



T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ÇUKUROVA BÖLGESİNDEKİ KERATOKONUS OLGULARINDA *VSX1* VE *LOX* GENLERİNİN DİZİLEME YÖNTEMİ İLE ANALİZİ

Dr. Astan İBAYEV

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Meltem YAĞMUR

ADANA – 2021



T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ÇUKUROVA BÖLGESİNDEKİ KERATOKONUS OLGULARINDA *VSX1* VE *LOX* GENLERİNİN DİZİLEME YÖNTEMİ İLE ANALİZİ

Dr. Astan İBAYEV

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Meltem YAĞMUR

Bu tez Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TTU-2020-13368'nolu proje olarak desteklenmiştir.

ADANA – 2021

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam ve uzmanlık eğitim sürecimin her aşamasında bana yol gösteren, değerli öneri ve bilimsel katkılarını esirgemeyen tez danışman hocam Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Meltem YAĞMUR'a,

Uzmanlık eğitimi aldığım 4,5 yıl boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocalarım Prof. Dr. Tevfik Reha ERSÖZ, Prof. Dr. Gülhanım HACIYAKUPOĞLU, Prof. Dr. Ayşe Nihal DEMİRCAN, Prof. Dr. Altan Atakan ÖZCAN, Prof. Dr. Elif ERDEM, Doç. Dr. Selçuk SIZMAZ, Doç. Dr. Ebru ESEN, Dr. Öğr. Üyesi Kemal YAR, Dr. Öğr. Üyesi İbrahim İnan HARBİYELİ ve Öğr. Gör. Dr. Burak ULAŞ'a,

Çalışmamda desteğini esirgemeyen Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Sevcan Tuğ BOZDOĞAN'a

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum sevgili asistan, hemşire, teknisyen ve personel arkadaşlarıma,

Beni bu günlere büyük emek ve özverilerle getiren, hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen anneme ve babama, yaşadığım tüm zorlukları benimle göğüsleyen ve her zaman yanımda olan sevgili eşime sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Astan İBAYEV

Adana- 2021

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİLLER LİSTESİ	v
TABLOLAR LİSTESİ	iv
KISALTMALAR LİSTESİ.....	vi
ÖZET	ix
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Keratokonus	2
2.1.1. Tarihçe	2
2.1.2. Keratokonus Tanımı	2
2.1.3. Keratokonus Epidemiyolojisi	3
2.1.4. Histopatolojik değişiklikler	4
2.1.4.1. Epitel.....	5
2.1.4.2. Bowman tabakası.....	5
2.1.4.3. Sinir lifleri	6
2.1.4.4. Stroma.....	6
2.1.4.5. Descemet membran	7
2.1.4.6. Endotel.....	7
2.1.5. Keratokonus Etyopatogenez	8
2.1.5.1. Genetik Faktörler	8
2.1.5.2. Çevresel Faktörler	14
2.1.5.3. Enflamasyon	16
2.1.5.4. Enzimler	18
2.1.5.5. Oksidatif stres	20
2.1.5.6. Hormonlar.....	24
2.1.5.7. İlişkili hastalıklar	26
2.1.6. Keratokonus tanısı	28
2.1.6.1. Eksternal bulgular.....	28

2.1.6.2. Biyomikroskopik bulgular	29
2.1.6.3. Retinoskopik bulgular.....	32
2.1.6.4. Keratokonusta yardımcı tanı yöntemleri	32
2.1.6.5. Topografik Ölçek ve Haritalar.....	35
2.1.6.6. Keratokonusla ilişkili topografik bulgular.....	37
2.1.7. Ayırıcı tanı	40
2.1.8. Keratokonus sınıflandırılması	43
2.1.8.1. Morfolojik sınıflanma.....	44
2.1.8.2. Keratometrik sınıflanma	44
2.1.8.3. Amsler-Krumeich sınıflaması	45
2.1.8.4. Alio-Shabayek Sınıflaması	46
2.1.8.5. Belin ABCD Sınıflaması	46
2.1.8.6. CLEK (Colloborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus Study Group) Sınıflaması.....	47
2.1.9. Tedavi	49
2.1.9.1. Refraktif Düzeltme	49
2.1.9.2. Cerrahi tedavi.....	49
3. GEREÇ ve YÖNTEM	53
4. BULGULAR.....	57
5. TARTIŞMA	64
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	70
KAYNAKLAR	71
EKLER	92
Ek-1. Aydınlatılmış Onam Formu.....	92
Ek-2. Etik Kurul Onayı	94
ÖZGEÇMİŞ	95

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil No :	Sayfa No:
Şekil 1. Keratokonusun ayırt edici özelliği olan, konik şeklinde kornea çıkıntısı.....	3
Şekil 2. Korneadaki kollajen dağılımını gösteren diyagram (1).....	12
Şekil 3. Keratokonusta miktarı değişen sitokinler ve büyüme faktörleri (147).....	16
Şekil 4. Munson belirtisi	29
Şekil 5. Rizutti fenomeni.....	29
Şekil 6. Fleischer halkası.....	30
Şekil 7. Vogt striaları	30
Şekil 8. Stromal incelme	31
Şekil 9. Korneal hidrops.....	31
Şekil 10. Korneal skar	32
Şekil 11. PMCD hastanın ön segment fotoğrafında dikleşme alanı ve ön segment OKT’de bu dikleşme alanının altında incelme görülmektedir.....	41
Şekil 12. PMCD tanıli hastanın topografisinde yengeç kısıkcı bulgusu görünümü.....	42
Şekil 13. LASIK sonrası keratokonus gelişen bir hastanın topografisi	43
Şekil 14. Olgu 8’in sağ (a) ve sol (b) göz ön segment fotoğrafı.....	59
Şekil 15. Olgu 8’in sağ göz kornea topografisi	59
Şekil 16. Olgu 8’in sol göz kornea topografisi.....	60
Şekil 17. VARSOME veri tabanına göre 8. olguda saptanan varyant hakkında temel bilgiler özetlenmiştir.....	60
Şekil 18. Olgu 23’ün sağ (a) ve sol (b) göz ön segment fotoğrafları.....	61
Şekil 19. Olgu 23’ün sağ göz kornea topografisi	62
Şekil 20. Olgu 23’ün sol göz kornea topografisi	62
Şekil 21. VARSOME veri tabanına göre 23. olguda saptanan varyant hakkında temel bilgiler özetlenmiştir.....	63

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo No :

Sayfa No :

Tablo 1. Keratokonusla beraber görülebilen sistemik hastalıklar	28
Tablo 2. Amsler-Krumeich keratokonus sınıflaması.....	45
Tablo 3. ABCD Keratokonus Evrenmesi	47
Tablo 4. CLEK sınıflaması	48
Tablo 5. Çalışmaya dahil edilen hastaların demografik özellikleri	57
Tablo 6. VSX1 geninde saptanan mutasyonlar	58



KISALTMALAR LİSTESİ

ACGM	: The American College of Medical Genetics and Genomics
ACXL	: Hızlandırılmış Kornea Kollajen Çapraz Bağlama
AGENTEM	: Adana Genetik Hastalıklar Tanı ve Tedavi Merkezi
AKb	: Arka apikal keratoskopi
AKf	: Ön apikal keratoskopi
ALDH3	: Aldehit Dehidrogenaz 3
AQP5	: Aquaporin 5
AST	: Astigmatizm İndeksi
ATP	: Adenozin Trifosfat
BCV	: Baiocchi-Calossi-Versaci indeksi
BFS	: Best Fit Sphere
BKC	: Brittle Kornea Sendromu
BMP-1	: Kemik Morfogenetik Protein-1
CLEK	: Colloborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus Study Group
COL4A3	: Kollajen tip IV, alfa-3
COL4A4	: Kollajen Tip IV, Alfa-4
COL8A1	: Kollajen Tip VIII, Alfa 1
COL8A2	: Kollajen Tip VIII, Alfa 2
CorVis ST(CST)	: Corneal Visualization Scheimpflug Technology
CXL	: Kornea Kollajen Çapraz Bağlama
ÇÜTF	: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
D	: Diyoptri
DALK	: Derin Anterior Lameller Keratoplasti
DHEA-S	: Dehidroepiandrosteron Sülfatın
EDGK	: En İyi Düzeltilmiş Görme Keskinliği
eNOS	: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
ESM	: Ekstrasellüler Matriks
FES	: Gevşek Göz Kapağı Sendromu
GİL	: Göz İçi Lens
GSH-Px	: Glutatyon Peroksidaz

GST	: Glutasyon Transferaz
GWAS	: Genome-wide association studies
HGF	: Hepatosit Büyüme Faktörü
ICRS	: İntrastromal Kornea Halka Segmentleri
I-CXL	: İyontoforez yardımcı transepitelyal CXL
IL	: İnterlökin
IPO5	: İmportin 5
ISV	: Yüzey Varyansı İndeksi
IVA	: Vertikal Asimetri İndeksi
IVF	: İn Vitro Fertilizasyon
K1	: Düz Keratometri
K2	: Dik Keratometri
KI	: Keratokonus İndeksi
KISA	: Keratokonus Yüzde İndeksi
Km	: Ortalama Keratometri
Kmax	: Maksimum Keratometri
KVb	: Arka Keratokonus Verteksi
KVf	: Ön Keratokonus Verteksi
LASIK	: Laser assisted in situ keratomileusis
LogMAR	: Logarithm of the Minimum Angle of Resolution
LOX	: Lizil Oksidaz
MDA	: Malondialdehit
MiR-184	: mikroRNA
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
mRNA	: Messenger RNA
mtDNA	: Mitokondriyal DNA
MVP	: Mitral Kapak Prolapsusu
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
Nox	: NADPH oksidaz
NT	: Nitrotirozin

OKT	: Optik Koherens Tomografi
ORA	: Ocular Response Analyser
PKP	: Penetran Keratoplasti
PPCD	: Posterior Polimorföz Kornea Distrofisinde
PRK	: Photorefractive Keratectomy
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
R	: Eğrilik Yarıçapı
RK	: Radial Keratektomi
RMS/A	: Root Mean Square of Higher-Order Aberrations
RNS	: Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SD-OKT	: Spectral Domain- OKT
SGGKL	: Sert Gaz Geçirgen Kontakt Lens
Sİb	: Arka Yüzey Kurvatür Haritasında Simetri Endeksi
Sİf	: Ön Yüzey Kurvatür Haritasında Simetri Endeksi
SimK	: Simulated Keratometry
SNP	: Tek Nükleotid Polimorfizmi
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SRAX	: Skewed Radial Axis
STK24	: Serine/Threonine Kinase 24
TGFβ1	: Transforming Growth Factor Beta 1
TIMP	: Matriks metalloproteinaz doku inhibitörü
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör- alfa
UV	: Ultraviyole
VARSome	: The Human Genomic Variant Search Engine
VEGF	: Vasküler endotelial büyüme faktörü
VSX1	: Visual System Homeobox 1
VUS	: Variants of Uncertain Significance
YKL	: Yumuşak Kontakt Lens
ZNF469	: Zinc Finger Protein
µm	: Mikrometre

ÖZET

Çukurova Bölgesindeki Keratokonus Olgularında VSX1 ve LOX Genlerinin Dizileme Yöntemi ile Analizi

Amaç: Çukurova bölgesinde keratokonuslu olgularda Visual System Homeobox 1 (*VSX1*) ve Lizil Oksidaz (*LOX*) genlerini taramak ve hastalığın genetik temelini ortaya koymak

Gereç ve Yöntem: Biyomikroskopik muayene ve topografik bulgulara dayanarak keratokonus tanısı konulan 30 hasta çalışma kapsamına alındı. Hastaların periferik kan örneklerinden DNA izolasyonu, otomatize sistem (QiaCube, Qiagen) aracılığıyla ilgili kitler kullanılarak yapıldı. DNA fragmentasyon ve barkodlama işleminin ardından ilgili gen bölgeleri multipleks polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılarak hedef bölgelerin zenginleştirilmesi sağlandı. Elde edilen PZR ürünleri saflaştırma işlemleri sonrası yeni nesil dizileme cihazında (Illumina MiSeq- San Diego, ABD) dizilendi. Saptanan varyantlar, biyoinformatik algoritması uygun olarak analiz edildi.

