarak atopi ile göz kaşıma/ovalama davranışı arasında güçlü bir ilişki mevcuttur ki bu da hastalığın gelişim ve progresyonunda anahtar faktörlerdendir. Keratokonuslu hastaların yaklaşık üçte biri alerjiktir (72).

Ultraviyole (UV) maruziyeti

Keratokonusun prevalansının ekvatora yakın ılıman iklimlerde daha yüksek olması keratokonus gelişim ve progresyonunda UV radyasyonun bir risk faktörü olabileceği hipotezini doğurmuştur. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda UV maruziyetinin keratosit apoptozisi ve stromal inceltme ile ilişkili olduğu gösterilmiş olsa da keratokonus bulgusu bildirilmemiştir. Dahası UV korneal kollajen çapraz bağlama tedavisi keratokonusu tedaviyen altın standart tedavidir bu da UV'nin etiolojide yer almasının pek mümkün olmadığını düşünmektedir. Ek olarak aynı bölgede yaşayan farklı etnik kökenden bireyler arasındaki keratokonus oranları

arasındaki farklılıklar da UV hipotezi ile açıklanamamaktadır. Bu yüzden UV ve keratokonus arasındaki sebep sonuç ilişkisini açıklamak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır (72).

Gebelik

Keratokonusun gebelik süresince progrese olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (72).

2.2.5.2. Heredite

Down sendromu, Leber'in konjenital amarozi, Ehlers-Danlos sendromu, Noonan sendromu gibi diğer genetik sendromlarla ilişkisi ve birinci derece akrabalarındaki artmış prevalansı, monozigot ikizlerde ortaya çıkması gibi sebeplerle keratokonusun genetik bir komponenti olduğu düşünülmektedir (2).

İkiz bireyler üzerinde yapılan çalışmalar keratokonus patogenezinde genetiğin rolünü teyit etmektedir. 15 monozigotik ve 5 dizigotik ikiz üzerinde yapılan bir çalışmada bütün monozigot ikizlerde ve dizigotik ikizlerden 4'ünde keratokonus konkordansı bulunmuştur. Monozigotik ikizlerde hastalığın ciddiyeti de konkordans göstermektedir (78)

Keratokonus prevalansı genel popülasyon ile karşılaştırıldığında keratokonus hastalarının akrabalarında çok daha yüksektir. Çalışılan popülasyon, tanı kriterleri ve keratokonus şüphesinin dahil edilip edilmediğine bağlı olarak; yapılan çalışmalarda keratokonus hastalarının akrabalarında hastalık prevalansı %3.34 ve %25.3 arasında değişmektedir. Bu da genel olarak bildirilen 1/2 000 prevalansın yaklaşık 67-506 kat fazlasıdır. Çoğu vakada hastaların akrabaları tarandığında daha önceden tanı konulmamış bireylere keratokonus ya da keratokonus şüphesi tanısı konulmaktadır (79). Bir çalışmada 1143 hastadan 204'ünde (%18) aile öyküsü varlığı bildirilmiştir (80).

En sık otozomal dominant kalıtım paterni gözlenmektedir (79). Otozomal resesif kalıtım tanımlayan çalışmalar da mevcuttur (81). Kompleks mendelyen kalıtım göstermeyen bir hastalık olarak da tanımlanmıştır (82).

Çoğu popülasyonda keratokonus ile tekraren ilintilendirilen bilinen tek lokus 5q31.1-135.3'tür. 5q21.2 ve 5q15-5q21.1 lokusları da bazı popülasyonlarda tanımlanmıştır. Bunun dışında nadiren tanımlanmış lokuslar da mevcuttur (83-85). Bildirilen çok sayıda lokusa rağmen bu lokuslarda hastalığa neden olan mutasyonların belirlenmesi nadirdir. Kuzey ırlandalı bir ailede 15q22-q25 lokusunda miR184'de bir mutasyon tanımlanmıştır (86). Bu mutasyon farklı korneal anormallikler ve sporadik keratokonus ile de ilişkili görünmektedir (87, 88). Ekvador kökenli bir keratokonus ailesinde ise 13q32 lokusunda DOCK9, STK24 ve IPO5 genlerinde varyanslar görülmüştür (89).

Keratokonusta çalışılan aday genler çok fazladır ve bu genlerin çoğunda ikna edici mutasyonlar tanımlanamamıştır. Bu genler arasında en çok dikkati VSX1, SOD1, ZNF469 ve miR184 çekmektedir. VSX1 posterior polimorfoz distrofi ve keratokonusta tespit edilmiştir ve yetişkin korneada eksprese edilmektedir (90). SOD1 21.kromozomda lokalizedir ve trizomi 21 hastalarında keratokonus prevalansı yüksektir (91). ZNF469 aşırı korneal incelme ile karakterize brittle kornea sendromunda sıklıkla bildirilmiştir (92). MiR184 ise yukarda bahsedildiği üzere keratokonus ve katarakt vakaları ile karakterize bir kuzey ırlanda ailesinde tanımlanmıştır (86). Bu dört genin de keratokonusta rol oynayan genler olduğuna dair çalışmalar olması sonucunda sonraki çalışmalarda odaklanılan genler haline gelmişlerdir ve çeşitli mutasyonlar tanımlanmıştır.

2.2.5.3. Biyokimyasal Değişimler

Keratokonuslu kornealarda yapılan biyokimyasal incelemeler ve immünohistolojik çalışmalar; proteolitik enzimler ile parçalanma sonucu ortaya çıkan korneal stroma kaybının, proteaz ve diğer katabolik enzimlerin seviyesinde artış ya da proteinaz inhibitörlerinin seviyesinde azalma sebebiyle olabileceğini önermektedir.

Keratokonus hastalarının kornealarında matriks metalloproteinaz, catepsin B ve G gibi lizozomal yıkıcı enzimlerin arttığı gösterilmiştir. Her ikisi de normal ve patolojik epitel, stroma ve endotelde gösterilmiş olan; korneal α 1 proteinaz inhibitörünün ve diğer bir majör proteinaz inhibitörü olan α 2 makroglobülinin; keratokonus hastalarının epitelinde boyanma yoğunluğu önemli derecede azalmıştır (13).

2.2.5.4. İnflamasyon

Klasik düşünce keratokonusun non-inflamatuar bir hastalık olduğu yönüdeyken keratokonik gözlerde yapılan kültür ve gözyaşı çalışmaları bu görüşü değiştirmektedir. Klasik inflamasyon bulguları izlenmese de IL-1, IL-6, MMP-9, TGF- β , TNF- α gibi proinflamatuvar proteinlerin keratokonus kornealarında çok miktarda eksprese edilmesi ve artmış keratosit yıkımı inflamasyon ile ilişkili bir hastalık olduğunu düşündürmektedir (93).

2.2.5.5. Oksidatif Stres, Otofaji Ve Mitofaji

Oksidatif stres

Oksidatif stres vücutta keratokonus dahil birçok hastalığın patogenezinde suçlanmaktadır. Solar UV radyasyon korneal oksidatif stresin bir kaynağıdır ve korneayı serbest radikallerin ve reaktif oksijen radikallerinin zararına hassas hale getirir (94).

Sağlıklı bir kornea yapısında superoksit dismutaz, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi antioksidan enzimler mevcuttur (95). Keratokonus hastalarının antioksidan seviyelerinin gözyaşı, aköz hümör ve kanda azaldığı, oksidatif stres belirteçlerinin ise aköz hümördekine kıyasla arttığı gösterilmiştir. Kornea epitelinde de MDA (malondialdehyde for lipid peroxidation) ve NT (3-nitrotyrosine for peroxy-nitrite formation) birikimi gösterilmiştir (96). Superoksit,

hidrojen peroksit, hidroksil radikallerinde artışla beraber antioksidan savunma seviyelerinde azalma mevcut olduğu çeşitli çalışmalarda tespit edilmiştir. (97-99).

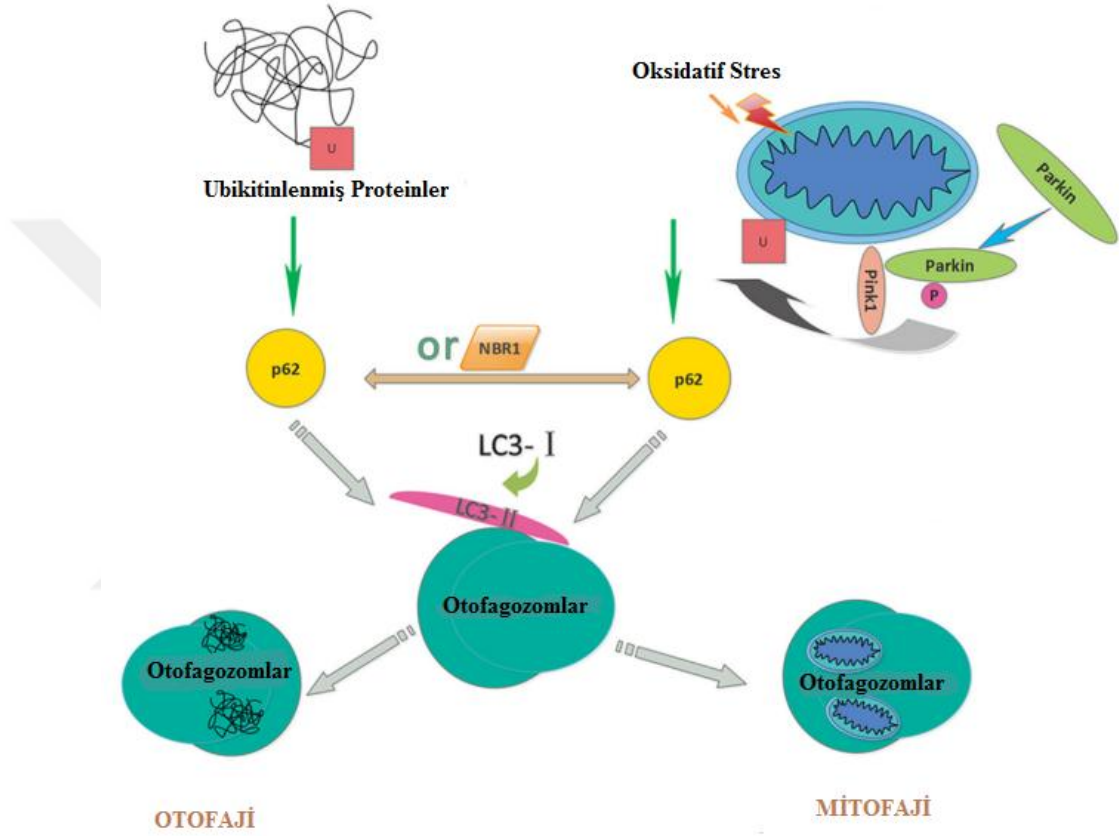
Hastalık reaktif oksijen ve nitrojen türevleri ile malondialdehit gibi oksidatif stres markerlarında total artış ve aldehit dehidrogenaz, NADPH dehidrogenaz, superoksit dismutaz, laktoferrin, transferrin, albumin, selenyum ve çinko gibi antioksidanların hepsinde azalma ile karakterizedir. Katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerde polimorfizmin de, keratokonus şiddetinin bağımsız prediktörü olarak rol alabileceği öne sürülmüştür (2). Bütün bunlar patogeneizde oksidatif stresin rolü olduğuna ışık tutmaktadır. Keratokonusta çevresel olarak indüklenmiş oksidatif stres reaktif oksijen radikallerinde artışa ve hücreseel düzeyde antioksidan seviyelerinde azalmaya yol açar bu da ekstrasellüler matriksin degradasyonuna ve bunu izleyen stromal incelmeye sebep olur (3).

Oksidatif stres gibi çevresel faktörler ile oluşan epitel hasarı apoptotik sitokinlerde artış nedenidir. Keratokonusta, korneal epitel hücrelerinde apoptozis epitelyal incelmeye ile ilişkili bulunmuştur (100).

Otofaji

Otofaji yanlış katlanmış proteinlerin ve hasar görmüş organellerin temizlenmesini veya degradasyonunu sağlayan; yaşlanma, kanser, enfeksiyonlar, nörodejenarasyona karşı koruma sağlayan evrimsel bir korunma mekanizmasıdır (101, 102). Oksidatif strese hücrenin yanıtlarından biri otofajinin indüklenmesidir (103). Bununla beraber otofaji yalnızca oksidatif stresten değil büyüme faktörleri, glukoz metabolizması, beslenme, açlık ve diğer stres faktörlerinden de etkilenmektedir (104). Normal hücre homeostazis şartlarında otofaji bazal seviyelerdedir ve oksidatif hasar ile indüklenir. Degrade olacak materyali içine alan ikili membran yapısının oluşumu ile otofagozom ortaya çıkar. Bu ardışık adımlar ubiquitin benzeri protein konjügasyon sistemleriyle ve LC3A, LC3B, LC3C'yi içeren LC3 ailesine mensup, otofaji ilişkili proteinler/genler (ATG) ile kontrol edilir. Otofaji aktivasyonunu belirleyen LC3/ATG8 proteini, the microtubule-associated protein 1 light chain 3 (MAP1LC3) olarak da bilinir. Fagofor ve otofagozom

membranında bulunan yapısal proteinler olan LC3 proteinleri, özellikle LC3B ve LC3A otofaji markeri olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Sitolizik formu olan deasetile LC3-I, fosfatidiletanolamin ile konjugasyon sonrası lipidenir ve iç ve dış fagofor membranındaki hali, LC3-II'ye dönüşür (105). Otofagozomun hidrolaz içeren lizozomlarla birleşmesiyle otolizozomların oluşumu “otofajik flux” olarak adlandırılır. Sonuçta degradasyon gerçekleşir (Şekil 2.9).



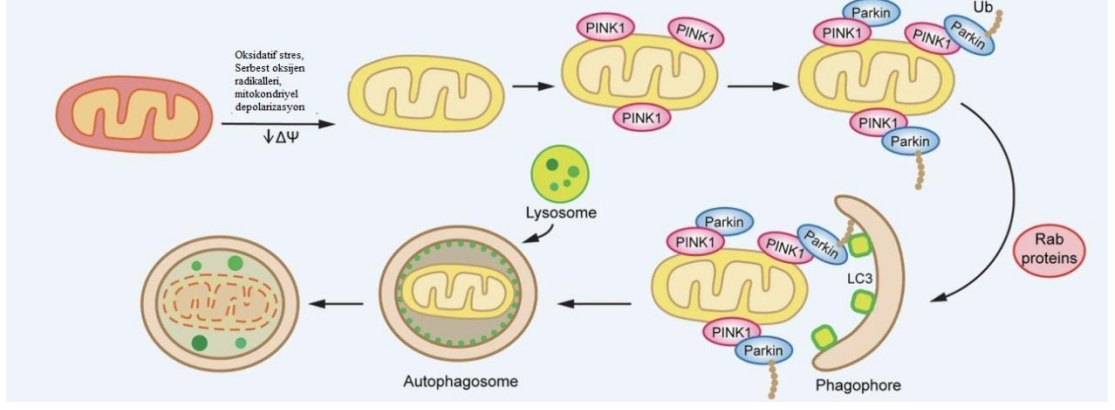
Şekil 2.9. Otofaji ve Mitofaji süreçlerinde LC3 regülasyonu (106).