Bulgular: Hastaların 14'ü (%46,7) erkek, 16'sı (%53,3) kadın olmakla, ortalama yaşları $28,63 \pm 10,93$ (12-52) idi. Yeni nesil dizileme yöntemi ile 2 hastada 2 farklı varyant: *VSX1* geninde ekzon 1'de p.G38D ve intron 4'de c.808+17G>A heterozigot mutasyonları bulundu. Bu iki yeni mutasyon bazı biyoinformatik analiz sonuçlarına göre patojen olsa da her iki genetik varyant VARSOME (*The Human Genomic Variant Search Engine*) veri tabanındaki tüm analizler göz önüne alındığında VUS (*variants of uncertain significance*) olarak sınıflandı. *LOX* geninde herhangi bir mutasyon saptanmadı.

Sonuç: Çalışmamızda *VSX1* geninde saptanan mutasyonlar literatürde ilk kez tanımlanmaktadır. Saptanan bu mutasyonların keratokonusun genetik temelini anlaşılmasına yönelik gelecekteki çalışmalara yol gösterici olacağını düşünmekteyiz. Çalışmamız keratokonus patogeneğinde *LOX* geninin rolünü araştırarak ileri çalışmalarda, daha geniş olgu sayılarına ihtiyaç duyulacağına dair öngörü sağlayabilir. Diğer yandan çalışmada 30 keratokonus hastasında sadece 2 hastada mutasyon saptanması, keratokonusun genetik heterojenliğini destekler niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: Keratokonus; Yeni nesil dizileme; *VSX1*; *LOX*

ABSTRACT

Sequencing Analysis of VSX1 and LOX Genes in Cases with Keratoconus in the Cukurova Region

Purpose: To screen Visual System Homeobox 1 (*VSX1*) and Lysyl Oxidase (*LOX*) genes in cases with keratoconus in the Cukurova region and to reveal the genetic basis of the disease.

Materials and Methods: Thirty patients diagnosed with keratoconus based on slit-lamp examination and topographic findings were included in the study. DNA isolation from peripheral blood samples of the patients was performed by using the relevant kits via an automated system (QiaCube, Qiagen). After DNA fragmentation and barcoding, the relevant gene regions were amplified by multiplex polymerase chain reaction (PCR) to enrich the target regions. The obtained PCR products were sequenced in a new generation sequencing device (Illumina MiSeq- San Diego, USA) after purification. Detected variants were analyzed in accordance with the bioinformatics algorithm.

Results: Of the patients, 14 (46.7%) were male and 16 (53.3%) were female, with a mean age of 28.63 ± 10.93 (12-52). With the new generation sequencing method, 2 different heterozygous variants were found in 2 patients: p.G38D mutations in exon 1 and c.808+17G>A mutations in intron 4 of the *VSX1* gene. Although these two new mutations are pathogenic according to some bioinformatics analysis results, both genetic variants were classified as VUS (variants of uncertain significance) considering all analyzes in the VARSOME (The Human Genomic Variant Search Engine) database. No mutation was detected in the *LOX* gene.

Conclusion: Mutations detected in the *VSX1* gene in our study are reported for the first time in the literature. We think that these detected mutations will guide future studies to understand the genetic basis of keratoconus. Our study may provide a prediction that larger case numbers will be needed in further studies that will investigate the role of the *LOX* gene in the pathogenesis of keratoconus. On the other hand, the detection of mutations in only 2 patients out of 30 keratoconus patients in the study supports the genetic heterogeneity of keratoconus.

Keywords: Keratoconus; Next-generation sequencing; *VSX1*; *LOX*

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Keratokonus korneanın ilerleyici incilmesi ile karakterize, genellikle iki taraflı, asimetrik tutulum yapan ve korneanın konik şekil alması ile sonuçlanan bir hastalıktır (1). Hastalığın prevalansı çeşitli etnik gruplar içerisinde farklılık göstermektedir. Genel popülasyonda hastalığın tahmini insidansı 1/500-2000, prevalansı ise 54/100000 'dür(1, 2). Keratokonus görme keskinliğinde azalma ve yaşam kalitesinde düşme ile ilişkili olup kornea nakli için en önemli endikasyonlardan biridir (3). Ayrıca bu hastalık esas olarak çalışma çağındaki yetişkinleri etkilediğinden halk sağlığı açısından önemlidir.

Hastalığın etyolojisi ve patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Genetik ve çevresel faktörlerin hastalığın ortaya çıkmasında bir arada rol aldıkları düşünülmektedir (4). Vakaların çoğu sporadik olmasına rağmen, hastalık kalıtsal özellik de gösterebilir. Keratokonus hastalarının yaklaşık %6-23,5'inde aile öyküsü (otozomal dominant veya resesif kalıtım paterni) mevcuttur (1, 5-8) Keratokonus ile ilişkili birçok gen tanımlanmış olsa da halen farklı etnik gruplarda yapılacak çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

VSX1 ve *LOX* genleri farklı çalışmalarda keratokonus hastalığı ile ilişkisi araştırılmış genlerdir. Bunlar içerisinde *VSX1* geni, literatürde değerlendirildiği çalışma sayısı açısından öne çıkmaktadır, ayrıca bir çalışmada Türk toplumunda da araştırılmış ve üzerinde 2 farklı mutasyon tespit edilmiştir (9). *LOX* geni ise literatürde keratokonus ile ilişkisi yoğun olarak çalışılan, güncel çalışmalarda yer bulan ancak rutin tarama için henüz kullanılmayan bir gendir. Keratokonus ile ilişkisi araştırılan genler içerisinde hastalıkla ilişkili olması en muhtemel genlerden biri olması açısından önem arz etmektedir ve Türk toplumunda daha önce hiç çalışılmamıştır. Bu çalışmanın amacı Çukurova bölgesinde keratokonusun genetik temelini araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Keratokonus

2.1.1. Tarihçe

Yunanca *kerato* (boynuz, kornea) ve *konos* (koni) kelimelerinden meydana gelen keratokonus, tarihsel olarak farklı terimlerle (*hyperkeratosis*, *ochlodes*, *conical formed cornea*, *sugar loaf cornea*, *cornée conique*, *staphyloma transparent de la cornée*, *cornea conica*, *staphyloma pellucidum*, *prolapses corneae*, *staphyloma pellucidum conicum*, *staphyloma corneae totale conicum pellucidum*, *staphyloma diaphanum*, *procidentia corneae*, *keratoncus*, *staphyloma conicum corneae pellucidum*) anılmıştır (10).

1736 yılında Benedikt Dudell 14 yaşında bir hastada keratokonusun erken bir tanımı olabilen "korneaları koni gibi çok çıkık " kelimelerini kullanmıştır. 1748'de Burkard David Mauchart keratokonusu "Staphyloma Diaphanum" olarak adlandırmıştır. İngiliz doktoru William MacKenzie'nin 1830 tarihinde yazmış olduğu "Practical Treatise on the Diseases of the Eye" adlı kitabında konik korneadan bahsetmiştir. Alman göz hekimi von Ammon keratokonusu "Stafiloma pellucidum" olarak adlandırmıştır. Korneal çıkıntının opak, geri kalanının ise şeffaf olduğunu, merkezi görme keskinliğinin genellikle miyopi, çift görme ve diskromatopsi ile birlikte azaldığından bahsetmiştir. John Nottingham tarafından 1854'te yazılan "Practical Observations on the Conical Cornea" adlı eseri keratokonus hakkında ilk detaylı çalışma olarak geniş çapta kabul görmüştür. 1869'da İsviçreli göz hekimi Johann Horner'in yazdığı "Treatment of Keratoconus" tezinde hastalık keratokonus olarak adlandırılmıştır (10).

2.1.2. Keratokonus Tanımı

Keratokonus korneanın ilerleyici incilmesi ile karakterize, genellikle iki taraflı, asimetrik tutulum yapan ve korneanın konik şekil alması ile sonuçlanan noninflamatuvar ektatik hastalıktır (1, 11). Korneanın en sık görülen ektazisidir (2, 12). Korneal incelmenin en sık korneanın inferotemporal kadranında görülmekle birlikte, inferior, santral veya superior bölgelerinde de geliştiği gösterilmiştir (13-15). Bu incelme,

konikleşme düzensiz astigmatizma ve miyopiye neden olarak, görme kalitesinde hafif veya ciddi derecede bozulmaya yol açabilir (Şekil 1) (4).



Şekil 1. Keratokonusun ayırt edici özelliği olan, konik şeklinde kornea çıkıntısı

2.1.3. Keratokonus Epidemiyolojisi

Hastalığın daha iyi anlaşılması ve yeni görüntüleme yöntemlerinin ortaya çıkmasıyla, geçmişe göre daha sık ve daha erken teşhis edilmektedir. Keratokonus prevalansı, coğrafi konuma, kullanılan tanı kriterlerine ve seçilen hasta grubuna bağlı olarak büyük ölçüde değişir (16). Yapılan çalışmalarda keratokonus prevalansının Rusya'da 0,3/100000, Merkezi Hindistan'da 2300/100000, Birleşik Krallık'ta 1/100000, Finlandiya'da 2,2/100000, Hollanda'da 2,5/100000, Yeni Zelanda'da 50/100000, Suudi Arabistan'da 20/100000 olarak bildirilmiştir (17-19). ABD'de (Minnesota) retinoskopi ve keratometri kullanılarak hastalığın prevalansının 54/100000 olduğu gösterilmiştir (2). Tanıda Placido diski kullanılan ilk popülasyon temelli çalışmada hastalığın insidansı 600/100000 olarak bildirilmiştir (20). Hollanda'da yaklaşık 4,4 milyon kişiden elde edilen sağlık sigortası bilgilerini kullanarak 10-40 yaş arası hastalarda keratokonus insidansı 1:7500 (genel popülasyonda 1:375) belirlenmiştir (5).

Gözü ovuşturan hastalarda, atopi, oküler alerjiler, Down sendromu ve Leberin tapetoretinal dejenerasyonları olanlarda daha yüksek bir keratokonus insidansı mevcut (4).

Çevresel faktörler hastalığın prevalansında geniş değişikliklere neden olabilmektedir. Hindistan ve Orta Doğu gibi bol güneşli ve sıcak havaya sahip coğrafik

bölgelerde, soğuk iklime ve daha az güneş ışığına sahip Finlandiya, Danimarka, Japonya ve Rusya gibi ülkelere göre keratokonus prevalansı daha yüksektir (17-19, 21). Görülen bu prevalans farkı, ultraviyole (UV) ışık kaynaklı oksidatif stresin hastalığın patogenezinde rol oynadığını düşündürmektedir (22).

Etnik farklılıklar, keratokonus prevalansındaki farklılıkları açıklayabilir. Birleşik Krallık'tan yapılan iki araştırmada, beyaz (Kafkas) ırka kıyasla Asyalılarda (Hint'li, Pakistan'lı ve Bangladeş'li) prevalansın 4,4-7,5 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir. Her iki çalışmada da Asya'lı hastaların çoğunun anne, babasının akraba olduğu ve beyaz ırka göre atopi öyküsünün daha az olduğu görülmüştür (23, 24)

Keratokonus her iki cinsiyeti de etkiler, ancak erkekler ve kadınlar arasında önemli farklılıklar olup olmadığı belirsizdir (13). 1970'lerden sonra yayınlanan makalelerin çoğu kadınlara göre erkeklerin üstünlüğünü gösterirken, bu tarihten önce yapılan çalışmalarda tersi bildirmiştir. Bazı çalışmalarda ise prevalansta cinsiyetler arasında anlamlı farklılıklar bulunamamıştır (25). Krachmer ve arkadaşları, kadınlarda prevalansın yüksekliğini bildirmişlerdir (4). Bazı araştırmacılar ise bu oranın erkeklerde daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (2, 5, 26). Yapılan bir meta-analiz çalışmasında ise cinsiyet bildiren yayınlarda keratokonus prevalansı erkeklerde 20,6/1000, kadınlarda ise 18,33/1000'de olarak bildirilmiştir (27).

2.1.4. Histopatolojik değişiklikler

Kornea altı farklı tabakadan oluşur: (1) dış tabaka skuamöz keratinize olmayan epitel; (2) Bowman tabakası; (3) keratositler içeren bağ dokusundan zengin stroma; (4) Dua tabakası; (5) Descemet membranı ve (6) küboidal tek tabakalı endotel (28, 29). Kornea önden gözyaşı filmi, arkadan ise hümör aköz ile çevrilidir. Kornea şekli ve şeffaflığının korunması, gözün kırma gücünü optimize etmek için kritik öneme sahiptir. Keratokonus hastalarında majör morfolojik ve mikroskopik kornea değişikliklerini değerlendirmek için çeşitli farklı teknikler kullanılmıştır (30-33). Korneayı in vivo incelemek için ışık mikroskobu, konfokal mikroskopi ve optik koherens tomografi (OKT) kullanılırken, in vitro araştırmak için elektron ve ışık mikroskobu kullanılmıştır.

Histopatolojik olarak, keratokonusu karakterize eden üç tipik bulgu vardır: (1) stromal kornea incilmesi; (2) Bowman tabakasında rüptürler (kırılmalar); ve (3) kornea

epitelinin bazal membranında demir birikimi (1). Ek olarak, farklı kornea tabakaları için de spesifik morfolojik değişiklikler bildirilmiştir.

2.1.4.1. Epitel

Kornea epiteli, su ve çözünür maddeler için difüzyon ve mikroorganizmalar için mekanik bariyer olarak işlev görür. İnsan vücudunda en yüksek innervasyona sahip dokulardan biridir ve kornea kalınlığının yaklaşık %10'unu oluşturur. Kornea epiteli, 4-6 hücre katmanından oluşan ve tipik olarak 40-50 µm kalınlığında lipofilik, keratinize olmayan, çok katlı yassı epiteldir. Epitel hücreleri birbirine ve bazal membrana sıkıca yapışır. Hücrelerinin ortalama ömrü 7-10 gün olup, rutin olarak düzenli involüsyon, apoptoz ve deskuamasyona uğrarlar. Bu fizyolojik süreçler sonucu epitel tabakası her hafta tam olarak değişir (34).

Keratokonus hastalarında bazal epitel hücreleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında genişleme, düzenin kaybolduğu ve hücre yoğunluğunda anlamlı bir azalma olduğu bildirilmiştir (30, 35, 36). Bitirgen ve arkadaşları, konfokal mikroskopide, hastalığın şiddeti arttıkça ortalama bazal epitel hücre yoğunluğunda önemli bir azalma geliştiğini bildirmişler (30). Farklı çalışmalarda kontrol grubuna göre kornea epitelinde önemli bir değişiklik olmadığı veya kalınlaşma görüldüğü bildirilmiştir (37, 38).

Optik koherens tomografi tabanlı kornea topografi ile keratokonusta epitel kalınlığını değerlendiren çalışmalarda, epitelin normal popülasyonla kıyaslandığında, belirgin olarak daha düzensiz ve santral incelme bölgesini çevreleyen, kalın epitel halkası ile karakterize patern (doughnut patern) gösterdiği bulunmuştur (39, 40). Zhou ve arkadaşları, SD-OKT (spectral domain- OKT) yardımı ile keratokonus hastalarının kornea epitel ve stroma kalınlığını kontrol grubu ile karşılaştırmışlar. Epitel ve stroma, kontrol grubuna göre alt temporalde daha ince ve üst nazal ise daha kalın bulunmuştur. Epitelde stromaya göre daha belirgin olan bu paternin, keratokonusa özgü olabileceği öne sürülmüştür (41).

2.1.4.2. Bowman tabakası

Bowman tabakası, kornea epiteli ve stroma arasındaki arayüzde asellüler bir kollajen fibril matriksidir. Bu pürüzsüz tabaka yaklaşık 15 µm kalınlığındadır ve

korneanın şeklini korumasına yardımcı olur. Hasar gördüğünde yenilenmez ve skar oluşturabilir (34).

Bowman tabakası, tipik olarak asellüler olmasına rağmen, keratokonusta, epitel de dahil olmak üzere hücresel bileşenler gözlenmiştir (42). Bowman tabakasında rüptürler ve ön stromada proliferatif kollajenöz skar dokusu görülmüştür (35).

İzole Bowman tabaka transplantasyonu ileri evre keratokonuslu gözlerde erken postoperatif dönemde ektaziyi azaltmış ve stabilize etmiştir (43). Bu çalışmanın devamı olarak transplantasyondan 5 yıl sonra yapılan topografilerde postoperatif oluşan korneal düzleşmenin stabil seyrettiği, en iyi düzeltilmiş görme keskinliği ve kontakt lens toleransının korunduğu gösterilmiştir (44). Sonuç olarak bu hastaların penetran (PKP) veya derin anterior lameller keratoplasti (DALK) ihtiyacı azalmıştır (44). Bowman tabakasının keratokonus patogenezinin katkısı kesin olarak bilinmemektedir.

2.1.4.3. Sinir lifleri

Biyomikroskopik muayenede belirgin kornea sinirleri, keratokonusun karakteristik belirtilerinden biridir (45). Artan sinir görünürlüğünün, kornea incilmesi sonucu geliştiği öne sürülmüştür (4). Daha sonra, Simo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise keratokonik kornealarda sinir yoğunluğunda önemli azalma, stromadaki sinir liflerinin ortalama çapında ise artış olduğu görülmüştür (46). Bundan başka, kornea sinirlerinde farklı morfolojik anormallikler de tanımlanmıştır. Ektatik kornea alanında azalmış merkezi sinir lifi yoğunluğu ve subbazal korneal sinir pleksusunda (Bowman tabakası ile bazal epitel arasında yer alır) parçalanma ile birlikte, çoğu kapalı ilmek oluşturan tortüöz sinir lifleri görülmüştür (47). Asellüler Bowman tabakasındaki kırılmaların yakınında, anterior keratositlerin sinirleri sardığı ve kalınlaşmaya neden olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda epitel içinde de lokalize sinir kalınlaşmaları görüntülenmiştir (48).

2.1.4.4. Stroma

Stroma, kornea kalınlığının yaklaşık %90'nını oluşturur. Çok sayıda kollajen lameller, keratosit ve ara maddeden oluşmaktadır. Keratositler, lameller arasında bulunan özel mezenkimal hücrelerdir. Stromal hacmin %10'unu oluşturan keratositler, ekstrasellüler matriksin (ESM) üretimi ve korunmasını sağlar. Kornea kollajen

fibrillerinin benzer boyutları ve birbirlerine olan mesafeleri oldukça belirlidir ve bu düzen korneanın saydamlığından sorumludur (34). Bu düzendeki bozulmalar, kornea opaklaşmasına neden olabilir.

Keratokonusta kollajen lamel ve keratositlerin sayının azaldığı bildirilmiştir (49-51). Normal korneaya göre keratokonik korneada kollajen lamellerin genişliğinin önemli ölçüde daha büyük ve açısının daha küçük olduğu gösterilmiştir (49). Transmission elektron mikroskopik değerlendirmede ön stromada, keratosit olmadığı düşünülen çok sayıda hücre ve doku debris gösterilmiştir (33). Bu hücreler, muhtemelen lökositler olup, katabolik enzimlerin artışına neden olarak kollajen matrisin bozulmasına yol açabilirler.

2.1.4.5. Descemet membran

Gerçek bir bazal membran olup, tip IV kollajenden zengindir. Doğumda Descemet membran 3-4 µm kalınlığındadır ve yaşla birlikte artarak yetişkinlerde 10-12 µm'ye ulaşır.

Descemet membranı keratokonusta tipik olarak değişmez. Ancak, in vivo konfokal mikroskopide keratokonus hastalarında Descemet membranda kıvrımlaşma gibi yapısal değişiklik bildirilmiştir (38). Descemet membranında vertikal rüptürler gözlenmiştir (52). Bu rüptürler sonucu aköz hümörün kornea epitel ve stromaya girmesiyle, keratokonus için ciddi bir komplikasyon olan akut kornea hidropsu gelişmektedir (52).

2.1.4.6. Endotel

Kornea endoteli, nöral krest kökenli tek katlı hekzagonal hücre tabakasından oluşur. Endotel hücreleri esas olarak stromanın su içeriğini düzenleyerek, korneal saydamlığı sağlar (34). Genç erişkin gözlerde kornea santralinde yaklaşık 3000/mm² endotel hücresi bulunur. Endotel mitozu insanlarda sınırlıdır ve toplam endotel hücre sayısı yaşla birlikte azalır (53).

Yapılan bazı çalışmalarda keratokonik kornea endotel yoğunluğunda anlamlı bir değişiklik görülmemiştir (36, 54, 55). Keratokonusun şiddeti arttıkça endotel hücre yoğunluğunun azaldığı ve varyasyon katsayısının ise önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir (56). İn vivo konfokal mikroskopide keratokonus hastalarında pleomorfizm, endotel

hücrelerinin genişlemesi ve endotelyal guttata gibi değişikliklere birlikte, endotel hücre yoğunluğunun da azaldığı bildirilmiştir (38, 50). Bu çalışmaların aksine, Hollingsworth ve arkadaşları, keratokonusunda ortalama endotel hücre yoğunluğunun normal kontrol grubundan %6 daha fazla olduğunu bildirmişler (57).

2.1.5. Keratokonus Etiyopatogenezi

Keratokonusun nedeni ve altında yatan patolojik mekanizması kesin olarak bilinmemekle birlikte, genetik ve çevresel faktörlerin rol aldığı multifaktöriyel bir hastalıktır. Vernal keratokonjonktivit, Leber'in tapetoretinal dejenerasyonu, retinitis pigmentosa ve gevşek göz kapağı gibi oküler hastalıklarla ilişkilendirilebilir. Atopik hastalık, Down sendromu, Ehlers-Danlos sendromu, osteogenezis imperfekta, uyku apnesi ve mitral kapak prolapsusu (MVP) gibi sistemik hastalıklarla da ilişkili olabilir.

Daha önce keratokonusun nonenflamatuar bir hastalık olduğu düşünülse de yapılan bazı araştırmalarda klinik ve subklinik keratokonus hastalarının gözyaşlarında sitokinler, matriks metalloproteinaz (MMP) -9 ve interlekin 6 (IL-6) gibi enflamatuar mediatörlerin arttığı gösterilmiştir (58, 59).

Keratokonus için çoklu kromozomal lokuslar bildirilmiştir, ancak spesifik genler hala belirlenmemiştir (60).

Keratokonusun patogenezi için histokimya, biyomekanik, enzimoloji, proteomik ve moleküler genetik araştırmaları mevcuttur (61).

2.1.5.1. Genetik Faktörler

Literatürde genetik faktörlere dair çok fazla çalışma vardır. Genellikle sporadik olmasına rağmen, 1209 hastanın dahil edildiği bir çalışmada olguların %14'ünde ailede keratokonus öyküsü mevcuttu (62). Yayımlanan birçok makalede ailesel prevalansının %6-8 olduğu bildirilmektedir (5, 63, 64). Topografik görüntüleme yöntemleri ve tanı tekniklerindeki gelişmeler, forme fruste gibi subklinik (suspekt) keratokonus hastalarında belirlenmesi ile bu oran değişmektedir. İoti ve arkadaşları, Japonya'da topografi (Orbscan) ile keratokonus hastalarında aile üyelerinin %60,2'sinde keratokonus veya keratokonus *suspekt* paternleri bulmuşlar (65). Wang ve arkadaşları tarafından 95 keratokonus ailesi üzerinde yapılan çalışmada, birinci derece akrabalarda

keratokonus prevalansının %3,34 olduğu ve bunun genel popölasyona göre 15- 67 kat arttığı gösterilmiştir (6).

Ailesel keratokonusun çoğunluğu otozomal dominant bir patern yoluyla kalıtılır (8, 63). Hastalık monozigot yumurta ikizlerinde ve birçok ailenin farklı jenerasyonlarında görölmüştür (64, 66). Monozigotik ikiz çalışmaları, hastalık patogenezinde genetik ve çevresel faktörleri değerlendirmek için araştırma modeli oluşturmaktadır.