Oksidatif strese bağlı olarak otofaji indüksiyonunda veya dinamiklerinde yetersizlik oluşması adaptif yanıtın bozulmasına ve otofaji aracılı hücre ölümüne yol açabilir (5). Oküler hastalıkların bir kısmında otofajik disregülasyon gösterilmiş olup literatürde keratokonus ile ilişkisine yönelik çalışmalar oldukça kısıtlıdır.

Mitofaji

Mitokondriye selektif otofaji süreci, mitofaji olarak adlandırılır. Mitokondri reaktif oksijen radikallerinin iyi bilinen bir kaynağıdır. Çoğu radikal mitokondriyal elektron transport sisteminden elektronların kaçıışı ile oluşur. Antioksidan mekanizmalar bu radikalleri su ve oksijene dönüştürerek ortaya çıkacak hasarı engeller. Reaktif oksijen radikallerinin üretiminde artış ve antioksidan mekanizmalar arasındaki dengesizlikle membranda lipid peroksidasyon, proteinlerde oksidatif değişiklikler ve mitokondriyal DNA’da oksidatif hasar meydana gelir (107). Reaktif oksijen radikallerinin üretiminde artış ve temizlenmesindeki defektlerin etkilerine bağlı olarak ortaya çıkan oksidatif stres ile indüklenen mitokondriyal depolarizasyon sonucu tetiklenen mitofaji yoluyla hasarlı mitokondriler selektif olarak degrade edilir. Keratokonus hastalarında Mitokondriyal DNA hasar ürünlerinin biriktiği daha önce gösterilmiştir (10). Bu da hastalık sürecinde mitofaji yolağında bir bozukluk olduğunu düşündürmektedir. Fakat literatürde keratokonus ve mitofaji ilişkisini inceleyen çalışma sayısı oldukça azdır.

Mitofaji sürecini ilgilendiren çok sayıda sinyal yolağı bulunmakla birlikte iki majör regülatör protein “phosphatase and tensin homolog-induced putative kinase protein 1-PINK1” ve PARKIN’dir. Sağlıklı mitokondrilerde PINK1 klivaj sonucu mitokondriden ayrı inaktif durumdadır. Mitokondri hasarlandığında oluşan depolarizasyon ile PINK1 mitokondriyal membranda birikmeye başlar bu da ubiquitin fosforilasyonu ile beraber PARKIN’in çalışmasına neden olur. Böylece bu proteinler LC3 ile indüklenen otofagozom oluşumu ve buna müteakip lizozomal füzyon sürecini içeren otofajik mekanizmanın çalışması için sinyal başlatır (6). Sonuç olarak lizozomal hidrolazlar ile degradasyon gerçekleşir ve bu yolla mitokondriyel sağlık devam ettirilmiş olur (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Mitofaji ve PINK1/PARKIN regülasyonunun şematize gösterimi (108).

Mitofaji oksidatif strese karşı hücrel direnci etkin şekilde geliştirirken hücrenin göreceği zararı da azaltır veya geciktirir (11). Korneal epitel hücrelerinde oksidatif strese bağlı mitofaji disregülasyonunun keratokonus ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir ve yapılan bir çalışmada PINK1 ekspresyonunun keratokonuslu hastaların epitelinde azaldığı gösterilmiştir (9).

Otofaji ve Mitofaji hasarlı organellerin eliminasyonunu sağlayarak apoptozisi engelleyen koruyucu mekanizmalar olarak düşünülebilir. Otofaji inhibisyonu hücre ölümünü dramatik olarak arttırmaktadır. Otofaji stimülasyonu ise tam tersi etkiye sahiptir. Bu da otofaji ve mitofajinin hasarlı mitokondrileri ortadan kaldıran ve oksidatif stresi azaldan sitoprotektif bir cevabı oluşturduğunu düşündürmektedir (12).

2.2.6. Tedavi

2.2.6.1. Refraktif Düzeltme

Hastalığın erken aşamalarında gözlükler hastalara kabul edilebilir düzeyde görme keskinliği sağlayabilir. Bu aşamalarda torik yumuşak lensler de miyopi ve astigmatizma düzeltilmesi için yeterli olabilir. Fakat hastalık ilerledikçe bu yöntemler refraktif hatayı düzeltmekte yetersiz kalır ve düzeltme için rijit gaz geçirgen lensler, Rose K, hibrit lensler ya da skleral lensler gibi özel lenslere ihtiyaç duyulur. Doğru tipte ve uygunlukta lens seçimi ciddi vakalarda kornea nakli ihtiyacını azaltmakta yardımcı olabilir.

Nakil, korneal kollajen çapraz bağlama, intrakorneal ring segment implantasyonu gibi tedaviler sonrası da hastalar daha iyi görme keskinliği sağlamak için kontakt lens kullanımına ihtiyaç duyabilir (109).

2.2.6.2. Korneal Kollajen apraz Bağlama(KB)

KB kornea dokusunu güçlendirmek için kullanılan bir tekniktir. Bu teknik riboflavin (vitamin B2)'den fotosensitizasyonu arttırması için yararlanır ve UV-A ışın ile korneal stromada keratokonik progresyona direnç oluşturan güçlü kovalent bağlantılar yaratarak dayanıklılığı arttırır. Bu yolla hastalığın ilerleyişini önemli ölçüde yavaşlatır veya durdurur.

Geleneksel olarak uygulanan Dresden Protokolünde kornea epiteli santralde 7 mm debride edildikten sonra %20 dekstran içinde %0.1'lik riboflavin 30 dakika boyunca uygulanır arkasından kornea 1 cm mesafeden 30 dakika boyunca toplam yüzey enerji maruziyeti 5.4 J/cm^2 olacak şekilde UV-A (370 nm, 3mW/cm^2)'ya maruz bırakılır. Yapılan randomize kontrollü çalışmalarda maksimum keratometride 0.22 ile 2 D arası düzelme ile %73.3-100 arasında etkinlik bildirilmiştir.

KB uygulaması sonrası persistan korneal haze, korneal skar, gecikmiş epitel iyileşmesi ve mikrobiyal keratit gibi komplikasyonlar gözlenebilir.

Yakın zamanlarda Dresden protokolünden ayrılan farklı teknikler tanımlanmıştır. Bu teknikler genel itibariyle uygulama zamanını kısaltmak, görsel sonuçları iyileştirmek ya da epitel debridmanından kaçınmak hedefleriyle hasta konforunu arttırmak, enfeksiyon, haze, persistan epitel defektleri gibi komplikasyonların azaltılması için modifiye edilmiştir (110).

Hızlandırılmış KB standart prosedürdeki tedavi süresini kısaltmak için tanımlanmıştır. Bütün fotokimyasal reaksiyon süreçlerinin radyan şiddeti ve maruziyet zamanı ile belirlenen total absorbe edilen enerjiye bağımlı olduğunu ifade eden Bunsen-Roscoe yasasını temel alarak hızlandırılmış KB'de daha yüksek UV-

A yoğunluğu ile daha kısa maruziyet uygulanır. 9mW/cm^2 UV-A 10 dakika boyunca uygulanarak sonuçta 5.4 J/cm^2 toplam yüzey enerji dozajına ulaşılır. Yapılan çalışmalarda standart protokoldeki kadar etkili ve güvenli olduğu gösterilmiştir (111).

Epitelyal debridman enfeksiyöz keratitler ve anormal yara iyileşmesi gibi postoperatif komplikasyonların majör kolaylaştırıcısıdır. Bu yüzden epitelyum-on (epi-on) ya da transepitelyal KÇB tabir edilen tekniklerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar süregelmektedir. Bu teknikte asıl zorluk riboflavin molekülünün lipofilik kornea ve epitelyal sıkı bağlantılardan kısıtlı difüzyonudur. Gerekli difüzyon korneal epitelyal geçirgenliğin modifiye edilmesi, riboflavin molekülünün fizikokimyasal özelliklerinin değiştirilmesi ya da riboflavin molekülünün epitelyal flep ya da cep oluşturularak direkt stromaya verilmesi gibi farklı tekniklerle sağlanabilir(88). Konvansiyonel KÇB'ye yakın sonuçlar olduğunu gösteren çalışmalar olduğu gibi, transepitelyal KÇB'nin daha az etkinliğe sahip olduğunu gösteren yayınlar da vardır. Fakat haze ve skar gibi komplikasyonların epitel-off KÇB'ye göre daha az görüldüğü bildirilmiştir (112, 113).

KÇB'nin hastalıkta progresyonu durdurmasına rağmen görme keskinliğinde istenildiği kadar artış sağlamaması nedeniyle epitel debridmanının mekanik değil ekzimer lazer ile yapıldığı kombine teknikler denenmiş, çeşitli protokoller tanımlanmıştır. Fototerapötik Keratektomi (PTK) ile kombine KÇB yapılan hastalarda aynı ve daha iyi görsel sonuçlar elde edildiği gösterilmiştir (114).

2.2.6.3. İntrakorneal Halka (Ring) Segment (IKHS)

IKHS başlangıçta miyopi tedavisi için geliştirilmiş olsa da sonrasında hafif-orta keratokonus tedavisinde kullanılmak üzere modifiye edilmiştir. Şeffaf ve minimum $450\ \mu\text{m}$ kalınlığındaki kornealarda irregüler stromayı yeniden şekillendirmek üzere bir ya da iki yarım halka şeklindeki polimetil metaakrilat materyalin oluşturulan tüneller içine implantasyonu ile uygulanır (2). Bu tüneller mekanik olarak oluşturulabileceği gibi günümüzde femtosaniye lazer yardımı ile de uygulanmaktadır. 18 yaş üzeri, kontakt lens intoleransı olan, düzeltilmemiş görme

keskinliği (DGK) 0.6'nın altında olan, tünel oluşturulacak alanda korneal kalınlığı 400 µm üzerinde olan, kornea santralinde skar olmayan hastalarda uygulanabilir (115).

Düzeltilmiş ve düzeltilmemiş görme keskinliğinde artış, yüksek sıralı korneal aberasyonlarda azalma, daha düzgün bir kornea şekli sağlayabilir. Kornea naklinden kaçınmak ya da ertelemek amacıyla ya da KB ile kombine olarak uygulanabilir. Korneal kurvatürde düzelme ve görme keskinliğinde artış sağlasa da hastalığın progresyonunu durdurmadığı görülmektedir(2).

İntraoperatif olarak görülen komplikasyonlar daha çok mekanik tünel oluşumu ile görülmekte olup keratotomi bölgesinde epitel defektleri, inkomplet tünel formasyonu, insizyonun santral görme aksına veya limbusa uzaması gibi tünelle ilgili ve asimetrik ya da yzeyssel yerleşim gibi halkalarla ilgili komplikasyonları kapsar (115). En ciddi intraoperatif komplikasyonlar ise çok derin diseksiyona bağlı n kamara ya da yzeyssel diseksiyona bağlı bowman tabakası perforasyonudur (116).

Postoperatif sık görülen komplikasyonlar ise halkanın tünelde migrasyonu, insizyon yerinde epitelyal tıkaç formasyonu, korneal haze, depozitler ya da vasklerizasyon, kronik ağrı, persistan inflamasyon, fotofobi gibi komplikasyonlardır (117). En ciddi postoperatif komplikasyonlar ise tünelde enfeksiyöz keratit ve muhtemelen yzeyssel ring yerleşimi ile ilişkili korneal meltingdir (118).

Bu yöntemin asıl avantajı geri dndrlebilirliğidir. Her ne kadar görme keskinliğinde artış sağlasa da ektazik hastalıkların doğası gereği refraktif sonuçları ve gidişatını öngörmek zordur. Görsel ve refraktif ölçümler segmentlerin çıkartılması sonrası bazal durumuna dnelebilmektedir (117).

2.2.6.4. Kornea Nakli

İleri keratokonuslu hastalar gözlük, kontakt lens ya da IKHS ile yeterli görme keskinliğine ulaşamayabilirler (109). Santral skar kontakt lensler tolere

edilebildiğinde bile iyi bir görmeyi imkansız kılabilir (13). Keratokonus hastalarının yaklaşık %12-20'si er geç kornea nakline ihtiyaç duyar (119).

Penetran keratoplasti (PK) uzun vadede iyi bir görme sağlayabilir. Görsel rehabilitasyon sıklıkla yavaş gerçekleşir ve cerrahi sonrası rezidüel astigmatizma ve anizometri nedenidir (109). Keratokonus nüks oranı bir çalışmada 25 yılda %12 olarak gözlenmiştir (120). Uzun dönem takipler rejeksiyon oranını ilk iki yılda %5.8-41 arası göstermektedir (121-123). Çoğu hasta cerrahi sonrası gözlük ya da kontakt lense ihtiyaç duyar fakat görsel stabiliteye cerrahi sonrası 1 yıla kadar ulaşamaz.

Genel olarak PK sonuçları iyi olsa da keratokonus hastalarında endotelial rejeksiyon riski olmayan, steroid ihtiyacını ve buna bağlı gelişebilecek komplikasyonları azaltan derin anterior lameller keratoplasti (DALK) uygulanabilir (109). Bir çalışmada cerrahi sonrası rejeksiyon oranı %3-14.3 arası bildirilmiştir (124). Muhtemelen steroid ihtiyacının daha az olması nedeniyle glokom gelişimi PK'ya kıyasla %40 daha az görülmektedir (125). Bu özellikle genç hastalarda ve rejeksiyon riskinin fazla görüldüğü atopik dermatit gibi hastalıkları olanlarda özel önem taşımaktadır.

Sonuç olarak kıyaslandığında DALK sonrası görsel rehabilitasyon PK'dan daha iyi olsa da iki teknik arasında refraktif ve topografik sonuçlar mukayese edilebilir düzeydedir. Greft reddi, sekonder glokom, katarakt ve kalıcı endotelial hücre kaybı gibi postoperatif komplikasyonlar ise PK'da daha yüksek görülmektedir.