Aday genlerin mutasyon analizi (Mutation analysis of candidate genes):

Patogenezinde çeşitli hipotezlerin bildirildiği keratokonus gibi bir hastalık için, aday genlerin seçilmesi oldukça zordur. Bilidirilen önemli aday genlere örnek olarak *VSX1*, *TGFβ1* (transforming growth factor beta 1), miR-184 (MikroRNA), *DOCK9* (dedicator of cytokinesis 9), *ZNF469* (zinc finger protein), importin 5 (*IPO5*), *STK24* (serine/threonine kinase 24), süperoksit dismutaz 1 (*SOD1*), *LOX*, *COL8A1*, *COL4A3* ve *COL4A4*, Aquaporin 5 (*AQP5*) gösterilebilir.

***VSX1* geni**, 20p11 – q11 kromozomunda bulunur. Oküler ve kraniyofasiyal gelişimde hücrelerin farklılaşmasından sorumlu olan homeodomain transkripsiyon faktörü olarak görev yapan bir proteini kodlar (67). Yetişkin insan korneasında yara iyileşme sırasında artan ekspresyonu ve posterior polimorföz kornea distrofisinde (PPCD) rolü nedeniyle keratokonusa aday gen olarak gösterilmiştir (68, 69). Keratokonus patogenezinde genetik nedenleri araştıran çalışmalar arasında çelişkili sonuçlarına rağmen, en çok değerlendirilen gendir. Farklı çalışmalarda D144E, G160D, P247R, L159M, R166W ve H244R gibi *VSX1*'in çeşitli mutasyon varyantları bildirilmiştir, ancak bunların kesin patojenik rolü henüz belirlenmemiştir (70, 71). Yapılan deneysel bir çalışmada *VSX1* gen alanı olmayan farelerin korneasının histolojik analizlerinde patolojik değişiklikler gösterilmemiştir (72).

Bazı çalışmalarda *VSX1*'deki mutasyonların keratokonus ve diğer kornea distrofilere ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (70, 71, 73, 74). Bununla birlikte, birçok çalışmada herhangi bir potansiyel *VSX1* mutasyonu tanımlanmamıştır (75-77). *VSX1*'deki mutasyonların keratokonus patogenezinde katkıda bulunup bulunmadığı belirsizliğini korumakta olup farklı popölasyonlarda daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

TGFβ1 tip I, II ve IV kollajenlere bağlanarak hücre-kollajen etkileşimlerinde rol oynayan big-h3 proteinini kodlayan diğer bir aday gendir (78). Myofibroblast transformasyon ve proliferasyonunda, ESM oluşumunda, yara iyileşmesinde, keratosit aktivasyonunda, kemotaksiste ve korneal distrofilerde rol oynar (79, 80). Big-h3 protein, keratokonus hastalarının ESM ve epitelinde azalmış bulunmuştur (81). *TGFβ1*'in ekzon 12'sinde yer alan nokta mutasyonu (G535X) Çinli bir hastada bildirilmiştir (78). Korneal skar gelişen hastalarda da keratokonusta olduğu gibi yüksek *TGFβ1* ekspresyon seviyeleri bulunmuştur (82).

MiR-184 bir mikroRNA'dır. MicroRNA'lar 19-25 nükleotid uzunluğunda küçük düzenleyici RNA zincirleridir. Çoğunlukla hedef genlerin mRNA'sının 3' translyona uğramamış bölgesinde (UTR) tamamlayıcı sekanslara bağlanır ve mRNA bozulmasına veya translyonel baskılanmaya yol açarlar (83, 84). Kornea endoteli, epitel bazal ve suprabazal hücrelerinden, lensten eksprese edilmiş, ancak limbus veya konjonktiva epitelinde bulunamamıştır (85-87). Keratokonus hastalarında bulunan karakteristik mutasyon (c.57C>T), 15q25.1'de mir184'ün 5.5 Mb bağlantı bölgesindedir. Bu heterozigot mutasyon, ön polar katarakt ve keratokonusu olan Kuzey İrlanda'lı ailede görülmüştür (83). Yapılan bir çalışmada, otozomal dominant kalıtım paternine sahip EDICT (Endotelyal distrofi, iris hipoplazisi, konjenital katarakt ve stromal incelme) sendromu olan bazı aileler keratokonusta saptanan aynı mutasyona (c.57C >T) sahipti (88). Lechner ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise iki keratokonus hastasının miR184 bölgesinde 2 adet heterozigot mutasyon (+ 3A>G ve +8C>A) bildirilmiştir (89). Bu varyantların hastalığın patogenezin ve olası bir genotip-fenotip korelasyonuna katkısı henüz anlaşılmamıştır. İran ve Suudi Arabistan'dan yapılan çalışmalarda, miR184'te önemli mutasyon görülmemiştir (90, 91). Literatürü incelediğimizde miR184'teki değişikliklerin tek başına keratokonusun nadir bir nedeni olduğunu düşünebiliriz. Bu genin rolünü aydınlatmak için daha ayrıntılı genetik çalışmalar gerekmektedir.

DOCK9 geni guanozin trifosfat / guanozin difosfat değişim faktörü aktivitesine sahip ve hücre içi sinyal iletiminde rol alan G-proteinle ilişkili CDC42'yi aktive eden, DOCK protein ailesinin bir üyesini kodlar (92). Bu genle ilgili 13q32 lokusu ilk olarak Gajicka ve arkadaşları tarafından Ekvador'lu ailede bulunmuş ve otozomal dominant kalıtım gösterdiği bildirilmiştir (93). Karolak ve arkadaşları tarafından yapılan in vitro

analizde, DOCK9'un 20. ekzonunda c.2262A> C (Gln754His) mutasyonun yanlış *splicing'e* yol açtığı gösterilmiştir (94). Gln754His mutasyonunun keratokonus ailesinde hastalığın fenotipine katkıda bulunabileceği düşünülmüştür (95).

SOD1 geni 20p11.2 lokusunda yerleşen süperoksit radikallerini metabolize eden çinko ve bakır iyonlarını bağlayan majör bir sitoplazmik antioksidan enzimi kodlar (96). Keratokonus patogeneze katkısı olduğunu gösteren çalışma mevcuttur (97, 98). Ayrıca amiyotrofik lateral skleroz hastalığında bu gende mutasyonlar bildirilmiştir (99). Behinding ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada SOD izoenzimlerinin dağılımının sağlıklı ve keratokonus hastalarının korneaları arasında farklılık gösterdiği bulunmuştur (100). Aday gen olarak seçilmiş birçok çalışmada ise keratokonus hastalarında mutasyona rastlanmamıştır (76, 101). Tüm bu sonuçları dikkate aldığımızda patogeneze olan katkısı hala tartışılmaktadır.

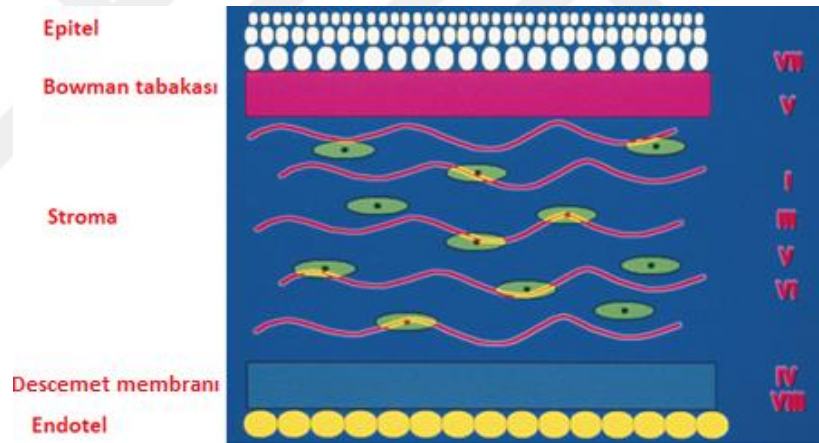
ZNF469 iki ekzonlu bir gen olup, 3925 amino asit kalıntısından oluşan ve 413 kDa ağırlığında proteini kodlar. İnsan korneasında ve çeşitli dokularda tespit edilmiştir (102). Korneada yüksek oranda bulunan *COL1A1*, *COL1A2* ve *COL4A1* ile %30 oranında benzerliği bulunmuştur (103). **ZNF469**'un rolü tam olarak belirlenmemiş olsa da ESM oluşumu ve düzenlenmesinde önemli yeri olduğu bildirilmiştir (104). Transkripsiyon faktörü olarak, kollajen liflerinin sentezinde veya organizasyonunda rol oynayan ekstrasit matris düzenleyici bir moleküldür (103).

Brittle kornea sendromu (BKC) **ZNF469**'da homozigot mutasyon sonucu gelişen, otozomal resesif kalıtım gösteren bağ dokusu hastalığıdır. İnce korneal kalınlık (220- 450 µm) nedeniyle küçük travmalardan sonra bile rüptür gelişebilmektedir (104, 105). Bu gendeki heterozigot mutasyonlarda ise keratokonus gelişebileceği bildirilmiştir. Ancak, BKC'li çocukların ebeveynleri (heterozigot taşıyıcılar) incelendiğinde, keratokonusa özgü olan oftalmolojik bulgulara rastlanmamıştır (106). Şu anda, **ZNF469**'daki mutasyonların keratokonus gelişimine katkıda bulunup bulunmadığı belirsiz olup, daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

LOX geni 5q23.2 lokusunda yerleşen keratokonusla ilişkili gen olarak tanımlanmıştır (107). Bu gen tarafından kodlanan protein, **LOX** ailesinin bir üyesidir. Bakıra bağlı lizil oksidaz enzimi, belirli lizin ve hidroksilizin kalıntılarında epsilon-amino grubunun oksidatif deaminasyonunu katalize ederek kollajen ve elastinin çapraz bağlanmasını başlatır (108). Keratokonuslu korneal fibroblast doku kültüründe,

özellikle ESM'de azalmış LOX aktivitesinin gösterilmesi, hastalığın patogenezinde bu genin önemli rol oynadığını düşündürmektedir (109). Yapılan diğer bir çalışmada keratokonus hastalarının kornea epitelinde LOX transkript seviyesi ve gözyaşında enzim aktivitesinde azalmanın hastalığın ciddiyeti ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (110). Ayrıca proliferatif diyabetik retinopati ve regmatojen retina dekolmanında oküler dokularda azalmış LOX aktivitesi bildirilmiştir (111). Hem İtalyan hem de İran popülasyonlarından yapılan çalışmalarda Arg158Gln (rs1800449) ve Pro159Gln (rs41407546) mutasyonları tanımlanmıştır (107, 112). LOX genindeki mutasyonlar, kollajen liflerinin çapraz bağlanmasında azalmaya neden olarak korneanın biyomekanik olarak zayıflamasına ve keratokonus gelişimine katkıda bulunabilir.

Kollajenler korneal stromanın organizasyonunda önemli rol oynarlar (Şekil 2). Kollajen tip I, III, V ve XII'nin keratokonusta daha düşük ekspresyon seviyesine sahip olduğu tespit edilmiştir (113).



Şekil 2. Korneadaki kollajen dağılımını gösteren diyagram (1).

COL8A1 (kollajen tip VIII, alfa 1) geni 3p14-q13 lokusunda lokalize olup, tip VIII kollajenin alfa1 zincirini kodlar. Tip VIII kollajen korneal endotel bazal zarının önemli bir bileşenidir. *COL8A2* (kollajen tip VIII, alfa 2) geni Fuchs endotel korneal distrofisi ve PPCD tip 2 ile ilişkilendirilmiştir (114). Yapılan hayvan deneyi çalışmasında tip VIII kollajenin alfa1 ve alfa 2 zincirlerini kodlayan genlerin bozulmasının, diffüz korneal incelme, keratoglobusun klinik görünümüne benzer protrüzyon ve ön segmentte yapısal değişikliklere yol açtığı gösterilmiştir (115).

Brancati ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada keratokonus hastalarında *COL8A1* geninde herhangi bir patojenik mutasyon görülmemiştir (60).

Heterotrimerik yapıda altı α zincirinden oluşan tip IV kollajen, bazal membranların ana yapısal bileşenidir. Kollajen tip IV, alfa-3 (*COL4A3*) ve kollajen tip IV, alfa-4 (*COL4A4*) genleri 13q34 lokusunda yerleşir (116). *COL4A3*'ün PPCD tip3'ün patogenezinde rol oynadığı gösterilmiştir (117). Stachs ve arkadaşları tarafından yayınlanan çalışmada keratokonus kornealarında tip IV kollajenin azaldığı ve bu nedenle hastalığın patogenezinde aday gen olabileceği söylenmiştir (118). Stabuc- Silih ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *COL4A3* geninde sekiz ve *COL4A4* geninde altı polimorfizm tespit edilmiş, fakat genetik analizinde herhangi bir mutasyon bulunmamıştır (119). *COL4A3*'te D326Y ve *COL4A4*'te M1237V ve F1644F alel farklılıkları keratokonus hastalarından önemli ölçüde fazla bulunmuştur (119). Yunan popülasyonunda yapılan çalışmada ise bu üç polimorfizmin, keratokonusa neden olmadığı bulunmuştur (120).

Akuaporinler birçok dokuda hücre içi su transportunda kritik rol oynarlar. AQP5'de bu integral membran proteinlerinden biridir (121). AQP5 geni 12'inci kromozomun q13 lokusunda yerleşir. AQP5 delesyonu oluşturulan fareler üzerinde yapılan deneysel çalışmada, bu delesyonun korneal ödeme neden olduğu gösterilmiştir (122). Rabinowitz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada AQP5 ekspresyonunun keratokonuslu hastaların korneasında normal korneaya göre çok daha düşük olduğu gösterilmiştir (123). Bununla birlikte keratokonusta AQP5'in olası rolünü doğrulayan çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Garfias ve arkadaşları ise keratokonus hastalarından alınan kornea ile normal korneal örnekleri karşılaştırmış, AQP5 ekspresyon seviyelerinin gruplar arasında farklılık göstermediğini bildirmişlerdir (124).

Adachi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Japon popülasyonunda nispeten sık bulunan HLA-A26, B40 ve DR9 antijenleri, genç bireylerde erken başlangıçlı keratokonus ile ilişkili olduğu gösterilmiş (125).

Genome-wide association studies (GWAS), yüksek verimli DNA genotipleme teknolojisi kullanarak binlerce kişide birkaç yüz binden bir milyona kadar tek nükleotid polimorfizmini (SNP) tahlil eder (126). Keratokonus için ilk GWAS sonuçları Burdon ve arkadaşları tarafından yayınlanmış. Bu çalışmada iki SNP'nin (rs1014091 ve

rs3735520) keratokonus ile pozitif bir ilişkisi tanımlanmıştır. Bu SNP'ler, *HGF* (hepatosit büyüme faktörü) geninin hem promoter hem de upstream bölgesinde lokalizedir (127). Sahebjada ve arkadaşları, Avustralya'lı hastalarda *HGF* ve keratokonus arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulmuşlar (128). *HGF*, *IL-6* sitokinine yönelik bağlanma bölgeleri içerir. *IL1A*, *IL1B* ve *IL1RN* gibi enflamatuar yollar aracılığıyla keratokonus patogenezinde yer aldığı düşünülmektedir (127, 128). Diğer GWAS yöntemiyle yapılan keratokonus çalışmalarında *RAB3GAP1* (*RAB3* GTP-az aktive edici protein) geninde rs4954218, *LOX* geninde rs10519694 ve rs2956540, *COL5A1* geninde rs7044529, *MPDZ-NF1B* geninde rs1324183, *FNDC3B* geninde rs4894535, *FOXO1* geninde rs2721051, *RXRA-COL5A1* geninde rs1536482, *BANP-ZNF469* geninde rs9938149 SNP'leri bildirilmiştir (107, 129, 130).

Yeni nesil dizileme (Next-generation sequencing studies) teknolojilerinin geliştirilmesiyle keratokonusun monojenik nedenlerini araştırmak için genetik bir devrim meydana gelmiştir. En büyük avantajı, tam genom veya tüm genler tek seferde sorgulandığı için hastalığın patogenezi hakkında önceden bilgi sahibi olmanın gerekmemesidir. Yeni nesil dizileme stratejilerinin uygulanmasının keratokonus araştırmasında yararlı olduğu kanıtlanmıştır. Bu yöntemle Kuzey İrlanda'da yapılan çalışmada anterior polar katarakt ile birlikte ailesel keratokonusu olan hastalarda miR184'da mutasyonun olduğu tespit edilmiştir (83). Yeni nesil dizileme *ZNF469* geninin analizinde de kullanılmıştır (131). Literatürde bu genin keratokonus patogenezinde önemli olduğunu gösteren yayınlar mevcuttur (132, 133). Karolak ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise *ZNF469* genindeki varyasyonların hastalığa neden olmadığı gösterilmiştir (134). Bu tekniğin keratokonus araştırmalarında daha fazla uygulanması, altında yatan genetik faktörlerin çözülmesine katkıda bulunacaktır (135).

2.1.5.2. Çevresel Faktörler

Genetik faktörlerin yanı sıra, aile öyküsü olan ve olmayan hastalarda keratokonus patogenezinin katkıda bulunan birçok çevresel faktör bildirilmiştir. Bunlar arasında kontakt lens kullanma, şiddetli göz ovuşturma, atopi, ultraviyole ışığa maruz kalma ve korneada artmış oksidatif stresle ilişkili olabilecek diğer faktörler örnek olarak gösterilebilir (8, 136, 137).

Göz ovuşturma, kontakt lens kullanımı ve atopi epitelyal mikrotravmaya neden olarak İnterleukin-1 (IL-1) salınımının artmasına yol açar (138). IL-1'in keratositlerin proliferasyonu, farklılaşması ve apoptozisinin modülatörü olduğu varsayılmaktadır. Artmış IL-1 düzeyinin anterior stromada keratosit kaybını artıracak ileri sürülmüştür (139).

Gasset ve arkadaşları, kontakt lens kullanımı keratokonus progresyonu ile ilişkilendirilmişler (140). Erie ve arkadaşlarının konfokal mikroskopi ile yaptıkları bir çalışmada keratokonus hastalarından kontakt lens kullananlarda kullanmayanlara göre daha düşüktü keratosit yoğunluğu bildirmişler. Aynı zamanda sert gaz geçirgen kontakt lens kullananlarda yumuşak torik kontakt lens kullanıcılarına kıyasla keratosit yoğunluğu daha az bulunmuştur (37).

Atopi genetik olarak alerji gelişimine eğilimli olma veya aşırı duyarlılık reaksiyonudur. Atopik alerjik hastalıklara alerjik rinit, alerjik astım ve atopik dermatit örnek olarak gösterilebilir. Literatürde atopinin keratokonus ile ilişkili olup olmadığı konusunda çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Ancak atopi hastalığının gelişimi ve ilerlemesinde anahtar faktör olan göz ovuşturma ile güçlü şekilde ilişkilidir (141). Atopili keratokonus hastalarının daha hızlı progresyon, daha sık refraktif ve immünolojik komplikasyon gelişme eğilimine sahip oldukları bulunmuştur. Bu hastalarda sonuç olarak daha erken keratoplasti ihtiyacı geliştiği gösterilmiştir (142).

Prevalans çalışmalarında gösterildiği gibi hastalığın ılıman iklimlerden çok ekvatora yakın ülkelerde daha yaygın olması (15, 16, 19, 20), UV ışının keratokonus gelişimi ve ilerlemesi için bir risk faktörü olabileceği hipotezine yol açmıştır. Hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda, korneal UV maruziyetinin keratosit apoptozu ve stromal incelmeye neden olduğu gösterilmiştir. Ancak, hiçbir keratokonus belirtisi bildirilmemiştir (143, 144). Bu hipotez aynı bölgede yaşayan aynı miktarda UV radyasyonuna maruz kalan popülasyonlar arasında farklılıkları (Birleşik Krallık'ta Asyalılar 4,4 -7 kat daha fazla veya İran'da Fars olmayan nüfus 10 kat daha fazla keratokonus tanısı almış) izah edememektedir. Hastaların UV maruziyetini ölçen cihazlarla veya anket uygulanması ile daha ileri vaka- kontrol çalışmalarına ihtiyaç vardır (145).

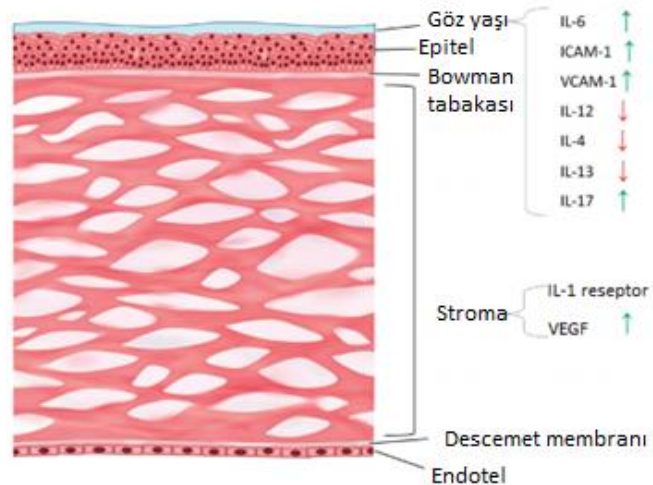
Sigara içmenin keratokonus için bir risk faktörü olabileceği hipotezi, vaka kontrolü ve gözlemsel çalışmalarla desteklenmemektedir (15, 21). Aslında, sigara

dumanın yan ürünleri korneada kollajen çapraz bağlanmasına neden olabildiğinden, keratokonus arasında negatif bir korelasyon olabilir (146).

Rusya'dan yapılan bir çalışmada, kentsel ortamlarda yaşayanlarda daha yüksek keratokonus insidans (5 kat daha fazla) ve prevalansı gösterilmiştir (14). Hangi çevresel faktörlerin bu prevalansı artırdığını ayırt etmek zor olsa da çevre kirliliğın rolü olabileceğı düşünölmektedir. Ayrıca çalışmanın yürütöldüğü Ural bölgesinde ekolojik olarak elverişsiz Çelyabinsk kenti radyasyonla yoğun şekilde maruz kalmıştır (14).

2.1.5.3. Enflamasyon

Keratokonus hastalarında enflamasyona neden olan çeşitli faktörler öne sürölmüştür. Sitokinler oküler yüzey enflamasyonunun ve immünolojik reaksiyonların düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Bazı araştırmacılar, sitokinler (proinflamatuvar ve antiinflamatuvar) arasındaki dengesizliğin metalloproteinaz aktivitesi ve keratosit apoptozunda artışa neden olarak kornea yapı ve fonksiyonunda bozulmaya yol açtığını bildirmişlerdir (147, 148). Tedavide kullanılan kontakt lenslerin, hastaların gözyaşında proinflamatuvar sitokinlerin yükselmesine ve kuru göz alevlenmesine neden olduğı bildirilmiştir. Bu proinflamatuvar proteinlere IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-17, ICAM-1, VCAM-1, MMP9, TGFβ ve TNFα örnek olarak gösterilebilir (Şekil 3) (58, 59, 149-151).



Şekil 3. Keratokonusta miktarı değişen sitokinler ve büyüme faktörleri (147).

Akut enflamatuvar reaksiyonların anahtar mediatörü olan TNF α ile T lenfositlerden salınan IL-1 α ve IL 17, keratositlerden diğer proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu indüklerler (152, 153). Keratokonus keratositlerin normal korneaya kıyasla dört kat daha fazla IL-1 reseptörüne sahip olduğu bulunmuştur (154). IL-1'in keratosit proliferasyonu, farklılaşması ve apoptozisin modülatörü olduğu için yükselen miktarının apoptotik hücre ölümü arttırarak, anterior stromal keratosit kaybına neden olacağı öne sürülmüştür (139).