Bunlar haricinde ileri keratokonusta conductive keratoplasti, gen tedavisi, bowman tabakası transplantasyonu gibi yeni tedavi seçenekleri de denenmektedir (109)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Tasarımı

Bu çalışma, T.C Sağlık Bakanlığı Ankara Bilkent Şehir Hastanesi Kornea Birimi'nde Nisan 2022 ve Ekim 2022 tarihleri arasında prospektif vaka-kontrol çalışması olarak yapıldı.

3.2. Etik Kurul

Çalışma Helsinki Bildirgesine göre planlanıp, tamamlandı. Çalışma için Ankara Şehir Hastanesi 1 Nolu Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 20/04/2022 tarih ve E.Kurul-E1-22-2443 sayılı kararı ile etik kurul onayı alındı. Tüm olgulara çalışma kapsamı ve amacı açıklanarak aydınlatılmış onam formu imzalatıldı.

3.3.Hasta Seçimi ve Kriterleri

Ankara Bilkent Şehir Hastanesi'nde İlerleyici Keratokonus tanısı ile KÇB endikasyonu konulan 52 hastanın 54 gözü ve kontrol grubu olarak gözlükten kurtulmak maksadıyla refraktif cerrahi yapılan randomize 12 sağlıklı gönüllünün 23 gözü dahil edildi.

Çalışmaya 18 yaş üzeri ve 50 yaş altı olan, KÇB ameliyatı endikasyonu konulmuş ilerleyici keratokonus hastaları ve Fotorefraktif Keratektomi (PRK) ameliyatı endikasyonu konulmuş kırma kusuru olan sağlıklı katılımcılar dahil edilirken sistemik ya da topikal herhangi bir ilaç kullanımı olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Keratokonus tanısı, topografide kornea kurvatüründe dikleşme, kornea kalınlığında incelme ve eşlik eden biyomikroskopik bulgulardan herhangi birinin varlığında (korneada öne doğru bombeleşme veya konikleşme, Fleischer halkası, Vogt çizgileri, korneal incelme, skarlaşma, korneal sinirlerde belirginleşme) konuldu.

PRK yapılacak hastalarda da kendi içlerinde dahil edilme kriterleri, en az bir yıldır göz kırma kusuru numarasında değişiklik olmaması, ameliyat öncesi görme düzeyi sferik değer düzeltmesi ile 0.6/0.7 ve üzeri görme keskinliğinin olması, keratokonusa ait biyomikroskopi bulgularının (stromal incelme, fleischer halkası, vogt çizgilenmesi ve ön stromal skar) olmaması şeklinde belirlendi.

3.4. Değerlendirilen Parametreler

Çalışmaya alınan tüm olgulara otorefraktometre, düzeltilmemiş görme keskinliği (DGK) ve en iyi düzeltilmiş görme keskinliği (EİDGK) muayenesi, biyomikroskopi ile ön segment ve fundus muayeneleri ile göz içi basıncı ölçümü yapıldı. Tüm olguların topografik ölçümleri Sirius topografi cihazı (CSO, Florence, İtalya) ile gerçekleştirildi. İstatiksel analiz için görme düzeyleri en küçük rezolüsyon açısının logaritmasına (logarithm of the minimum angle of resolution-logMAR) çevrildi.

Keratokonus hasta grubu Amsler-Krumeich sınıflama sistemindeki ortalama korneal keratometri (Kmean) değerleri baz alınarak;

Evre 1 (Hafif): $K_{mean} \leq 48 D$

Evre 2 (Orta): $K_{mean} > 48 D, \leq 53 D$

Evre 3 (İleri): $K_{mean} > 53 D$

olarak sınıflandırıldı.

Hastalar beraberinde Belin ABCD sınıflandırma sistemi ile de evrelendirildi. Ayrıca morfolojik olarak tanjansiyel kurvatür haritasına göre koni apeksi santral 3 mm içinde ise santral, 3-5 mm arasında ise parasantral, 5mm'nin dışında ise periferik olacak şekilde koni lokalizasyonuna göre sınıflandırıldı. Topografik parametrelerden; santral kornea kalınlığı (SKK), en ince kornea kalınlığı (EİKK), K1, K2, ortalama

keratometri (Kmean), maksimum keratometri (Kmaks.) ve topografik astigmatizma verileri incelendi. Hastaların anamnezlerinde aile öyküsü ve allerji öyküsü varlığı sorgulandı.

3.5. Örneklerin Toplanması

KÇB ameliyatında epitel alkol kullanılmadan mekanik skalpel yardımıyla topografik haritalara göre koni bölgesi ve perifer kornea epiteli olarak ayrı ayrı kazınarak alındı ve RNAlater içeren eppendorf tüplerine konuldu. PRK ameliyatında da alkol kullanılmaksızın mekanik skalpel yardımıyla debridman yapılarak elde edilen kornea epiteli bütün olarak RNAlater içeren eppendorf tüpleri içerisine alınarak örnekler izolasyon aşamasına kadar -80 derecede saklandı. Örnekler laboratuvara kuru buz içeren hava geçirmez ambalajlar içinde transfer edildi.

3.6. Western-Blot Analizi

Çalışmanın protein ekspresyon analizleri Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Translasyonel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. RNAlater uzaklaştırıldıktan sonra örnekler total protein izolasyonu için PBS ile yıkandı. Proteinler fosfataz ve proteaz inhibitörleri içeren Radio-immunoprecipitation assay (RIPA) buffer (Thermo Fisher Scientific, MA, ABD) kullanılarak ekstrakte edildi. Protein konsantrasyonları Bradford Protein Assay Kit (Biorad) kullanılarak belirlendi. Denatüre proteinlerin 20µg'ı MiniProtean TGX jel (%4-14) SDS PAGE (Biorad, Hercules, CA, ABD) üzerinde yürütüldü ve Immuno Blot PVDF membran (Bio-Rad, Hercules, Ca, ABD) üzerine transfer edildi. Bloklama solüsyonu (TBST içerisinde %5 yağsız süt tozu) ile 1 saat bloklamayı takiben membranlar PINK, PARKIN, LC3 ve vinculin antikoları ile gece boyu inkübe edildi. İnkübasyon sonrası membranlar horseradish peroxidase (Bio-Rad, Hercules, CA, ABD) ile konjuge edilmiş sekonder antikolar (1:1000; Anti-Rabbit IgG [7074] ve Anti-mouse IgG [7076], Sigma-Aldrich, MO, ABD) ile inkübe edildi. Bantı görüntülemek için Pierce™ ECL Western Blotting substrat kullanıldı ve

ChemiDoc™ MP görüntüleme sistemi ile görüntülendi. Görüntüler BioRad's ImageLab yazılımı (Hercules, California, ABD) kullanılarak işlendi.

3.7. İstatistiksel Analiz

Veriler IBM SPSS Statistics 22 ve Graphpad Prism programlarına aktarılarak analiz edildi. Çalışma verileri değerlendirilirken kategorik değişkenler için frekans dağılımları (%), sayısal değişkenler için tanımlayıcı istatistikler (medyan, ort ±ss) verildi.

Demografik, topografik ve refraktif özelliklerdeki sayısal değişkenler için Kolmogorov-Smirnov normallik testi uygulanarak normallik varsayımını sağlayan değişkenlere parametrik, normallik varsayımını sağlamayan değişkenlere ise nonparametrik testler uygulandı. Gruplar arası cinsiyet dağılımı ki-kare testi ile analiz edildi.

Bağımsız gruplar arası farklılıklar Bağımsız örneklem T testi ve Mann Whitney U testi ile incelendi. İki'den fazla bağımsız grup arası fark olup olmadığı Kruskal Wallis testi ve iki yönlü varyans analizleri (ANOVA) ile değerlendirildi. Post-hoc olarak Tukey testi kullanıldı. Protein ekspresyonları ile diğer sayısal değişkenler arasında nedensel olmayan ilişkilerin derecesini belirlemek için Pearson Korelasyon analizi yapıldı. P değeri 0.05'in altında olan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya Nisan 2022-Ekim 2022 tarihleri arasında T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara Şehir Hastanesi Kornea bölümünde ilerleyici keratokonus tanısı ile KÇB endikasyonu konulan 52 hastanın 54 gözü dahil edildi. Kontrol grubuna ise Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'na refraksiyon kusuru ile başvurarak PRK yapılan 12 hastanın 23 gözü dahil edildi.

Keratokonus grubunun yaş ortalaması 24.61 (± 5.48) kontrol grubunun yaş ortalaması 25.66 (± 4.90) idi. Keratokonus grubu 30 erkek 22 kadın hastadan kontrol grubu ise 6 erkek 6 kadın hastadan oluşmaktaydı. Yaş ve cinsiyet dağılımı açısından gruplar arasında anlamlı fark izlenmedi (sırasıyla $p=0.5$, $p=0.6$) (Tablo 4.1, Tablo 4.2).

Tablo 4.1. Keratokonus ve kontrol grubu yaş ortalamaları

	Yaş (ort. yıl \pm ss)	Min-Maks	p
Keratokonus	24.61 \pm 5.48	18-46	0.5
Kontrol	25.66 \pm 4.9	18-33	

Tablo 4.2. Keratokonus ve kontrol grubu cinsiyet dağılımları

	Erkek		Kadın		p
	n	%	n	%	
Keratokonus	30	57.7	22	42.3	0.6
Kontrol	6	50	6	50	

Keratokonus hasta grubunun %22.2'sinde aile hikayesi ve %42.6'sında allerji öyküsü mevcuttu.

Hastaların DGK ve EİDGK ortalamaları sırasıyla 0.91 ve 0.49 logMAR olarak tespit edildi.

Topografik parametreler incelendiğinde keratokonus grubunda K1, K2, Kmaks., Kmean ve topografik astigmatizma değerlerinin hepsi kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak daha yüksek izlendi. Pakimetric değerlere bakıldığında ise EİKK ve SKK kontrol grubunda anlamlı olarak daha yüksekti (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Keratokonus ve kontrol grubunun topografik verilerinin karşılaştırılması

	Keratokonus (ort ± ss)	Kontrol (ort ± ss)	p
K1 (D)	45.82 ± 5.56	42.47 ± 1.41	<0.001
K2 (D)	49.29 ± 4.17	43.76 ± 1.71	<0.001
Kmean (D)	47.95 ± 4.07	43.10 ± 1.52	<0.001
Kmaks (D)	57.20 ± 7.98	44.62 ± 1.83	<0.001
Topografik Astigmatizma (D)	-3.75 ± 2.02	-2.11 ± 3.74	<0.05
SKK (µm)	459.72 ± 38.63	565.17 ± 49.08	<0.001
EİKK (µm)	443.48 ± 41.16	562.69 ± 49.45	<0.001

Çalışmaya dahil edilen keratokonus hastalarının keratometrik sınıflandırmaya göre %57.4'ü hafif, %31.5'i orta, %11,1'i ise ileri evre keratokonus idi (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Hastaların Kmean değerlerine göre evreleri

Keratometrik evre	n	%
Evre 1 (hafif)	31	57.4
Evre 2 (orta)	17	31.5
Evre 3 (ileri)	6	11.1

Belin ABCD sınıflandırmasına göre hastaların evreleri Tablo 4.5'te verilmiştir.

Tablo 4.5: Hastaların Belin ABCD evrelerine göre dağılımı

Belin ABCD	A		B		C		D	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Evre 0	15	28.3	11	10.8	4	7.5	2	3.8
Evre 1	2	3.8	7	13.2	21	39.6	19	36.5
Evre 2	25	47.2	14	26.4	19	35.8	21	40.4
Evre 3	3	5.7	5	9.4	9	17	10	19.2
Evre 4	8	15.1	16	30.2	0	0	0	0

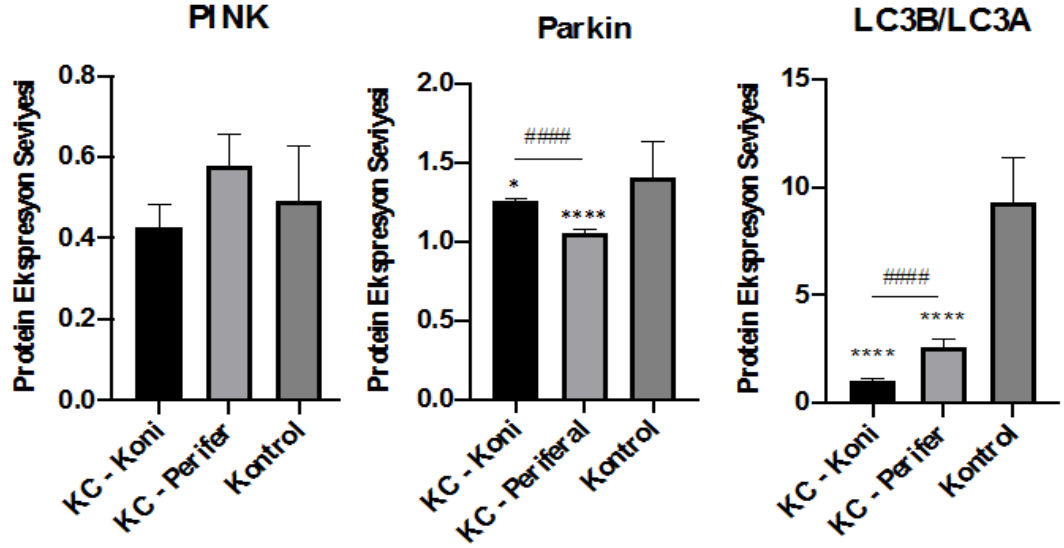
Hastalar Tanjansiyel kurvatür haritalarındaki koni apeksine göre sınıflandırıldığında %61.1'inin santral, %35.2'sinin parasantral %3.7'sinin periferik paterne sahip olduğu görüldü (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Koni lokalizasyonuna göre dağılım

Kon morfolojisi	n	%
Santral	33	61.1
Parasantral	19	35.2
Periferik	2	3.7

Western Blot ile protein ekspresyonu analizinde keratokonus hastalarında PINK1 ekspresyonunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). PARKIN proteininde hem koni epitelinde hem de periferik kornea epitelinde ekspresyon kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha azdı ($p<0.05$). LC3B/LC3A ekspresyonunun ise yine hem koni bölgesinde hem de perifer korneada kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak daha az olduğu görüldü ($p<0.05$).