Gaskin ve arkadaşlarının yaptığı immünohistokimyasal çalışmada makrofaj, lökosit ve antijen sunan hücrelerin kornea epitel ve stromasında toplanması, enflamatuvar bir hadisenin olduğunu göstermiştir. Ancak bu enflamatuvar belirteçlerin akut korneal hidrops gelişiminde önemli bir faktör olmadığı düşünülmüştür (155).

Çeşitli hastalıklarda sistemik enflamasyonun potansiyel prediktörü olan nötrofil/lenfosit oranı progresif keratokonus hastalarının serumunda önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur (156). Jun ve arkadaşları, keratokonus hastaları ile kontrol grubunda sitokinlerin serum düzeyini karşılaştırdıklarında anlamlı bir fark olmadığını bulmuşlar. Bu, keratokonusun majör sistemik enflamasyon ile ilişkili olmadığı hipotezi ile tutarlıdır. Hastaların gözyaşı örneklerinde ise IL-12'de önemli miktarda azalma ile birlikte yüksek IL-6 seviyeleri görülmüştür (59). Yapılan çalışmalardan farklı olarak düşük TNF- α seviyelerini antikor testleri ve hasta popülasyonu arasındaki farklılıklara bağlamışlardır (59, 151).

Lema ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada IL-6, MMP9 ve hücre adezyon molekülleri (ICAM-1 ve VCAM-1) kontakt lens kullanan keratokonus hastalarında normal miyop hastalara kıyasla 2-40 kat artmış, antienflamatuvar belirteç olan IL-10 ise 8 kat azalmış bulunmuştur (157). Balasubramanian ve arkadaşları, keratokonus hastaların gözyaşlarında laktoferrin ve IgA seviyelerini düşük olarak bulmuşlar (158). Laktoferrin transferrin ailesinin demir bağlayıcı glikoproteini olup çoğu biyolojik sıvıda bulunan bağışıklık sisteminin önemli bir bileşenidir (159). İmmünomodülatör ve antienflamatuvar etkilerinden dolayı laktoferrin ve IgA hastalık üzerinde büyük etkiye sahip gibi görünmektedir. Laktoferrin IL-1, IL-2, IL-6 ve TNF- α 'yı inhibe ederek antienflamatuvar yanıtı sağlar. IgA ise Fc α RI reseptörü aracılığı ile immün yanıtın baskılanmasında görev alır (158).

Vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) keratokonuslu kornealar ve büllöz keratopatide aşırı eksprese edildiği, ancak diyabetik kornealarda ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir (160). Artmış VEGF seviyesi hastalığın patogenezinde rol oynar.

Doğru ve arkadaşları, keratokonus hastalarında kornea duyarlılığının önemli ölçüde daha düşük olduğunu bulmuşlar. Ayrıca, orta ve şiddetli keratokonuslu gözyaşı kırılma zamanı daha kısa, floresein ve rose bengal boyanma skorları anlamlı olarak daha yüksek izlenmiştir. Konjonktival impresyon sitolojisinde belirgin skuamöz metaplazi ve goblet hücre kaybı olduğu ve bunun hastalığın progresyonu ile ilişkili olduğu görülmüştür (161).

Frederick Ridley 1961 yılında göz ovuşturma ile keratokonus arasında ilişki olduğunu söylemiştir (162). Daha sonra yapılan araştırmalarda, göz ovuşturmanın mikrotravma ve korneal sıcaklık artışı ile enflamasyonu şiddetlendirerek hastalığın progresyonuna neden olduğu gösterilmiştir (136, 163-165).

2.1.5.4. Enzimler

Degradatif enzimler ve inhibitörleri arasında denge korneal mikro çevre homeostazı için önemlidir. Birçok keratokonus çalışmasında bu denge değişiminin, ekstrasellüler matriksin bozulmasına yol açarak, korneal incelmeye ve sonuç olarak hastalığın progresyonuna neden olabileceği gösterilmiştir (166, 167).

Keratokonusta hastalarının epitel, stroma ve endotelinde histokimyasal boyanma yöntemi ile asit hidrolazlar (asit esteraz, asit fosfataz ve asit lipaz) gibi lizozomal enzimlerin yüksek ekspresyona sahip olduğu gösterilmiştir (168). Yapılan başka bir çalışmada ise keratokonus hastalarının konjonktivasında asit fosfataz ve asit esteraz enzimleri, normal kontrol grubuna göre daha fazla bulunmuştur (169). Lizozomlardaki proteazların (katepsin B ve G) keratokonuslu korneal keratositlerde daha yüksek seviyeye sahip olduğu gösterilmiştir (166). Yapılan başka bir çalışmada ise keratokonuslu hastaların göz yaşında katepsin B seviyesi kontrol grubuna göre 3 kat daha fazla görülmüş ve katepsinlerin kaspazları aktive ederek keratositlerin apoptozunda önemli bir rol oynayabileceği öne sürülmüştür (170).

Matriks metalloproteinaz (MMP)'lar ESM bileşenlerini yıkıma uğratan, Zn^{++} ve Ca^{++} 'a bağımlı bir nötral endopeptidaz ailesidir. Matriks metalloproteinaz doku

inhibitörleri (TIMP-1, -2, -3 ve -4) tarafından inhibe edilirler. Kornea epitel hücreleri ve stromal hücreler tarafından sentezlenen jelatinazlar (MMP-2 ve -9), kollajenazlar (MMP-1, -8 ve -13), stromelisinler (MMP-3 ve -10), matrilisinlerin (MMP- 7 ve -26) ve membran tip MMP'lerin (MMP-14, -15,-16) keratokonus patogeneğinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (171).

Literatürde ilk defa 1982 yılında Kao ve arkadaşları, keratokonik kornealarda kollajenaz ile jelatinaz aktivitesindeki artışın kollajen miktarını azalttığını ve kollajen çözünürlüğünü artırdığını bulmuşlardır (172). Daha sonra yapılan bazı çalışmalarda ise keratokonus hastaları ile kontrol grubu korneaları arasında MMP-2 ve MMP-9 seviyelerinde farklılık görülmemiştir (166, 173). Collier ve arkadaşları, MMP-2'yi aktive eden membran tipi metalloproteinaz olan MT1-MMP'nin (MMP -14) keratokonus kornealarında yükseldiğini göstermişlerdir (174). Shetty ve arkadaşları, hastaların korneal epitel hücreleri ve gözyaşında MMP-9'un belirgin şekilde ekspresyonunun arttığını bildirmişlerdir (175). Başka bir çalışmada da hastalarının gözyaşında MMP-1, MMP-3, MMP-7 ve MMP-13'ün miktarının yüksek olduğu gösterilmiştir (170). Diğer yandan α 1-proteinaz inhibitörü (α 1-antitripsin), α 2-makroglobulin ve TIMP gibi proteinaz inhibitörlerinin keratokonusda down regülasyonu bildirilmiştir (176-178). Bu inhibitörlerin azalmış seviyeleri, degradatif enzimlerin artan aktiviteleri ile ilişkilidir (179). Keratokonus skarı olan kornealarda TIMP-1 ve TIMP-2'nin arttığı gösterilmiştir (180). Keratokonik korneaların anterior stromasında normal kornealara göre önemli ölçüde daha fazla apoptotik hücre tanımlanmıştır. TIMP-1 ve TIMP-3 üreten hücrelerin çoğunun anterior stromada yerleşmesi, bu enzim inhibitörlerinin keratositlerin apoptozisinde önemi rol oynadığını düşündürmektedir (181).

Lizil oksidaz bakıra bağlı bir amin oksidaz olup, aktif olmayan bir proenzim olarak sentezlenir ve daha sonra pro-kollajen C-proteinazlar ve özellikle kemik morfogenetik protein-1 (BMP-1) tarafından aktifleştirilir (182). Bağ dokusunun biyogeneğinde kritik öneme sahip bir enzimdir. LOX'la beraber, spesifik etki mekanizmaları kesin olarak bilinmeyen 4 LOX benzeri protein de (LOXL1 – LOXL4) kollajen ve elastindeki lizin kalıntılarının oksidatif deaminasyonunu katalize eder (183). Keratokonuslu korneal fibroblast doku kültüründe, özellikle ESM'de azalmış LOX

aktivitesi gösterilmiştir (109). Enzim aktivitesindeki azalama, korneanın biyomekanik özelliklerinde değişikliklere neden olarak keratokonus gelişimine katkıda bulunabilir.

2.1.5.5. Oksidatif stres

Korneanın en önemli fonksiyonlarından biri hücresel metabolizma ve güneşin UV ışığına maruz kalırken oluşan serbest radikaller ile oksidanları nötralize etmektir. Korneada serbest radikallerin detoksifikasyonuna SOD, glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon transferaz (GST), nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADP) ve katalaz gibi güçlü enzimlerle beraber, düşük moleküler ağırlıklı antioksidan moleküller de (α -tokoferol, askorbat, ferritin ve proteoglikanlar) iştirak etmektedir (184). Keratositler oksidatif strese duyarlı olup, kokonusun gelişmesinde ve ilerlemesinde önemli bir role sahip olabilirler. Farklı keratokonus çalışmalarında serbest radikal detoksifikasyonda yer alan birçok enzimin azalmış aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (100, 185). Keratokonus kornea fibroblast kültürleri üzerinde yapılan in vitro araştırmada, normal fibroblastlara kıyasla reaktif oksijen (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) üretimi, hidrojen peroksit (H_2O_2) konsantrasyonu ve katalaz aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (186). Ayrıca, normal kornealar ile karşılaştırıldığında keratokonus kornealarında daha yüksek miktarlarda nitrik oksit sentaz (NOS) ve peroksinitrit (NO_3^-) oluşumunun bir belirteci olan nitrotirozin (NT: nitrik oksitin (NO) sitotoksik bir yan ürünü) birikimi bildirilmiştir (187). Keratokonus kornealarında Bowman tabakası kırılmalarına bitişik alanlardaki stromal hücrelerde yüksek miktarda endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) gözlenmiştir, bu da artmış NO üretimine işaret etmektedir (187). NO ve NO_3^- , DNA hasarı ve apoptotik yolların aktivasyonu dahil olmak üzere birçok sitotoksik etkiye neden olabilir (188). Aşırı RNS üretimi, stromal kollajen moleküllerinin modifikasyonuna, artan apoptotik aktiviteye ve kornea incelmeye katkıda bulunabilir. Ek olarak, keratokonus kornealarının, lipid peroksidasyonu ile üretilen ve hücresel biyomoleküllere zarar verebilen malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksi-2-nonenal (HNE) gibi yüksek düzeyde reaktif aldehytlere sahip olduğu bildirilmiştir (185, 187). Bu aldehytler ayrıca lizozom membranlarında değişiklikler yaparak, proteolitik enzimlerin salgılanmasına yol açabilir (189).

SOD, süperoksit radikallerini moleküler oksijen ve hidrojen peroksit metabolize eden önemli bir antioksidan enzimdir. Bu enzimin üç ana türü vardır:

Sitoplazmada SOD1, mitokondride SOD2 ve ekstrasellüler olarak bulunan SOD3'dür. SOD aktivitesindeki değişiklikler, artan miktarda süperoksit radikale yol açabilir (190). Udar ve arkadaşları, ailesel keratokonus hastalarında *SOD1* genindeki bir delesyonun korneada enzim aktivitesini azalttığını bildirmişler (97). Bununla birlikte, daha sonraki araştırmalarda hem sporadik hem de ailesel vakalarda *SOD1* geninde değişiklikler tespit edilememiştir (93, 101). Keratokonus hastalarının korneasında azalmış SOD3 aktivitesi gösterilmiştir (100). Kültüre edilmiş keratokonus stromal hücrelerinde IL-1 α 'nın etkisi ile SOD3 sentezinin azaldığı bulunmuştur (191). Enflamasyon ve travma gibi durumlarda artan IL-1 α salınımı, korneal stromada SOD3 sentezinde bir azalmaya yol açabilir. Bu da oksidatif savunma mekanizmasında yetersizliğe neden olabilir.

Hastalığın patogeneğinde rol oynayabilecek önemli detoksifiye edici enzimlerden biri aldehit dehidrogenaz 3'tür (ALDH3). ALDH3'ün kornea epitelinde kesin rolü bilinmemekle birlikte, oksidatif hasara karşı aşağıdaki çeşitli koruyucu fonksiyonları gösterilmiştir (192):

- 1) UV ile indüklenen lipid peroksidasyonu sırasında oluşan sitotoksik aldehitlerin detoksifikasyonu
- 2) UV ışığının doğrudan absorpsiyonu
- 3) Oksitlenmiş glutatyonun (GSSG) indirgenmiş formuna (GSH) geri dönüşümü ve UV ışığının absorpsiyonuna katkıda bulunabilecek NAD (P) H üretimi
- 4) Hidroksil radikallerinin uzaklaştırılması

ALDH3, memelilerin kornea epitel hücrelerinde çözünür protein içeriğinin yaklaşık %20-40'ını oluşturur (193). Eksikliği hücre zarlarının UV ile indüklenen oksidatif yıkımına ve MDA gibi sitotoksik aldehitlerin birikmesi yoluyla lipid peroksidasyonuna yol açabilir (194). Gondhowiardjo ve arkadaşları, keratoplasti cerrahi sırasında elde edilen normal ve patolojik korneaları immünokimyasal ve zimografik tanımlama ile birlikte çeşitli elektroforetik teknikler kullanarak karşılaştırmışlardır. Bu çalışmada keratokonuslu kornealarda ALDH3 enziminin aktivitesi düşük bulunmuştur (195). Buddi ve arkadaşları, keratokonuslu 26 kornea dokusunda, sağlıklı dokularda görülmeyen anlamlı ve belirgin bir MDA boyanması tespit etmişler. Bu veriler

keratokonuslu kornea dokularında MDA varlığının düşük ALDH3 ekspresyonundan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir (187).

Oksidoredüktazlar, elektron vericilerinden alıcılarına (süperoksit anyonları) elektron transferini katalize ederler. Keratinositlerin UV'ye akut maruz kalmasının, NADPH oksidazın (Nox) hızlı aktivasyonuna ve ROS oluşumuna yol açabileceği çalışmalarda gösterilmiştir (196, 197). Nox streslere karşı hücre adaptasyonuna yardımcı olmakla beraber, geri dönüşü olmayan şekilde hasar görmüş hücreleri apoptoza girmeleri için uyarır (198). Keratokonus hastalarından elde edilmiş kornea epitelinde protein belirleme yöntemleri ile NADPH dehidrojenaz ve NADPH menadion oksidoredüktazın ekspresyonunda azalma olduğu bildirilmiştir (199). Bu enzimlerin normal kornea epiteline göre keratokonusa daha az bulunması, hücrelerin metabolik stres altında olduğunu göstermektedir.

Keratokonus kornea dokusunda oksidatif stresin bir başka kanıtı, normal kornealara kıyasla artmış düzeyde mitokondriyal DNA (mtDNA) hasarının gösterilmesidir (200). Hao ve arkadaşları, 193 keratokonus ve 101 normal korneada mtDNA içeriğini ölçmüşler ve normal kornealara kıyasla keratokonusa mtDNA içeriğinde önemli bir azalma bulmuşlardır (201). İnsan mtDNA'sı, oksidatif fosforilasyon zincirinin 13 proteinini, 22 tRNA'yı ve 2 rRNA'yı kodlayan kovalent olarak kapalı, çift sarmallı bir moleküldür. MtDNA, ROS üretiminin önemli bir bölgesi olan iç mitokondriyal membranın yakın çevresinde yer alır, bu nedenle oksidatif hasara özellikle duyarlıdır (202). Kültüre edilmiş keratokonus fibroblastlarında oksidatif strese yanıt olarak ROS/RNS üretiminde önemli miktarda artma, mitokondriyal disfonksiyon ve mtDNA hasarı tanımlanmıştır (202). Mitokondriyal disfonksiyon ile çeşitli hastalıklar arasında bir ilişki gösterilmiş ve mtDNA hasarının da keratokonus patogenezinde katkıda bulunabileceği varsayılmıştır (203).

Küçük moleküler ağırlıklı, nonenzimatik antioksidanlar olan indirgenmiş glutatyon (GSH), askorbik asit, α -tokoferol, β -karoten, sistein, ürik asit ve tirozin hücrel redoks durumunun düzenlenmesinde ve hücrelerin oksidatif hasara karşı korunmasında önemli bir role sahiptir (204). Keratokonus hastaları kornealarında toplam antioksidan kapasitesi ve glutatyon içeriği sağlıklı kornealara göre önemli ölçüde azalmış bulunmuştur (185). Saijyothi ve arkadaşları, keratokonuslu hastaların gözyaşını yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile incelediklerinde glutatyon

seviyesinde azalma, tirozin ve ürik asit konsantrasyonunda ise artış olduğu görülmüştür (205). Yine bu çalışmada, ışığa bağlı oksidatif strese daha yatkın antioksidan olan, askorbik asit konsantrasyonu kontrol gruba göre anlamlı bir fark göstermemiştir.

Glutasyon GSH-Px ve GST gibi çeşitli detoksifiye edici enzimler için kofaktör olmakla birlikte, C ve E vitaminleri dahil bazı antioksidanları indirgenmiş formlarında tutar. Pro-apoptotik ve anti-apoptotik sinyal yolları ile etkileşime girerek hücreleri apoptoza karşı korur (204). Korneada ve gözyaşında toplam antioksidan kapasitenin ve GSH'nin önemli ölçüde azalması oksidatif stresin arttığını gösterir.

Keratokonusun yaygın klinik bulgusu olan Fleischer halkası, korneada koni tabanındaki epitel hücrelerinde demir birikimi ile oluşmaktadır (206). Fizyolojik olarak sağlıklı korneaların sitrik asit döngüsünün tamamlanması ve adenoazin trifosfat (ATP) üretimi için demire ihtiyacı vardır. Aynı zamanda demir DNA sentezine ilk metabolik reaksiyonun hız sınırlayıcı enzimi olan ribonükleozid redüktaz aktivitesi için de gereklidir (207). Fazla demirin Fenton reaksiyonu yoluyla reaktif oksijen türlerinin salınmasına bağlı olarak toksik olabileceği düşünülmektedir. Bu reaksiyonda, ferröz demir (Fe^{2+}), hidroksil iyonu (OH^-) ve tehlikeli hidroksil radikali ($OH^\cdot$) üreten hidrojen peroksit (H_2O_2) tarafından ferrik demire (Fe^{3+}) oksitlenir. Hidroksil radikali çok reaktif olup, lipidler, DNA ve proteinlerde oksidatif hasara neden olabilir. Demirin oksidatif hasar yoluyla oküler hastalıkların patogeneze katkıda bulunabileceği varsayılmaktadır (208). Laktoferrin, demire bağlanarak demir seviyelerini düzenlemeye, oksidatif hasarı önlemeye ve korneanın antibakteriyel savunmasına yardımcı olur (208). Keratokonusa korneal epitel hücrelerinde laktoferrin ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir (113). Farklı çalışmalar, keratokonus hastalarının gözyaşında daha düşük laktoferrin ekspresyonu bildirmiştir (151, 158, 209). Diğer demir bağlayıcı glikoprotein olan transferrin de keratokonuslu hastaların korneal stromasında daha düşük seviyelerde bulunmuştur (199). Tüm bu veriler, demir bağlayıcı proteinlerin azalmış ekspresyonunun, keratokonus hastalarının korneasında demir birikmesine katkıda bulunabileceğini göstermektedir.

Oksidatif hasara bağlı gözlenen değişikliklerin sistemik oksidatif stresin etkisiyle bağlantılı olup olmadığını araştıran çalışmalar da yapılmıştır. Hasta ve kontrol grubu arasında serum sitokin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı, fakat gözyaşında tespit edilen anlamlı değişikliklerin büyük olasılıkla lokal

enflamasyon sonucu geliştiği düşünülmüştür (59). Toprak ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise keratokonuslu hastalarda serum total oksidan ve oksidatif stres indeks değerleri kontrollere kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte, serum total antioksidan seviyesi gruplar arasında anlamlı bir fark göstermemiştir (210). Bu bulgular keratokonus patogenezinde sistemik oksidatif stresin de rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Proenflamatuar sitokinler, proteolitik enzimler, proteaz inhibitörleri, enflamatuar modülatörler ve antioksidanlar arasındaki yetersiz denge, oksidatif stres, keratosit apoptozu ve metalloproteinaz aktivitesinde artışa yol açmaktadır. Bu kısır döngü keratokonusda kornea yapısının ve işlevinin değişmesine neden olabilmektedir (171).

2.1.5.6. Hormonlar

Cinsiyet steroid hormonlarının (östrojen, progesteron, testosteron) etkileri belirli doku ve organlarda bulunan reseptörlere bağlıdır. Bu reseptörler, kornea dahil olmak üzere farklı oküler dokularda yaygın olarak bulunmaktadır. Korneal dokular östrojen tip α ve β , progesteron ve androjen reseptörleri eksprese ederler. Bununla birlikte, bu hormonların korneal homeostazı düzenleme mekanizması hala net olarak bilinmemektedir (211).

Fink ve arkadaşları, cinsiyetin ve hormon durumunun hem erkeklerde hem de kadınlarda (menopoz geçişinde olanlar hormon aktif ve hormon inaktif gruplara bölünmüş) keratokonusun şiddeti ve ilerlemesi üzerindeki etkilerini 3 yıllık süre boyunca incelemişler (212). Hormonların keratokonus insidansı ve prevalansı üzerindeki potansiyel etkisine rağmen, bu çalışmada orta yaşta analiz edilen 3 grup arasında hastalık şiddeti veya ilerlemesinde hiçbir farklılık görülmemiştir. Erkeklerde daha fazla gözde kornea skarı tanımlansa da, ancak 3 yıllık süre boyunca ne erkeklerde ne de kadınlarda skar açısından progresyon izlenmemiştir (212).

Hoogewoud ve arkadaşları, gebelik döneminde keratokonus hastalarında en iyi düzeltilmiş görme keskinliği (EDGK) ve topografik değişikliklerin geçici veya tamamen reversibl olabileceğini vurgulamışlar (213). Bu nedenle, hamilelik sırasında veya hemen sonrasında korneal çapraz bağlama (CXL) yapmak konusunda acele edilmemeli ve kornea eğriliği stabilize olana kadar beklenilmelidir (213). Hamilelik sırasında refraktif değişiklikleri araştıran başka bir çalışmada da EDGK'de benzer bir

azalma olduğu (miyopik kayma), ancak gebelik sonrası bu değerlerin normale döndüğü gösterilmiştir (214).

Spoerl ve arkadaşları, deneysel bir çalışmada, östrojenin kornea biyomekaniği üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda östrojenin kornea epitel yoğunluğunu azalttığını ve ektazi gelişimine yatkınlığı arttırdığını ileri sürmüşlerdir (215). Östrojenin insan kornea epitelinde proenflamatuvar sitokinler ve MMP 2, -7, -9'un gen ekspresyonunu uyardığı gösterilmiştir (216). Yüksel ve arkadaşları östrojen seviyelerini artıran in vitro fertilizasyon (IVF) tedavisi almış hastalarda keratokonus progresyon gösterdiğini bildirmişlerdir (217). Bu nedenle, IVF tedavisi öncesi CXL yapılmasının önemli olduğunu vurgulamıştır (217).

McKay ve arkadaşları, keratokonus hastalarının tükürük bezinde androjenlerin preküsörü olan dehidroepiandrosteron sülfatın (DHEA-S) cinsiyetten bağımsız olarak arttığını ve östron düzeyinin ise azaldığını göstermişler (218). Yüksek DHEA-S endojen glukokortikoid aktivitesini bloke ederek ve spesifik sitokinlerin (IL-16 ve kök hücre faktörleri) ekspresyonunu artırarak keratokonus progresyonuna neden olabilir. Bununla birlikte, artan tükürük DHEA-S seviyesi ile keratokonus şiddeti arasında korelasyon tespit edilmemiştir (218).