Keratokonus hasta grubunun koni bölgesi epiteli ile periferik kornea epiteli birbiriyle kıyaslandığı zaman, PINK1 ekspresyonları arasında farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). PARKIN ekspresyonu ise istatistiksel olarak anlamlı şekilde koni bölgesinde daha fazlaydı ($p<0.05$). LC3B/LC3A ekspresyonunun ise periferde koni bölgesine göre anlamlı olarak daha fazla olduğu görüldü ($p<0.05$). Protein ekspresyon paternleri Şekil 4.1'de grafik olarak gösterilmiştir.



Şekil 4.1. PINK1 , PARKIN ve LC3B/LC3A protein ekspresyonlarının grafiği. #####: Koni ve Periferik epitel arasında $p < 0.001$ anlamlı ekspresyon farklılığını, *: ($p < 0.05$), ****: ($p < 0.001$) kontrol grubu ile karşılaştırmayı göstermektedir.

Koni ve periferik epiteldeki PINK1, PARKIN ve LC3 ekspresyonları ile hastaların yaş, DGK, EİDGK, K1, K2, Kmaks., Kmean ve topografik astigmatizma değerleri arasındaki korelasyonlar incelendi. Periferik kornea epitelinde PARKIN ekspresyonu ile Kmaks. değeri arasında anlamlı negatif korelasyon tespit edildi ($p < 0.05$). Koni epiteli için yapılan incelemede ise PINK1 ekspresyonu ile EİKK arasında pozitif ($p < 0.05$), PARKIN ekspresyonu ile yaş arasında anlamlı negatif korelasyon mevcuttu ($p < 0.05$), (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Hastaların koni bölgesindeki ve periferdeki protein ekspresyonlarının çeşitli parametrelerle korelasyonu

Korelasyon	PINK1		PARKIN		LC3B/LC3A	
	Perifer	Koni	Perifer	Koni	Perifer	Koni
Yaş	$p=0.91$	$p=0.35$	$p=0.72$	$p=0.03^*$ $r=-0.300$	$p=0.88$	$p=0.22$
DGK	$p=0.10$	$p=0.13$	$p=0.07$	$p=0.30$	$p=0.44$	$p=0.33$
EİDGK	$p=0.57$	$p=0.89$	$p=0.85$	$p=0.51$	$p=0.36$	$p=0.59$
K1	$p=0.85$	$p=0.91$	$p=0.21$	$p=0.57$	$p=0.59$	$p=0.18$
K2	$p=0.44$	$p=0.45$	$p=0.17$	$p=0.47$	$p=0.16$	$p=0.33$
Kmean	$p=0.27$	$p=0.26$	$p=0.08$	$p=0.34$	$p=0.66$	$p=0.31$
Kmaks	$p=0.14$	$p=0.22$	$p=0.04^*$ $r=-0.285$	$p=0.92$	$p=0.67$	$p=0.86$
EİKK	$p=0.07$	$p=0.04^*$ $r=0.287$	$p=0.38$	$p=0.16$	$p=0.71$	$p=0.11$

Her iki cinsiyet arasında PINK1, PARKIN, LC3 ekspresyonları arasında anlamlı fark izlenmedi ($p>0.05$).

Hastaların allerji öyküsü mevcudiyetine göre protein ekspresyonları arasında anlamlı fark izlenmedi ($p>0.05$).

Hastalar aile öyküsü ile değerlendirildiğinde, aile öyküsü olan ve olmayan hastalar arasındaki protein ekspresyonları arasında anlamlı farklılık gözlenmedi ($p>0.05$).

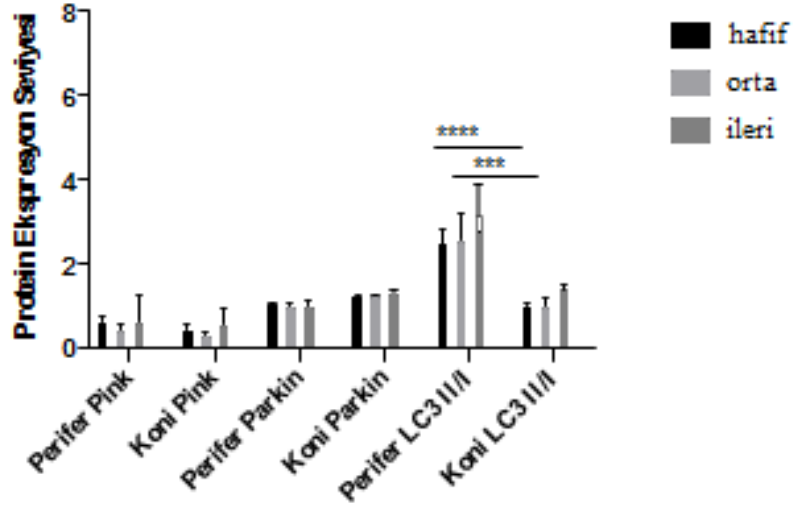
Hastaların keratometrik evrelerine göre PINK1, PARKIN, LC3 ekspresyonları değerlendirildiğinde evre 3'te periferik epitelde LC3 ekspresyonunun evre 1'e göre anlamlı olarak daha fazla olduğu görüldü ($p<0.05$). Diğer evreler ve diğer protein ekspresyonları arasında böyle bir ilişki gözlenmedi.

Her evrenin protein ekspresyonu kendi içinde değerlendirildiğinde (Tablo 4.8) evre 1 ve 2'de LC3 ekspresyonu periferik kornea epitelinde koni epiteline göre daha fazla bulundu ($p<0.05$). İstatistiksel anlamlılık en fazla evre 1'de tespit edilirken bu farklılığın evre ilerledikçe azaldığı, evre 3'teki farkın ise istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p>0.05$), (Şekil 4.2).

Tablo 4.8. Perifer ve koni arasında protein ekspresyonlarının istatistiksel karşılaştırması

Perifer vs. Koni	Evre 1 (p değeri)	Evre 2 (p değeri)	Evre 3 (p değeri)
Perifer Pink vs. Koni Pink	0.9753	0.999	>0,9999
Perifer Parkin vs. Koni Parkin	0.9864	0.9884	0.9996
Perifer LC3 vs. Koni LC3	<0,0001**	0.0003**	0.0724

Keratometrik Evre



Şekil 4.2. Perifer ve koni arasında hastaların evrelerine göre protein ekspresyonlarının istatistiksel karşılaştırması

Belin ABCD sınıflandırmasına göre yapılan incelemelerde;

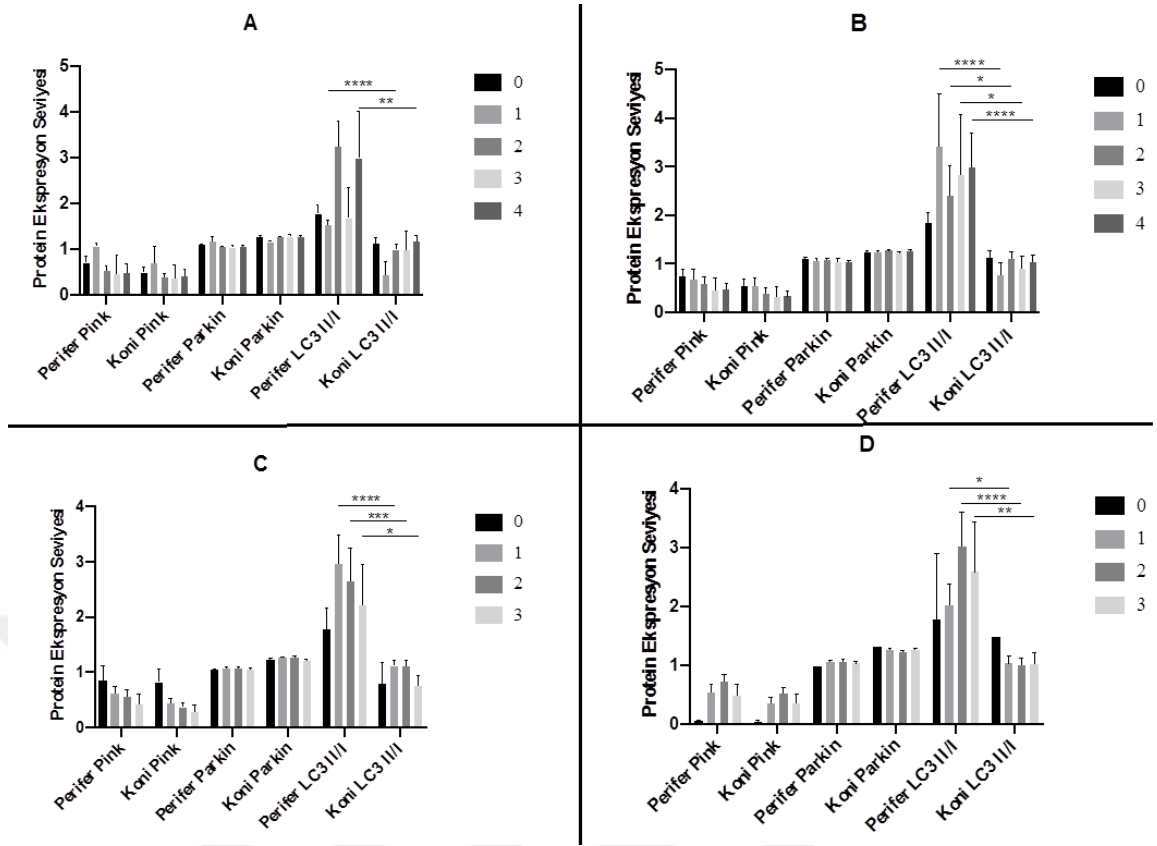
A (anterior radius of curvature) evrelerine göre evre 0'da evre 2'ye göre;

B (posterior radius of curvature) evrelerine göre evre 0'da evre 1 ve evre 2'ye göre;

D (Distance Best Corrected Visual Acuity) evrelerine göre evre 1'de evre 2'ye göre; periferik epitelde LC3 ekspresyonunun anlamlı olarak daha az olduğu görüldü ($p < 0.05$).

C (corneal thickness) evreleri arasında farklılık görülmedi ($p > 0.05$)

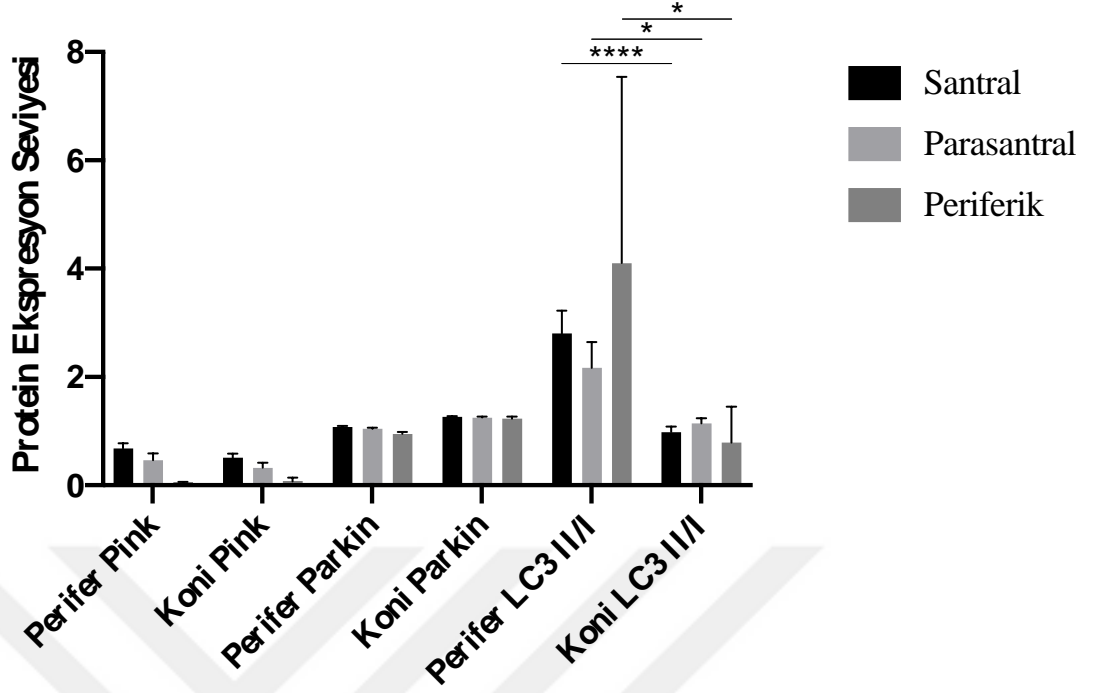
Evreler kendi içinde değerlendirildiğinde (Şekil 4.3) A0, A1, A3 evrelerinde periferik epitel ve koni epiteli protein ekspresyonları arasında fark izlenmezken ($p > 0.05$) A2 ve A4'te periferik LC3 ekspresyonu Koni LC3 ekspresyonundan anlamlı olarak daha fazlaydı ($p < 0.05$). B1, B2, B3, B4 evrelerinde periferik LC3 ekspresyonu daha fazla iken ($p < 0.05$), B0'da arada anlamlı fark görülmedi ($p > 0.05$). C1, C2, C3 evrelerinde periferik LC3 ekspresyonu konideki ekspresyona göre daha fazla iken ($p < 0.05$), C0'da anlamlı bir fark izlenmedi ($p > 0.05$). Benzer şekilde D0'da periferik ve konik LC3 ekspresyonu arasında fark bulunamamış iken ($p > 0.05$) D1, D2, D3'te periferik LC3 ekspresyonu anlamlı olarak daha fazlaydı ($p < 0.05$).



Şekil 4.3. Belin ABCD sınıflamasına göre evrelerde Koni-Perifer protein ekspresyonları karşılaştırması
 (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.0005$, ****: $p < 0.0001$)

Koni lokalizasyonuna göre protein ekspresyon farklılıklarına bakıldığında periferik koni lokalizasyonu olan hastalarda parasantral yerleşimli koni olanlara göre periferik LC3 ekspresyonu daha fazla idi ($p < 0.05$). Santral, parasantral ve periferik grupların hepsinde periferik LC3 ekspresyonu koni LC3 ekspresyonuna göre daha fazla bulunurken ($p < 0.05$) bu farkın en fazla santral lokalizasyona sahip konilerde olduğu görüldü (Şekil 4.4).

Koni Lokalizasyonu



Şekil 4.4. Koni lokalizasyonuna göre koni-perifer protein ekspresyonları karşılaştırması

(*: $p < 0.05$, ****: $p < 0,0001$)

6. TARTIŞMA

Keratokonus, etiyojisinde çevresel ve genetik etkenlerin rol oynadığı bilinen multifaktöryel bir hastalıktır. Patogeneze yönelik yapılan çalışmalarda hastalık genetik, proteomik, biyokimyasal ve biyomekanik yönlerden incelenerek hastalığın gelişme süreci araştırılmıştır. Hastalık yıkıcı enzimlerde artış ve proteaz inhibitör aktivitelerinin inhibisyonu ile ilişkilidir. Bu da korneada incelmeyle sonuçlanır. Etiyopatogenezinde çok sayıda mekanizma önerilmiş olsa da hastalığın ortaya çıkma ve progresyon süreçleri hala tam olarak aydınlatılamamıştır.

Çok sayıda çalışmada oksidatif stresin hastalığı tetikleyen faktörlerden biri olduğu öne sürülmüştür. Keratokonik gözlerde gözyaşı ve kornea dokusunda oksidatif stres belirteçlerinin aköz hümördekine kıyasla arttığı gösterilmiştir. Beraberinde de antioksidan seviyelerinin gözyaşı, aköz hümör ve kanda azaldığı görülmüştür. Keratokonus reaktif oksijen ve nitrojen türevleri ile malondialdehit gibi oksidatif stres markerlarında total artış ve aldehit dehidrogenaz, NADPH dehidrogenaz, superoksit dismutaz, laktoferrin, transferrin, albumin, selenyum ve çinko gibi antioksidanların hepsinde azalma ile ilişkilidir. Katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerde polimorfizmin, keratokonus şiddetinin bağımsız prediktörü olarak rol alabileceği öne sürülmüştür (2). Kornea epitelinde MDA (malondialdehyde for lipid peroxidation) ve NT (3-nitrotyrosine for peroxy nitrite formation) birikimi gözlenmiştir ve serbest radikallerin hastalık patogenezinde rolü olduğunu düşündürmektedir (96). Superoksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikallerinde artışla beraber antioksidan savunma seviyelerinde azalma mevcut olduğu gösterilmiştir (97-99). Bütün bunlar patogenezde oksidatif stresin rolü olduğuna ışık tutmaktadır.

Keratokonus, korneal stroma tabakasında biyokimyasal değişikliklere bağlı dejenerasyon ve incelme ile karakterizedir. Aynı zamanda epitel tabakasında incelme ve düzensizlik de mevcuttur. Genel itibariyle patogenezde primer sorumlu alanın stroma olduğu kabul edilir ve literatürdeki çoğu çalışma stromaya odaklanmaktadır. Yapılan çalışmalarda epitel tabakasındaki anormalliklere bağlı proteolitik enzimlerin

salınımının stromal kollajen ve matriks komponentlerin degradasyonuna neden olduğu da gösterilmiştir.

Amit ve ark keratokonusta kornea epitelinde Wnt/beta-catenin yolağında epitel ve bazal membran arasındaki tight junctionların kaybı ile stromal değişiklikleri indükleyebilecek defektler gözlemlenmiştir (14)

Keratokonus hastalarının kornea epitelinde reepitelizasyon evresinde yüksek miktarlarda gözlenen ve perisit matriksindeki adhezyon proteinleriyle etkileşimde olan alfa enolaz seviyelerinde azalma olduğu gösterilmiştir. Bu da korneal incelme ile ilişkili olabilir (4).

Yam ve ark. keratokonus hastalarının epitelinde MMP-9, IL-6 ve LOX gibi proteolitik enzimlerde hastalığın şiddeti ile ilişkili değişiklikler bulunduğunu göstermiştir (15)

Yine keratokonusta kornea epitelinde hedgehog ve notch yolaklarında da bozukluklar gösterilmiştir (16).

. Son yıllarda literatürde epitel hücrelerindeki patolojik süreçlere dair araştırmalar artsa da bu konudaki veriler hala kısıtlıdır. Bu nedenle bu çalışmada da hastalık patogeneğinde epitel hücrelerindeki oksidatif strese bağlı ortaya çıkabilecek değişikliklerin oynadığı rol ve altta yatan mekanizmalar aydınlatılmaya çalışılmıştır.

Mitokondri reaktif oksijen radikallerinin iyi bilinen bir kaynağıdır. Çoğu radikal mitokondriyal elektron transport sisteminden elektronların kaçıışı ile oluşur. Antioksidan mekanizmalar bu radikalleri su ve oksijene dönüştürerek ortaya çıkacak hasarı engeller. ROS üretiminde artış ve antioksidan mekanizmalar arasındaki dengesizlikle membranda lipid peroksidasyon, proteinlerde oksidatif değişiklikler ve DNA'da oksidatif hasar meydana gelir. Sonuç olarak otofajik süreçlerin aktivasyonu gerçekleşir.

Reaktif oksijen radikallerinde artışa bağlı mitokondriyal depolarizasyon da mitofaji sürecini tetikler. PINK1 ser65'te PARKIN'i fosforiller ve mitokondri içine

translokasyon gerçekleşir. Fosforile PARKIN E3 ligaz aktivitesi ile dış mitokondriyel membrandaki substratları ubiquitinler ve hasarlı mitokondri geri dönüşüm için etiketlenmiş olur (107). Mitofaji bu etiketlenmiş hasarlı mitokondrilerin ortadan kaldırılmasını ve hücrel homeostazisin devamını sağlar.

Oksidatif stresinde dahil olduğu çeşitli çevresel faktörlere bağlı kronik epitel hasarı apoptotik sitokinlerde artışa yol açabilir. Otofaji ve Mitofaji hasarlı organellerin eliminasyonunu sağlayarak apoptozisi engelleyen koruyucu mekanizmalar olarak düşünülebilir. Otofaji inhibisyonu hücre ölümünü dramatik olarak arttırmaktadır. Otofaji stimülasyonu ise tam tersi etkiye sahiptir. Bu da otofaji ve mitofajinin hasarlı mitokondrileri ortadan kaldıran ve oksidatif stresi azaldan sitoprotektif bir cevabı oluşturduğunu düşündürmektedir (12). Korneal epitel hücrelerde apoptozis epitelyal incelme ile ilişkili bulunmuştur (100). Otofajik ve mitofik olası bir yetersizlik bu apoptotik süreçleri arttırarak incelmeye neden oluyor olabilir.

Mitokondriyal DNA hasar ürünlerinin de keratokonik kornealarda biriktiği bulunmuştur (10). Bu mitofaji yolağında bir bozukluk olabileceği düşüncesini akla getirmektedir. Yine keratokonik kornealarda katepsin B, G ve V/L enzimlerinde artış gösterilmiştir ve bu anormal lizozomal fonksiyon ve defektif otofajinin, korneal incelmenin nedeni olabileceğini düşündürmektedir (126, 127).

Oksidatif stres ve buna bağlı ortaya çıkan lizozomal, otofajik ve mitofajik anormallikler çok sayıda oküler hastalık patogenezinde araştırılmış ve ilişkili bulunmuştur.

Trabeküler ağ hücrelerinde kronik oksidatif strese bağlı lizozomal disfonksiyon gözlenmiş ve glokom hastalığının patogenezinde etkili olabileceği öne sürülmüştür (128, 129).

Glokom hastalarında otofajinin retina ganglion hücreleri üzerinde koruyucu rol oynayarak nöronal dejenerasyonu azalttığı ve optik siniri koruyucu etkisi olduğu öne sürülmüştür (130, 131).

YBMD’de gösterilen lizozomal lipofuskin birikiminde artış ve azalmış otofajik aktivite; retinal pigment epitel hücre hasarının nedeninin oksidatif stres olabileceğini düşündürmektedir(132, 133).

Otozomal dominant optik atrofi gibi optik nöropatilerin bazılarında da OPA1 mutasyonuna bağlı olarak mitokondrilerde yetersiz füzyon ve azalmış membran potansiyeli ile birlikte mitofajide artış görülmektedir(134).

Fuchs endotelyal distrofide otofaji markerı kabul edilen LC3 proteinlerinin arttığı, mitofajik disregülasyon bulguları olduğu gösterilmiştir(135). Yine aynı hastalıkta bu çalışmada da incelenen PARKIN proteini ile ilişkili upregülasyon bulunmuştur (7).

Korneal granüler distrofide de yetersiz otofaji bulguları bildirilmiştir(136).

Bütün bu çalışmalar çeşitli oküler hastalıklarda oksidatif stres ve otofaji/mitofaji disregülasyonu ile hastalık gelişim süreçleri arasında güçlü ilişkiler olduğunu göstermektedir. Literatürde keratokonus hakkında bu süreçleri inceleyen çalışma sayısı oldukça azdır. Bu yüzden bu çalışmada mitofaji ve otofaji belirteçleri incelenerek keratokonusa benzer bir mekanizmanın olup olmadığını ortaya koymak amaçlanmıştır.

Daha önce yapılan bir çalışmada keratokonus hastalarının epitelinde PINK1 ekspresyonunda azalma gösterilmiştir. PINK1’de görülen down-regülasyonun epitelyal hücre ölümü ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür(9). Bu çalışmada ise mitofajiye ilişkin regülatör proteinlerden PINK1 ekspresyonunda değişiklik tespit edilememiştir. Fakat diğer bir protein PARKIN’de, hem periferde hem de koni bölgesinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı azalma gösterilmiştir. Bu da keratokonus patogeneğinde defektif mitofaji olduğu savını desteklemektedir. PINK1 proteinindeki önceki çalışmada azalmış gösterilen ekspresyon paterninin bu çalışmada gösterilememesi, bu çalışmada PARKIN ve LC3’te gösterilen varyasyonun önceki çalışmada gösterilememesi gibi çelişkiler bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

Otofaji sürecinin marker proteini ise LC3 ailesi olarak kabul edilir. Keratokonus hastalarının kornea epitelinde LC3 proteinleri ekspresyonu yine hem periferde hem de koni bölgesinde kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha az bulunmuştur bu da keratokonus patogenezinde otofajik disregülasyonun ve yetersiz otofajik aktivitenin rolü olduğunu düşündürmektedir. Ekspresyonlardaki azalmanın yalnızca koni bölgesinde değil periferik epitelde de görülmesi keratokonusun sadece apeksle sınırlı olmayıp bütün kornea epitelini etkileyen bir hastalık olduğuna ve altta yatan olası mekanizmanın korneanın bütününe etkiliyordüğüne işaretir.

Literatürde daha önce Iqbal ve ark. keratokonuslu hastalarda LC3 ekspresyonunu incelemiş ve keratokonusda ekspresyonda düşük, orta, yüksek ekspresyonlar göstermişlerdir. Fakat ekspresyonu gözlemlemek için immünohistokimyasal boyama metodu kullanılmıştır. Az sayıda hasta ve kontrol grubu üzerinde gerçekleştirilen çalışmada hastalığın klinik ve topografik özellikleri ile ekspresyon arasındaki ilişki incelenmemiştir (137). Bu çalışmada ise protein ekspresyonunu göstermede daha etkili bir yöntem olan Western-Blot metodu kullanılmıştır ve hastaların klinik, demografik ve topografik özellikleri ile bu proteinler arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Keratokonus hastalarında birbirinden farklı morfolojik özellikler gösteren koni bölgesi ve periferik epitel hücreleri arasında farklı moleküler ekspresyon paternleri de görülmektedir. Bir çalışmada koni bölgesinde perifer ile kıyaslandığında BAX proteininde artış ve BCL2 proteininde azalma olduğu gösterilmiştir. CK3/CK12 pozitif hücreler koni bölgesinde perifere göre anlamlı olarak daha az bulunmuştur (17).

Hepatosit büyüme faktörü (Hepatocyte Growth Factor-HGF) ve reseptörü mezenkimal-epitelyat transition factor (c-met/met) ekspresyonlarında koni bölgesi ile perifer arasında uyumsuzluklar gösterilmiştir (18).

Literatürdeki bu verilere istinaden farklı morfolojik ve proteomik paternler gösteren koni epiteli ve perifer epiteldeki protein ekspresyonunun birbiri arasındaki farklılıklar da bu çalışmada incelendi. PINK1 ekspresyonunda koni ve perifer arasında farklılık gözlenmedi. Fakat PARKIN ekspresyonu koni bölgesi epitelinde perifere göre anlamlı olarak daha fazlaydı. Bununla beraber LC3 proteinlerinin

ekspresyonunun ise periferde koni bölgesine kıyasla daha fazla olduğu tespit edildi. Bu hastalık sürecinde koni bölgesinde ortaya çıkan mitofajik disregulasyon ve yetersiz otofajik aktivitenin korneal incelmeden sorumlu olabileceğini düşündürmektedir. Koni bölgesinde fazla eksprese edilen PARKIN, aktiflenmiş mitofajiye işaret ederken LC3 ekspresyonunun koni bölgesinde periferde kıyasla daha az bulunması mitofaji sürecinin ileri basamaklarında gelişen bir defekti gösteriyor olabilir.

Khaleel ve ark.'nın yaptığı çalışmada epitelyal incelmeye apoptozis ile ilişkili olduğu daha önce gösterilmiştir (100). Koni bölgesinde LC3 ekspresyonunun daha düşük olması; apoptozise karşı koruyucu bir mekanizma olan otofajinin, koni bölgesinde azalarak korneal epitel hücrelerinde apoptoziste artışa yol açtığına belirtisi olabilir ve bunun da korneal incelmeye yol açtığı düşünülebilir.

Benzer şekilde keratokonusta oksidatif stres kaynaklı otofajik disregulasyonu inceleyen Shetty ve ark. tarafından yapılan çalışmada keratokonus hastalarında ve hücre kültüründe oluşturulan oksidatif stres koşulları altındaki hücrelerde LC3, ATG-5, ATG-7, RAB-7, LAMP1 mRNA'larındaki ekspresyon perifer ve koni kıyaslanarak araştırılmış; LC3 mRNA ekspresyonunun hem koni hem de periferde kontrol grubuna göre azaldığı gösterilmiştir (5). Bu çalışmada da protein ekspresyonları değerlendirilmiş olup keratokonusta LC3 protein ekspresyonunun da paralel şekilde hem koni epitelinde hem de periferde kontrol grubuna göre daha az olduğu gösterilmiştir.

Hastalar keratometrik evrelerine göre değerlendirildiğinde evre 1-2'de LC3 protein ekspresyonunun periferde koniye kıyasla daha fazla olduğu evre 3'te ise bu farkın olmadığı gösterilmiştir. Bu da yine Shetty ve ark.'nın mRNA ekspresyonunu incelerken tespit ettikleri; evre 1-2'de periferde LC3 mRNA ekspresyonu koni bölgesine göre daha fazlayken evre-3'te bu farklılığın izlenmemesi, durumu ile örtüşmektedir (5). Bunun sebebi yetersiz otofajik aktivitenin hastalığın başlangıç, gelişim ve progresyonunda rol oynaması; ileri evre hastalık tablosunda ise bu sürecin sonuna gelmiş ve hastalığın son halini alarak progresyonun durmuş olması olabilir. Mitofaji regülatör proteinlerinde ise evreler arası bir fark tespit edilememiştir. Fakat tanı koyma yöntemlerindeki gelişmeler nedeniyle hastalık son dönemlerde daha

erken evrede tespit edildiği için çalışmada ileri evre keratokonus hasta sayısı diğer evrelerden daha az sayıdadır. Daha geniş bir popülasyon üzerinde daha fazla ileri evre keratokonus hasta dahil edilerek yapılacak yeni çalışmalar ile bu bulgular desteklenmelidir.

Hastalığın ortaya çıkmasına neden olan ve progresyona yol açan değişiklikler ile hastalığın ileri safhalarında tespit edilen değişiklikler arasında farklılıklar olabilir. Bunun nedenlerini incelerken hastaların ekspresyon paternlerinin klinik ve topografik bulgular ile birlikte değerlendirilmesi daha uygundur ve bu yol ile birtakım ipuçlarına ulaşılabilir.

Hastaların protein ekspresyonları diğer topografik, klinik ve demografik özellikleri üzerinden analiz edildiğinde; Periferik PARKIN ekspresyonu ile Kmaks değeri arasında negatif korelasyon görülmüştür. Hastalığın şiddeti arttıkça ekspresyonda azalma görülmesi mitofaji disregülasyonuna işaret eder fakat bu korelasyonun yönü hakkında sorular bu çalışmada cevap bulamamaktadır: hastalığın evresinde ilerleme mi mitofajik/otofajik bozukluklara yol açar yoksa bozukluk arttıkça hastalığın evresi mi ilerlemektedir?

Koni bölgesinde Kmaks ile korelasyon tespit edilememiştir fakat PARKIN ekspresyonu bu bölgede yaş ile negatif korelasyona sahip görülmektedir. Daha küçük yaşta ortaya çıktığında daha ağır seyrettiği bilinen keratokonusta yaşın azalması ile koni bölgesinde artan PARKIN ekspresyonu ve Kmaks değerinde artış ile periferde azalan ekspresyon birlikte değerlendirildiğinde mitofaji disregülasyonunun progresyon ile ilişkili bir gösterge olabileceği de iddia edilebilir.

Hastalar koni lokalizasyonlarına göre sınıflandırılırken subklinik keratokonus tanısı, keratokonusta lens uygunluğunun değerlendirilmesi gibi alanlarda sagittal haritalardan daha üstün olduğu gösterildiği için tanjansiyel kurvatür haritaları temel alınmıştır (138). Santral, parasantral ve periferik lokalize bütün gruplarda periferik ve konik bölge LC3 ekspresyonları arasında anlamlı farklılık gösterilmişken bu farkın en anlamlı santral lokalizasyonlu konilerde tespit edilmesi, en fazla hasta sayısının santral grupta olması nedeniyle daha güvenilir bir istatistik teşkil etmesinden kaynaklanabilir. Bu da örneklem sayısı arttıkça LC3'ün patogeneizde

oynadığı rolün daha kuvvetli bir şekilde ortaya çıktığını göstermesi açısından önemlidir. Lakin keratokonusta santral, parasantral ve periferik konilerin sadece farklı yerleşime sahipliği değil arada proteomik farklılıklar bulunan alt tipleri işaret ediyor olabileceği de akılda tutulmalıdır. Gelecekte bu tiplendirmeler üzerinden yapılacak daha geniş kapsamlı araştırmalar bunu ortaya çıkarabilir.

Otofaji yalnızca oksidatif stresten değil büyüme faktörleri, glukoz metabolizması, beslenme ve diğer stres faktörlerinden de etkilenmektedir (104). Bu çalışmada oksidatif stres markerları incelenmemiştir. Gelecekte bu konuda yapılacak çalışmalarda tespit edilecek değişikliklerin standardize edilebilmesi için hastalarda ve kontrol grubunda korneal oksidatif stres belirteçleri de birlikte incelenerek daha spesifik sonuçlar elde edilebilir.

İlaveten otofaji proteinleri ile ilişkili çalışmalarda yapılan ölçümler otofajik akışı veya steady state'i ölçmeye yönelik ayrı bilgiler önermektedir. LC3 ailesinin western blot yöntemi ile gösterilmesi bu proteinlerin steady state durumunu belirlemeye yöneliktir (104). Bu da sonuçların yorumlanmasında kısıtlılık yaratmaktadır. Daha kapsamlı protein ekspresyon çalışmaları yapılması yararlı olacaktır.

Daha önce literatürde bu çalışmada incelenen proteinlerin gen ekspresyon paternlerini inceleyen çalışmalar mevcuttur (5, 9). Çalışmada bu yüzden gen ekspresyon analizi gerçekleştirilmemiştir. Fakat olası farklılıkları daha belirgin şekilde ortaya koyabilmek için gelecekte bu proteinler ile ilgili yapılacak çalışmalarda mRNA gen ekspresyonu ile protein ekspresyonunun birlikte çalışılması düşünülebilir.

Mevcut çalışmada keratokonus hastalarında epitel koni ve perifer şeklinde ayrılarak incelenmiş fakat hastalık belirteçlerinin normal kornea epitelinde farklı olmayacağı düşüncesiyle kontrol grubunun sağlıklı bireylerinden kornea böyle bir ayırım yapılmadan alınarak bütün olarak incelenmiştir. Fakat farklı topografik özellikler gösteren periferik ve santral korneadaki olası ekspresyon farklılıklarını da değerlendirerek daha tarafsız bir sonuç elde edebilmek için gelecek çalışmalarda kontrol grubu da santral ve periferik kornea epiteli olarak ayrı ayrı değerlendirilebilir.

Çeşitli korneal distrofilerde stromada da otofajik disregülasyon gösterilmiştir (139, 140). Epitel incelemeleri ile birlikte stromayı da değerlendiren daha ileri çalışmalar keratokonus patogenezi aydınlatmada ek bilgiler sağlayabilir.

Sonuç olarak yetersiz otofajinin patogenezi rol oynadığı yönündeki deliller “gelecekte keratokonus tedavisinde otofaji indüksiyonu hastalığın progresyonunu engelleyen alternatif bir seçenek olabilir mi?” sorusunu akla getirmektedir.



7. SONUÇLAR

Keratokonus patogenezi belirsizliğini hala korumaktadır. Etiyopatogeneizde öne sürülen çok sayıda faktör hastalığın multifaktöryel olduğunu düşündürmektedir.

Oksidatif stresin hastalığın gelişmesine neden olan ana faktörlerden biri olduğu gösterilmiştir. Oksidan ve antioksidan komponentler arasındaki dengesizliğin tam olarak hangi mekanizma ile keratokonus hastalığını ortaya çıkardığı ya da progresyonuna olduğu ise bilinmemektedir.

Hastalığın ana bulgularından olan stromal incelme nedeniyle primer patolojinin stromada olduğu düşünülse de epitel dokuda da çok sayıda değişikliğin bulunduğu gösterilmiş ve stromal değişikliklere yol açan süreçlerin epiteldeki patolojilerden kaynaklanabileceği öne sürülmüştür.

Çalışmamızda keratokonus hastalarının kornea epiteline odaklanılmış ve çok sayıda hastalıkta güncel olarak araştırılmakta olan mitofaji ve otofaji süreçleri, marker proteinlerin ekspresyonunu göstermek yoluyla incelenmiştir.

1. Western Blot analizleri sonucu PARKIN ve LC3 proteinlerinin hem koni hem de perifer bölge epitelinde kontrol grubuna göre azaldığı gösterilmiştir.
2. Koni bölgesi epiteli ile perifer kornea epiteli kıyaslandığında koni bölgesinde perifere kıyasla PARKIN ekspresyonu daha fazla iken LC3 daha az bulunmuştur.
3. Cinsiyet, allerji öyküsü, aile öyküsü ile ekspresyonlar arasında anlamlı ilişki gösterilememiştir.
4. Periferik kornea epitelinde PARKIN ekspresyonu ile Kmaks. değeri arasında negatif korelasyon; koni epitelinde ise PINK1 ekspresyonu ile EİKK arasında pozitif, PARKIN ekspresyonu ile yaş arasında negatif korelasyon gösterilmiştir.
5. Erken evre keratokonusta perifer-koni arası LC3 ekspresyon farkı daha yüksek bulunmuştur.
6. Koni lokalizasyonuna göre grupta Perifer ve koni epiteli arası LC3 ekspresyonu bütün gruplarda farklıyken, en fazla santral lokalizasyonda fark gösterilmiştir.

Evrelere göre kıyaslama yapıldığında erken evrelerde farkın daha yüksek bulunması otofajik-mitofajik disfonksiyonun hastalığın oluşum ve gelişim evrelerinde rol oynadığını düşündürmektedir.

Otofaji ve mitofaji keratokonus patogeneğinde etkindir ve defektif görünmektedir, mekanizmanın tam olarak ortaya konabilmesi için yapılacak daha ileri ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç sürmektedir.



7. KAYNAKLAR

1. Pirhan D, Coşkun E. İçinde: *Yüzey Hastalıkları ve Kornea*, O'Dwyer PA (Çeviri editörü). *External Disease and Cornea*, American Academy of Ophthalmology, 2012: s296-300
2. Santodomingo-Rubido J, Carracedo G, Suzaki A, Villa-Collar C, Vincent SJ, Wolffsohn JS. Keratoconus: An updated review. *Cont Lens Anterior Eye*. 2022 Jun;45(3):101559. doi: 10.1016/j.clae.2021.101559.
3. Kenney MC, Chwa M, Atilano SR, Tran A, Carballo M, Saghizadeh M, et al. Increased levels of catalase and cathepsin V/L2 but decreased TIMP-1 in keratoconus corneas: evidence that oxidative stress plays a role in this disorder. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2005;
4. Yam GH-F, Fuest M, Zhou L, et al. Differential epithelial and stromal protein profiles in cone and non-cone regions of keratoconus corneas. *Scientific Reports*. 2019;9(1):2965.
5. Shetty R, Sharma A, Pahuja N, Chevour P, Padmajan N, Dhamodaran K, Jayadev C, M M A Nuijts R, Ghosh A, Nallathambi J. Oxidative stress induces dysregulated autophagy in corneal epithelium of keratoconus patients. *PLoS One*. 2017 Sep 13;12(9):e0184628. doi: 10.1371/journal.pone.0184628.
6. Belousov DM, Mikhaylenko EV, Somasundaram SG, Kirkland CE, Aliev G. The Dawn of Mitophagy: What Do We Know by Now? *Curr Neuropharmacol*. 2021;19(2):170-192. doi: 10.2174/1570159X18666200522202319.
7. Benischke AS, Vasanth S, Miyai T, Katikireddy KR, White T, Chen Y, et al. Activation of mitophagy leads to decline in Mfn2 and loss of mitochondrial mass in Fuchs endothelial corneal dystrophy. *Sci Rep* 2017;7:6656.

8. Kaarniranta K, Uusitalo H, Blasiak J, Felszeghy S, Kannan R, Kauppinen A, Salminen A, Sinha D, Ferrington D. Mechanisms of mitochondrial dysfunction and their impact on age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res.* 2020 Nov;79:100858. doi: 10.1016/j.preteyeres.2020.100858.
9. Yıldız E, Aydemir D, Zibandeh N, Kuşan E, Gümüş K, İlhan Saraç Ö, Karşlıoğlu MZ, Çağıl N, Şahin A. Investigation of Mitophagy Biomarkers in Corneal Epithelium of Keratoconus Patients. *Curr Eye Res.* 2022 May;47(5):661-669. doi: 10.1080/02713683.2022.2025846.
10. Atilano SR, Coskun P, Chwa M, Jordan N, Reddy V, Le K, et al. Accumulation of mitochondrial DNA damage in keratoconus corneas. *Investigative ophthalmology & visual science.* 2005; 46(4):1256–63. <https://doi.org/10.1167/iovs.04-1395>
11. Onishi M, Yamano K, Sato M, Matsuda N, Okamoto K. Molecular mechanisms and physiological functions of mitophagy. *EMBO J.* 2021 Feb 1;40(3):e104705. doi: 10.15252/emj.2020104705.
12. Bonet-Ponce L, Saez-Atienzar S, da Casa C, Flores-Bellver M, Barcia JM, Sancho-Pelluz J, Romero FJ, Jordan J, Galindo MF. On the mechanism underlying ethanol-induced mitochondrial dynamic disruption and autophagy response. *Biochim Biophys Acta.* 2015 Jul;1852(7):1400-9. doi: 10.1016/j.bbdis.2015.03.006.
13. Rabinowitz YS. Keratoconus. *Surv Ophthalmol* 1998;42:297–319.
14. Amit C, Padmanabhan P, Narayanan J. Deciphering the mechanoresponsive role of β -catenin in keratoconus epithelium. *Scientific Reports.* 2020;10(1):21382.
15. Nielsen K, Vorum H, Fagerholm P, et al. Proteome profiling of corneal epithelium and identification of marker proteins for keratoconus, a pilot study. *Experimental eye research.* 2006;82(2):201-209.

16. You J, Corley SM, Wen L, et al. RNA-Seq analysis and comparison of corneal epithelium in keratoconus and myopia patients. *Scientific Reports*. 2018;8(1):389.
17. Shetty R, Vunnava KP, Dhamodaran K, et al. Characterization of Corneal Epithelial Cells in Keratoconus. *Transl Vis Sci Technol*. 2019;8(1):2.
18. You J, Wen L, Roufas A, Hodge C, Sutton G, Madigan MC. Expression of HGF and c-Met Proteins in Human Keratoconus Corneas. *Journal of ophthalmology*. 2015; 2015:852986. <https://doi.org/10.1155/2015/852986>.
19. Kıvanç SA, Güllülü G. Göz ve Eklerinin Embriyolojisi. İçinde: O'Dwyer PA, Akova YA (editörler). *Temel Göz Hastalıkları*, 3. Baskı. Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri, 2015: 3-6
20. Hekimoğlu E, Hekimoğlu ER. İçinde: *Oftalmolojinin Esas ve İlkeleri*, O'Dwyer PA (Çeviri editörü). *Fundamentals and Principles of Ophthalmology*, American Academy of Ophthalmology, 2012: s150-152
21. Sridhar MS. Anatomy of cornea and ocular surface. *Indian J Ophthalmol*. 2018 Feb;66(2):190-194. doi: 10.4103/ijo.IJO_646_17.
22. DelMonte DW, Kim T. Anatomy and physiology of the cornea. *J Cataract Refract Surg*. 2011 Mar;37(3):588-98. doi: 10.1016/j.jcrs.2010.12.037.
23. Kaufman, P.L., et al., *Adler's Physiology of Sciences*. 20. the Eye. 2011: Elsevier Health
24. Krachmer, J.H., M.J. *Sciences*. Mannis, and E.J. Holland, *Cornea*. 2010: Elsevier Health

25. Meeney, A., Mudhar, H. Histopathological reporting of corneal pathology by a biomedical scientist: the Sheffield Experience. *Eye* 27, 272–276 (2013). <https://doi.org/10.1038/eye.2012.282>
26. Eghrari AO, Riazuddin SA, Gottsch JD. Overview of the Cornea: Structure, Function, and Development. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2015;134:7-23. doi: 10.1016/bs.pmbts.2015.04.001.
27. Mochizuki H, Fukui M, Hatou S, Yamada M, Tsubota K. Evaluation of ocular surface glycocalyx using lectin-conjugated fluorescein. *Clin Ophthalmol.* 2010;4:925–930
28. Wiley L, SundarRaj N, Sun T-T, Thoft RA. Regional heterogeneity in human corneal and limbal epithelia: an immunohistochemical evaluation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991; 32:594–602.
29. Hanna C, Bicknell DS, O'Brien JE. Cell turnover in the adult human eye. *Arch Ophthalmol.* 1961; 65:695.
30. Thoft RA, Friend J. The X, Y, Z hypothesis of corneal epithelial maintenance. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1983;24:1442-3
31. Espana EM, Birk DE. Composition, structure and function of the corneal stroma. *Exp Eye Res.* 2020 Sep;198:108137. doi: 10.1016/j.exer.2020.108137.
32. de Oliveira RC, Wilson SE. Descemet's membrane development, structure, function and regeneration. *Exp Eye Res.* 2020 Aug;197:108090. doi: 10.1016/j.exer.2020.108090.
33. Marino, G.K., Santhiago, M.R., Santhanam, A., Torricelli, A.A.M., Wilson, S.E., 2017. Regeneration of defective epithelial basement membrane and restoration of corneal transparency after photorefractive keratectomy. *J. Refract. Surg.* 33, 33

34. Romero-Jiménez M, Santodomingo-Rubido J, Wolffsohn JS. Keratoconus: a review. *Cont Lens Anterior Eye*. 2010 Aug;33(4):157-66; quiz 205. doi: 10.1016/j.clae.2010.04.006.
35. Spronk I, Korevaar JC, Poos R, Davids R, Hilderink H, Schellevis FG, et al. Calculating incidence rates and prevalence proportions: Not as simple as it seems. *BMC Public Health* 2019;19. <https://doi.org/10.1186/s12889-019-6820-3>.
36. Gorskova EN, Sevost'ianov EN. Epidemiology of keratoconus in the Urals. *Vestn Oftalmol* 1998;114:38–40.
37. Torres Netto EA, Al-Otaibi WM, Hafezi NL, Kling S, Al-Farhan HM, Randleman JB, et al. Prevalence of keratoconus in paediatric patients in Riyadh, Saudi Arabia. *Br J Ophthalmol* 2018;102:1436–41. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2017-311391>.
38. Ihalainen A. Clinical and epidemiological features of keratoconus genetic and external factors in the pathogenesis of the disease. *Acta Ophthalmol Suppl (Oxf)* 1986;178:1–64.
39. Pearson AR, Soneji B, Sarvananthan N, Sanford-Smith JH. Does ethnic origin influence the incidence or severity of keratoconus? *Eye* 2000;14:625–8. <https://doi.org/10.1038/eye.2000.154>.
40. Georgiou T, Funnell CL, Cassels-Brown A, O'Connor R. Influence of ethnic origin on the incidence of keratoconus and associated atopic disease in Asians and white patients. *Eye* 2004;18:379–83. <https://doi.org/10.1038/sj.eye.6700652>.

41. Bak-Nielsen S, Ramlau-Hansen CH, Ivarsen A, Plana-Ripoll O, Hjortdal J. Incidence and prevalence of keratoconus in Denmark – an update. *Acta Ophthalmol* 2019;97:752–5. <https://doi.org/10.1111/aos.14082>.
42. Ziaei H, Jafarinasab MR, Javadi MA, Karimian F, Poorsalman H, Mahdavi M, et al. Epidemiology of keratoconus in an Iranian population. *Cornea* 2012;31: 1044–7. <https://doi.org/10.1097/ICO.0b013e31823f8d3c>.
43. Davis LJ, Barr JT, Vanotteren D. Transient rigid lens-induced striae in keratoconus. *Optom Vis Sci* 1993;70:216–9
44. Tharini B, Sahebjada S, Borrone MA, Vaddavalli P, Ali H, Reddy JC. Keratoconus in pre-teen children: Demographics and clinical profile. *Indian J Ophthalmol*. 2022 Oct;70(10):3508-3513. doi: 10.4103/ijo.IJO_2579_21.
45. Christy JS, Tagare S. Classical signs of Keratoconus: Delhi J Ophthalmol. *Delhi J Ophthalmol* 2020;31;87-89; doi: <http://dx.doi.org/10.7869/djo.580>
46. Çağıl N. Keratokonusun Tanı. İçinde: *Keratokonusta tedavisine pratik yaklaşım*, Çağıl N (Çeviri editörü), Sinjab MM, 1. Baskı, Ankara, Hipertıp, 2014: s3-8
47. Bostancı B, Topografi ve Tomografi Sistemleri ve Sık Kullanılan Cihazlar. İçinde: Saraç Ö (editör). *Pratik Kornea Topografisi*, 1. Baskı, Ankara, Anadolu Kitabevi, 2022: s10-18
48. Saraç Ö, İyidoğan D, Ektatik Kornea Hastalıklarında Topografi-Keratokonus. İçinde: Saraç Ö (editör). *Pratik Kornea Topografisi*, 1. Baskı, Ankara, Anadolu Kitabevi, 2022: s103-120
49. Jinabhai A, Radhakrishnan H, O'Donnell C. Pellucid corneal marginal degeneration: A review. *Cont Lens Anterior Eye*. 2011 Apr;34(2):56-63. doi: 10.1016/j.clae.2010.11.007.

50. Sridhar M, Mahesh S, Bansal AK, Nutheti R, Rao G. Pellucid marginal corneal degeneration. *Ophthalmology* 2004;111:1102–7.
51. Kayazawa F, Nishimura K, Kodama Y, Tsuji T, Itoi M. Keratoconus with pellucid marginal corneal degeneration. *Arch Ophthalmol* 1984;102:895–6.
52. Karabatsas CH, Cook SD. Topographic analysis in pellucid marginal corneal degeneration and keratoglobus. *Eye* 1996;10:451–5.
53. Feder RS, Kshetry P. Noninflammatory ectatic disorders. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, editors. *Cornea – fundamentals, diagnosis and management*. 2nd ed. London: Elsevier Inc.; 2005. p. 955–74.
54. Krachmer JH, Feder RS, Belin MW. Keratoconus and related non inflammatory corneal thinning disorders. *Surv Ophthalmol* 1984;28:293–322.
55. Wallang BS, Das S. Keratoglobus. *Eye (Lond)*. 2013 Sep;27(9):1004-12. doi: 10.1038/eye.2013.130.
56. Rumelt S, Rehamy U. Surgically induced keratoglobus in pellucid marginal degeneration. *Eye* 1998; 12(1): 156–158
57. Rad AS, Jabbarvand M, Saifi N. Progressive keratectasia after laser in situ keratomileusis. *J Refract Surg* 2004;20:S718-22.
58. Pallikaris IG, Kymionis GD, Astyrakakis NI. Corneal ectasia induced by laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg* 2001;27:1796-802.
59. Dawson DG, Randleman JB, Grossniklaus HE, O'Brien TP, Dubovy SR, Schmack I, et al. Corneal ectasia after excimer laser keratorefractive surgery: Histopathology, ultrastructure, and pathophysiology. *Ophthalmology* 2008;115:2181-2191.e1.

60. Moshirfar M, Edmonds JN, Behunin NL, Christiansen SM. Corneal biomechanics in iatrogenic ectasia and keratoconus: A review of the literature. *Oman J Ophthalmol.* 2013 Jan;6(1):12-7. doi: 10.4103/0974-620X.111895.
61. Kohlhaas, M., [Iatrogenic Keratectasia: A Review]. *Klin Monbl Augenheilkd*, 2015. 232(6): p. 765-72.
62. Silas MR, Hilkert SM, Reidy JJ, Farooq AV. Posterior keratoconus. *Br J Ophthalmol.* 2018 Jul;102(7):863-867. doi: 10.1136/bjophthalmol-2017-311097.
63. ROSS JV. Keratoconus posticus generalis. *Am J Ophthalmol* 1950;33:801–3.
64. Rao SK, Padmanabhan P. Posterior keratoconus. An expanded classification scheme based on corneal topography. *Ophthalmology* 1998;105:1205–12.
65. El Wardani M, Hashemi K, Aliferis K, Kymionis G. Topographic changes simulating keratoconus in patients with irregular inferior epithelial thickening documented by anterior segment optical coherence tomography. *Clin Ophthalmol.* 2019 Oct 30;13:2103-2110. doi: 10.2147/OPHTH.S208101.
66. Wilson SE., Klyce SD. Screening for corneal topographic abnormalities before refractive surgery. *Ophthalmology* 1994; 101: 14752.
67. Reinstein DZ, Gobbe M, Archer TJ, Silverman RH, Coleman DJ. Epithelial, stromal, and total corneal thickness in keratoconus: three-dimensional display with artemis very-high frequency digital ultrasound. *J Refract Surg.* 2010;26(4):259–271. doi:10.3928/1081597X-20100218-01.
68. Sandali O, El Sanharawi M, Temstet C, Hamiche T, Galan A, Ghouali W, et al. Fourier-domain optical coherence tomography imaging in keratoconus: a corneal structural classification. *Ophthalmology* 2013;120:2403–12. <https://doi.org/10.1016/j.opht.2013.05.027>.

69. Hollingsworth JG, Efron N, Tullo AB. In vivo corneal confocal microscopy in keratoconus. *Ophthalmic Physiol Optic* 2005;25:254–60. <https://doi.org/10.1111/j.1475-1313.2005.00278.x>.
70. Zhou W, Stojanovic A. Comparison of corneal epithelial and stromal thickness distributions between eyes with keratoconus and healthy eyes with corneal astigmatism ≥ 2.0 D. *PLoS One* 2014;9:e85994 <https://doi.org/10.1371/journal>.
71. Sherwin T, Brookes NH, Loh IP, Poole CA, Clover GM. Cellular incursion into Bowman's membrane in the peripheral cone of the keratoconic cornea. *Exp Eye Res* 2002;74:473–82. <https://doi.org/10.1006/exer.2001.1157>.
72. Ferrari G, Rama P. The keratoconus enigma: A review with emphasis on pathogenesis. *Ocul Surf.* 2020 Jul;18(3):363-373. doi: 10.1016/j.jtos.2020.03.006.
73. Mensher JH. Corneal nerves. *Surv Ophthalmol* n.d.;19:1-18.
74. Patel DV, McGhee CNJ. Mapping the corneal sub-basal nerve plexus in keratoconus by in vivo laser scanning confocal microscopy. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:1348–51. <https://doi.org/10.1167/iovs.05-1217>.
75. Morishige N, Shin-Gyou-Uchi R, Azumi H, Ohta H, Morita Y, Yamada N, et al. Quantitative analysis of collagen lamellae in the normal and keratoconic human cornea by second harmonic generation imaging microscopy. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:8377–85. <https://doi.org/10.1167/iovs.14-15348>.
76. Uçakhan Ö, Kanpolat A, Yılmaz N, Özkan M. In vivo confocal microscopy findings in keratoconus. *Eye Contact Lens* 2006;32:183–91. <https://doi.org/10.1097/01.icl.0000189038.74139.4a>.

77. Fan Gaskin JC, Patel DV, McGhee CNJ. Acute corneal hydrops in keratoconus -new perspectives. *Am J Ophthalmol* 2014;157:921–8. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2014.01.017>.
78. Tuft SJ, Hassan H, George S, Frazer DG, et al. Keratoconus in 18 pairs of twins. *Acta Ophthalmol.* 2012;90(6):e482–6.
79. Valgaeren H, Koppen C, Van Camp G. A new perspective on the genetics of keratoconus: why have we not been more successful? *Ophthalmic Genet.* 2018 Apr;39(2):158-174. doi: 10.1080/13816810.2017.1393831.
80. Szczotka-Flynn L, Slaughter M, McMahon T, Barr J, et al. Disease severity and family history in keratoconus. *Br J Ophthalmol.* 2008;92(8):1108–11.
81. Wang Y, Rabinowitz YS, Rotter JI, Yang H. Genetic epidemiological study of keratoconus: evidence for major gene determination. *Am J Med Genet.* 2000;93(5):403–09.
82. Kriszt A, Losonczy G, Berta A, Vereb G, et al. Segregation analysis suggests that keratoconus is a complex non-mendelian disease. *Acta Ophthalmol.* 2014;92(7):e562–8
83. Tang YG, Rabinowitz YS, Taylor KD, Li X, et al. Genomewide linkage scan in a multigeneration Caucasian pedigree identifies a novel locus for keratoconus on chromosome 5q14.3-q21.1. *Genet Med.* 2005;7(6):397–405.
84. Bykhovskaya Y, Li X, Taylor KD, Haritunians T, et al. Linkage analysis of high-density SNPs confirms keratoconus locus at 5q chromosomal region. *Ophthalmic Genet.* 2016;37(1):109–10.
85. Bisceglia L, De Bonis P, Pizzicoli C, Fischetti L, et al. Linkage analysis in keratoconus: replication of locus 5q21.2 and identification of other suggestive Loci. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009;50 (3):1081–86.

86. Hughes AE, Bradley DT, Campbell M, Lechner J, et al. Mutation altering the miR-184 seed region causes familial keratoconus with cataract. *Am J Hum Genet.* 2011;89(5):628–33.
87. Iliff BW, Riazuddin SA, Gottsch JD. Documenting the corneal phenotype associated with the MIR184 c.57C>T mutation. *Am J Hum Genet.* 2012;90(5):934; author reply 934–5.
88. Lechner J, Bae HA, Guduric-Fuchs J, Rice A, et al. Mutational analysis of MIR184 in sporadic keratoconus and myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54(8):5266–72.
89. Czugala M, Karolak JA, Nowak DM, Polakowski P, et al. Novel mutation and three other sequence variants segregating with phenotype at keratoconus 13q32 susceptibility locus. *Eur J Hum Genet.* 2012;20(4):389–97.
90. Heon E, Greenberg A, Kopp KK, Rootman D, et al. VSX1: a gene for posterior polymorphous dystrophy and keratoconus. *Hum Mol Genet.* 2002;11(9):1029–36.
91. Udar N, Atilano SR, Brown DJ, Holguin B, et al. SOD1: a candidate gene for keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47 (8):3345–51.
92. Arce-González R, Chacon-Camacho OF, Ordoñez-Labastida V, Graue-Hernandez EO, Navas-Pérez A, Zenteno JC. A novel homozygous ZNF469 variant causing brittle cornea syndrome is associated with corneal ectasias in heterozygous carriers. *Int Ophthalmol.* 2022 Sep 1. doi: 10.1007/s10792-022-02481-5.
93. Pouliquen, Y., et al., [Keratoconus and inflammatory processes]. *Bull Soc Belge Ophtalmol*, 1996. 262: p. 2580. 8.

94. Wenk J, Brenneisen P, Meewes C, Wlaschek M, Peters T, Blaudschun R, et al. UV-induced oxidative stress and photoaging. *Current problems in dermatology*. 2001; 29:83–94.
95. Cejková J, Stípek S, Crkovská J, et al. UV Rays, the prooxidant/antioxidant imbalance in the cornea and oxidative eye damage. *Physiol Res*. 2004;53(1):1-10.
96. Buddi R, Lin B, Atilano SR, Zorapapel NC, Kenney MC, Brown DJ. Evidence of oxidative stress in human corneal diseases. *The journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society*. 2002; 50(3):341–51. <https://doi.org/10.1177/002215540205000306>.
97. Kenney MC, Brown DJ, Rajeev B. Everett Kinsey lecture. The elusive causes of keratoconus: a working hypothesis. *The CLAOjournal: official publication of the Contact Lens Association of Ophthalmologists, Inc*. 2000; 26(1):10–3.
98. Shoham A, Hadziahmetovic M, Dunaief JL, Mydlarski MB, Schipper HM. Oxidative stress in diseases of the human cornea. *Free radical biology & medicine*. 2008; 45(8):1047-55. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.07.021>
99. Behndig A, Karlsson K, Johansson BO, Brannstrom T, Marklund SL. Superoxide dismutase isoenzymes in the normal and diseased human cornea. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2001; 42(10):2293–6.
100. Khaled ML, Helwa I, Drewry M, Seremwe M, Estes A, Liu Y. Molecular and Histopathological Changes Associated with Keratoconus. *BioMed Research International*. 2017;2017:7803029.
101. Marino G, Madeo F, Kroemer G. Autophagy for tissue homeostasis and neuroprotection. *Current opinion in cell biology*. 2011; 23(2):198–206. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2010.10.001>.

102. Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell*. 2008; 132(1):27–42. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.12.018>.
103. Kiffin R, Bandyopadhyay U, Cuervo AM. Oxidative stress and autophagy. *Antioxidants & redox signaling*. 2006; 8(1–2):152–62. <https://doi.org/10.1089/ars.2006.8.152>.
104. Martin LM, Jeyabalan N, Tripathi R, Panigrahi T, Johnson PJ, Ghosh A, Mohan RR. Autophagy in corneal health and disease: A concise review. *Ocul Surf*. 2019 Apr;17(2):186-197. doi: 10.1016/j.jtos.2019.01.008.
105. Baeken MW, Weckmann K, Diefenthaler P, Schulte J, Yusifli K, Moosmann B, Behl C, Hajieva P. Novel Insights into the Cellular Localization and Regulation of the Autophagosomal Proteins LC3A, LC3B and LC3C. *Cells*. 2020 Oct 18;9(10):2315. doi: 10.3390/cells9102315.
106. Liu H, Dai C, Fan Y, Guo B, Ren K, Sun T, Wang W. From autophagy to mitophagy: the roles of P62 in neurodegenerative diseases. *J Bioenerg Biomembr*. 2017 Oct;49(5):413-422. doi: 10.1007/s10863-017-9727-7.
107. Miyai T, Vasanth S, Melangath G, et al. Activation of PINK1-Parkin-Mediated Mitophagy Degrades Mitochondrial Quality Control Proteins in Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy. *The American journal of pathology*. 2019;189(10):2061-2076.
108. Ge, P, Dawson, V.L, Dawson, T.M. PINK1 and Parkin mitochondrial quality control: a source of regional vulnerability in Parkinson’s disease. *Mol Neurodegeneration* 15, 20(2020). <https://doi.org/10.1186/s13024-020-00367-7>.
109. Mohammadpour M, Heidari Z, Hashemi H. Updates on Managements for Keratoconus. *J Curr Ophthalmol*. 2017 Dec 6;30(2):110-124. doi: 10.1016/j.joco.2017.11.002.

110. Angelo L, Gokul Boptom A, McGhee C, Ziaei M. Corneal Crosslinking: Present and Future. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*. 2022 Sep 1;11(5):441-452. doi: 10.1097/APO.0000000000000557.
111. Sarac O, Caglayan M, Uysal BS, Uzel AGT, Tanriverdi B, Cagil N. Accelerated versus standard corneal collagen cross-linking in pediatric keratoconus patients: 24 months follow-up results. *Cont Lens Anterior Eye*. 2018 Oct;41(5):442-447. doi: 10.1016/j.clae.2018.06.001.
112. Ng SM, Hawkins BS, Kuo IC. Transepithelial versus epithelium-off corneal cross-linking for progressive keratoconus: findings from a Cochrane Systematic Review. *Am J Ophthalmol*. 2021;229:274–287.
113. Nath S, Shen C, Koziarz A, et al. Transepithelial versus epithelium-off corneal collagen cross-linking for corneal ectasia: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*. 2020;128:1150–1160.
114. Sarac O, Kosekahya P, Caglayan M, Tanriverdi B, Taslipinar Uzel AG, Cagil N. Mechanical versus transepithelial phototherapeutic keratectomy epithelial removal followed by accelerated corneal crosslinking for pediatric keratoconus: Long-term results. *J Cataract Refract Surg*. 2018 Jul;44(7):827-835. doi: 10.1016/j.jcrs.2018.04.039.
115. Sakellaris D, Balidis M, Gorou O, Szentmary N, Alexoudis A, Grieshaber MC, Sagri D, Scholl H, Gatzioufas Z. Intracorneal Ring Segment Implantation in the Management of Keratoconus: An Evidence-Based Approach. *Ophthalmol Ther*. 2019 Oct;8(Suppl 1):5-14. doi: 10.1007/s40123-019-00211-2.
116. Ertan A, Kamburoglu G. Intacs implantation using femtosecond laser for management of keratoconus: comparison of 306 cases in different stages. *J Cataract Refract Surg*. 2008;34:1521–6.

117. Alio' JL, Artola A, Ruiz-Moreno JM, et al. Changes in keratoconic corneas after intracorneal ring segment explantation and reimplantation. *Ophthalmology*. 2004;111:747–51.
118. Kymionis GD, Tsiklis NS, Pallikaris AI, et al. Longterm follow-up of Intacs for post-LASIK corneal ectasia. *Ophthalmology*. 2006;113:1909–17.
119. Jhanji V, Sharma N, Vajpayee RB. Management of keratoconus: current scenario. *Br J Ophthalmol*. 2011;95(8):1044e1050.
120. Pramanik S, Musch DC, Sutphin JE, Farjo AA. Extended long-term outcomes of penetrating keratoplasty for keratoconus. *Ophthalmology*. 2006;113(9):1633e1638.
121. Choi JA, Lee MA, Kim MS. Long-term outcomes of penetrating keratoplasty in keratoconus: analysis of the factors associated with final visual acuities. *Int J Ophthalmol*. 2014;7(3):517e521.
122. Javadi MA, Motlagh BF, Jafarinasab MR, et al. Outcomes of penetrating keratoplasty in keratoconus. *Cornea*. 2005;24(8):941e946
123. Niziol LM, Musch DC, Gillespie BW, Marcotte LM, Sugar A. Long-term outcomes in patients who received a corneal graft for keratoconus between 1980 and 1986. *Am J Ophthalmol*. 2013;155(2):213e219. e213.
124. Leccisotti A, Fields SV. Angle-supported phakic intraocular lenses in eyes with keratoconus and myopia. *J Cataract Refract Surg*. 2003;29(8):1530e1536.
125. Musa FU, Patil S, Rafiq O, Galloway P, Ball J, Morrell A. Long-term risk of intraocular pressure elevation and glaucoma escalation after deep anterior lamellar keratoplasty. *Clin Exp Ophthalmol*. 2012;40(8): 780e785.

126. Kenney MC, Chwa M, Atilano SR, Tran A, Carballo M, Saghizadeh M, et al. Increased levels of catalase and cathepsin V/L2 but decreased TIMP-1 in keratoconus corneas: evidence that oxidative stress plays a role in this disorder. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2005; 46(3):823–32. <https://doi.org/10.1167/iovs.04-0549>.
127. Zhou L, Sawaguchi S, Twining SS, Sugar J, Feder RS, Yue BY. Expression of degradative enzymes and protease inhibitors in corneas with keratoconus. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1998; 39(7):1117–24.
128. Porter K, Nallathambi J, Lin Y, Liton PB. Lysosomal basification and decreased autophagic flux in oxidatively stressed trabecular meshwork cells: implications for glaucoma pathogenesis. *Autophagy*. 2013; 9 (4):581–94. <https://doi.org/10.4161/auto.23568>.
129. Liton PB, Lin Y, Luna C, Li G, Gonzalez P, Epstein DL. Cultured porcine trabecular meshwork cells display altered lysosomal function when subjected to chronic oxidative stress. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2008; 49(9):3961–9. <https://doi.org/10.1167/iovs.08-1915>.
130. Rodríguez-Muela N, Germain F, Mariño G, Fitze PS, Boya P. Autophagy promotes survival of retinal ganglion cells after optic nerve axotomy in mice. *Cell Death Differ*. 2012 Jan;19(1):162-9. doi: 10.1038/cdd.2011.88.
131. Koch J.C., Lingor, P., 2016. The role of autophagy in axonal degeneration of the optic nerve. *Exp. Eye Res*. 144, 81e89.
132. Sparrow JR, Boulton M. RPE lipofuscin and its role in retinal pathobiology. *Experimental eye research*. 2005; 80(5):595–606. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2005.01.007>.
133. Winkler BS, Boulton ME, Gottsch JD, Sternberg P. Oxidative damage and age-related macular degeneration. *Mol Vis*. 1999; 5:32.


134. Twig, G., Elorza, A., Molina, A.J., Mohamed, H., Wikstrom, J.D., Walzer, G., Stiles, L., Haigh, S.E., Katz, S., Las, G., Alroy, J., Wu, M., Py, B.F., Yuan, J., Deeney, J.T., Corkey, B.E., Shirihai, O.S., 2008. Fission and selective fusion govern mitochondrial segregation and elimination by autophagy. *Embo J.* 27, 433e446.
135. Okumura, N.; Hashimoto, K.; Kitahara, M.; Okuda, H.; Ueda, E.; Watanabe, K.; Nakahara, M.; Sato, T.; Kinoshita, S.; Tourtas, T.; et al. Activation of TGF-beta signaling induces cell death via the unfolded protein response in Fuchs endothelial corneal dystrophy. *Sci. Rep.* 2017, 7, 6801.
136. Choi SI, Kim BY, Dadakhujaev S, Oh JY, Kim TI, Kim JY, et al. Impaired autophagy and delayed autophagic clearance of transforming growth factor beta-induced protein (TGFBI) in granular corneal dystrophy type 2. *Autophagy* 2012;8:1782–97.
137. Iqbal O, Fisher G, Vira S, Syed D, Sadeghi N, Freeman D, Campbell E, Sugar J, Feder R, Fareed J, Bouchard C. Increased expression of secreted frizzled-related protein-1 and microtubule-associated protein light chain 3 in keratoconus. *Cornea.* 2013 May;32(5):702-7. doi: 10.1097/ICO.0b013e318282987a.
138. Rabinowitz YS. Tangential vs sagittal videokeratographs in the "early" detection of keratoconus. *Am J Ophthalmol.* 1996 Dec;122(6):887-9. doi: 10.1016/s0002-9394(14)70388-5.
139. Szabo DJ, Nagymihaly R, Vereb Z, Josifovska N, Noer A, Liskova P, et al. Ex vivo 3D human corneal stroma model for Schnyder corneal dystrophy - role of autophagy in its pathogenesis and resolution. *Histol Histopathol* 2018;33:455–62.
140. Yamazoe K, Yoshida S, Yasuda M, Hatou S, Inagaki E, Ogawa Y, et al. Development of a transgenic mouse with R124H human TGFBI mutation

associated with granular corneal dystrophy type 2. PLoS One
2015;10:e0133397.



8. EKLER

8.1. Etik Kurul Onayı



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İL SAĞLIK MÜDÜRLÜĞÜ
Ankara Şehir Hastanesi
1 Nolu Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı

Sayı : E.Kurul –E1-22-2443

2443-no’lu çalışma

Ankara Şehir Hastanesi Göz Hastalıkları Kliniği’nde yapılması planlanan
“Keratokonus Hastalarının Kornea Epitel Hücrelerinde Mitofaji Belirteçlerinin İncelenmesi”
konulu çalışma incelenmiş olup, Etik açıdan oy birliğiyle uygun görülmüştür.

20/04/2022

Etik Kurul Başkanı

Etik Kurul Sekreterliği Üniversiteler Mah. Bilkent Cad. No:1 Çankaya/Ankara İrtibat; Etik Kurul EKadıoğlu
Tel: 0 (312) 552 66 00

8.2.Hasta Değerlendirme Formu

Dr. Ferhan Güler Prof. Dr. Özge Saraç	cross linking
ADI SOYADI:	
YAŞ:	
CİNSİYET:	
K1:	
K2:	
KMAX:	
KMEAN:	
LATERALİTE:	
ALLERJİ:	
AİLE ÖYKÜSÜ:	
MESLEK:	
KK TEŞHİS SRESİ:	
KONİ LOKALİZASYONU:	