Progesteron prostaglandin üretimini inhibe ederken, östrojen prostaglandin sentezini artırır. Prostaglandinler kollajenazların artmasına neden olur (219). Progesteron kollajenaz üretimini baskılamak ile birlikte, aynı zamanda TIMP'ler tarafından aktive edilmiş kollajenazları da inhibe eder (220). Bu nedenle, normal bir gebeliğin son yarısında kornea biyomekaniğindeki stabilizasyonun progesteronun etkisine bağlı olabileceği düşünülebilir. Bu da progesteronun gebelik sırasında keratokonus ilerlemesine karşı koruyucu bir etkisi olabileceğini düşündürmektedir (219). Ayan ve arkadaşları, immünohistokimyasal olarak, progesteron ve androjen reseptörleri için yapılan boyamada, keratokonus ve kontrol grupları arasında anlamlı farklılık görmemişlerdir (221). Yine bu çalışmada östrojen ve androjen reseptörlerinin mRNA (messenger RNA) ekspresyonlarının keratokonus grubunda anlamlı olarak daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu da keratokonus ile cinsiyet steroid hormonları arasında olası bir ilişkiyi desteklemektedir.

Tiroid bez disfonksiyonu sıklıkla tiroid ile ilişkili oftalmopati ile sonuçlanır (222). Tiroksin (T4), embriyonik gelişim sırasında civciv korneasında keratin sülfat

proteoglikan sentezini düzenlemekle birlikte, kornea dehidrasyon ve saydamlığının sağlanmasına yardımcı olur (223, 224). Bazı çalışmalar keratokonus progresyonunu T4 hormonu ile ilişkilendirmiştir (225, 226). Flasko ve arkadaşları ise ötiroid olarak sınıflandırılan hastalarda hipotiroidili hastalara göre daha sık keratokonus olduğunu bildirmişlerdir (227). Keratokonus hastalarının gözyaşlarında serum tiroksin düzeylerinden bağımsız olarak T4 düzeylerinin daha yüksek olduğu bulunmuştur (228). Tiroksin, kornea dahil hemen hemen tüm dokuların farklılaşması, büyümesi, metabolizması ve fizyolojik işlevinde önemli rollere sahiptir.

2.1.5.7. İlişkili hastalıklar

Keratokonus, çok sayıda genetik sistemik hastalık ve sendromlarla ilişkilendirilmiştir (229). Sendromların çok düşük prevalansı nedeniyle, bunun tesadüfi bir birliktelikten ziyade gerçek bir komorbidite olup olmadığı her zaman net değildir. Bunlar arasında Down sendromu en fazla komorbidite göstermektedir. Down hastalarının %21-70'inde keratokonus tespit edilmiştir (230, 231).

Keratokonusa neden olan genetik hastalıklar, bazı ortak özelliklere sahiptir. Genetik sendromların çoğu aşağıdaki 4 grupta toplanılmıştır:

- 1) Kollajen- bağ dokusu hastalıkları
- 2) Okülo dijital stimülasyon neden olan retinal bozuklukları
- 3) Atopi veya egzama nedeni ile göz ovma (ovuşturma)
- 4) Mental retardasyon

Keratokonus ile Ehlers-Danlos ve MVP gibi bağ dokusu hastalıkları arasında ilişkiler mevcuttur. MVP keratokonus vakalarının %38-58'inde bulunmuştur (232, 233). Normal popülasyonda ise MVP'nin prevalansı %2-3'dir (234). Konjenital kalça displazisi olan iki kız kardeşde keratokonus birlikteliği bildirilmiştir (235). Gevşek göz kapağı (FES) sendromu da keratokonusla güçlü bir şekilde ilişkilidir (236, 237). Keratokonus hastalarının korneasından ve FES hastalarının göz kapağından alınan doku örneklerinde artmış anormal oksitalan lif miktarı görülmüştür (238). Keratokonuslu hastaların gözyaşında artmış MMP-9 enzimi aynı zamanda, FES'li hastadan alınan deri örneklerinde de bulunmuştur (239). Bu bulgular her iki hastalıkta benzer patogenezi

düşündürmektedir. Marfan sendromu ile keratokonus arasında ilişkisi olduğu düşünülse de, geniş bir incelemede bu görüş desteklenmemiştir (240).

Obsesif-kompulsif bozukluklar ve sıklıkla göz ovma ile karakterize bir psikiyatrik bozukluk olan Tourette sendromu da keratokonus ile ilişkilendirilmiştir (241).

Yapılan bir çalışmada, obezite keratokonus hastalarının %52'sini, obstrüktif uyku apnesi ise %24'ünü etkilediği bildirilmiştir (242). Bu prevalans genel popülasyondan çok daha yüksektir. Obezite ve uyku apnesi mortalite ve morbidite oranlarını önemli ölçüde artırdığı için oldukça önemlidir. İlginç bir şekilde, Down sendromlu hastalarda da obezite oranlarının artması, bu faktörün hastalığın başlamasına katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir.

Down sendromu, hiper-IgE sendromu, Turner sendromu ve Mulvihill – Smith sendromu gibi keratokonus ile ilişkili birçok sendromda yüksek egzama ve atopi insidansı vardır.

Retina fonksiyon bozuklukları ilişkili hastalıklarda okülo dijital stimülasyon yaygın bir durumdur. Bu hastalıklara albinizm, konjenital kızamıkçık, Leber'in konjenital amorozisi, nörofibromatozis, retinitis pigmentosa, Laurence – Moon Bardet – Biedl sendromu, koni distrofi, tapetoretinal dejenerasyon ve Kurz sendromu yer alır. Apert, Crouzon, Angelman, Noonan, hiperornitinemi gibi sendromlarda keratokonus, mental retardasyon ve okülo dijital stimülasyon birlikteliği mevcut olabilir (Tablo 1) (229).

Tip II diyabet muhtemelen korneada yaşa bağlı çapraz bağlanmayı hızlandırdığı için keratokonus için koruyucu olarak kabul edilir (243). Bir başka çalışmada keratokonus ile diyabet arasında ilişki bulunamamıştır, ancak diyabetli olmak şiddetli hastalık riskini azaltmaktadır (244).

Keratokonus ile birlikte katarakt, granüler distrofi tip II, Avellino distrofisi, PPCD ve Fuchs distrofisi gibi oküler hastalıklar da bildirilmiştir (245-248). Bu hastalıklar arasında patofizyolojik veya genetik bağlantılar olabileceği düşünülmektedir, ancak tesadüfi ilişkiler de göz ardı edilemez (249). Vernal keratokonjonktivit ile keratokonus arasında ilişki kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Anormal topografik paternler hastaların %70'inden fazlasında bildirilse de, keratokonus vakaların sadece %11-23'ünde saptanmıştır (250).

Tablo 1. Keratokonusla beraber görülebilen sistemik hastalıklar

Sendrom	Gen	Sendrom	Gen
Alagille sendromu	20p12	Kurz sendromu	
Albers- Schönberg hastalığı	11q13.4-5	Laurence -Moon- Bardet- Biedel	
Albinizm		Marfan sendromu	15q21.1
Angelman sendromu	15q11-13	Mitral kapak prolapsusu	
Apert sendromu	10p26	Mulvihill-Smith sendromu	
Bardet- Biedl sendromu		Tırnak patella sendromu	9q34.1
Brittle kornea sendromu		Nörokütanoz anjiomatözler	
Konjenital kalça displazisi		Nörofibromatozis	
Konjenital rubella		Noonan sendromu	12q24.1
Kseroderma pigmentozum		Osteogenezis imperfekta	17q21
Crouson sendromu		Okulodentodigital sendrom	6q21
Down sendromu	Trisomi 21	Psödoksantoma elastikum	16p13.1
Ehlers- Danlos sendromu		Retinitis pigmentosa	
Sol ventrikülde yalancı tendon		Rieger sendromu	13q14, 4q25-26
Goltz- Gorlin sendromu	9q22.3	Rotmund sendromu	8q24.3
Hiper- IgE sendromu		Thalasseli sendromu	
Hiperornitinemi	113q14	Tourette sendromu	
İktiyozis		Turner sendromu	
Eklem hipermobilitesi			

2.1.6. Keratokonus tanısı

Keratokonusun oküler semptom ve bulguları hastalığın şiddetine göre değişir. Subklinik veya *forme fruste* olarak da adlandırılan başlangıç aşamalarda, genelde herhangi bir semptom görülmez (251). Bu nedenle tanı için spesifik testler yapılmadıkça hasta ve doktor tarafından fark edilmeyebilir. Hastalığın ilerlemesi, gözlükle telafi edilemeyen önemli bir görme keskinliği kaybı ile kendini gösterebilir. Artan kurala aykırı astigmatizma ile 20/20 veya daha iyi bir görme keskinliğinin elde edilmesinin zor olduğu durumlarda, göz hekimleri keratokonus varlığından şüphelenmelidir (1). Yakın görme keskinliği genellikle hastanın refraksiyon, uzak görme keskinliği ve yaşına göre beklenenden daha iyi bulunur.

2.1.6.1. Eksternal bulgular

İleri evre keratokonusun bilinen eksternal bulguları: Munson belirtisi ve Rizutti fenomenidir (1).

Munson belirtisi: İleri evre keratokonusta aşağı bakışta ektatik kornea tarafından itilen alt kapağın V şeklini almasıdır (Şekil 4). Keratokonusun geç bulgusu olup patognomik değildir.



Şekil 4. Munson belirtisi

Rizzuti fenomeni: Keratokonuslu hastalarda korneanın temporalden aydınlatılmasıyla yüksek astigmatizma ve dik kornea eğimine bağlı nazal limbus yakınında konik bir ışık yansımasıdır (Şekil 5). Erken bir bulgu olmasına rağmen keratokonus için spesifik değildir.

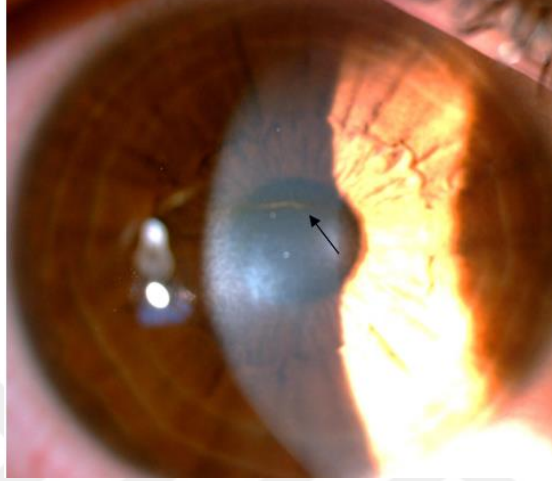


Şekil 5. Rizzuti fenomeni

2.1.6.2. Biyomikroskopik bulgular

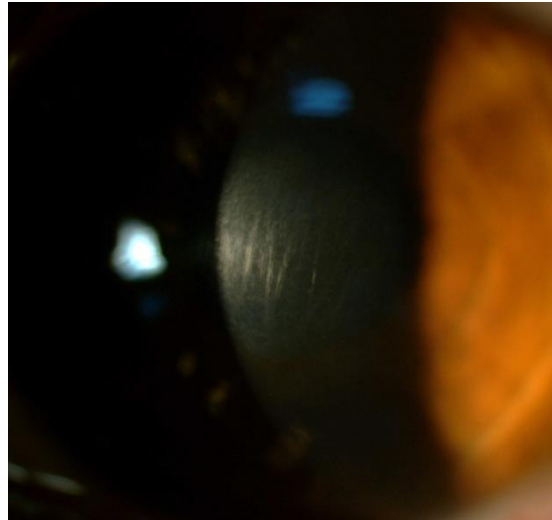
Orta ve ileri keratokonusta, biyomikroskopik muayenede genellikle Fleischer halkası, Vogt striaları gibi klinik belirtiler görülebilmektedir. Aynı zamanda ileri evre keratokonus hastalarında korneada stromal opasite, incelme ve skar da izlenebilmektedir.

Fleischer halkası: Keratokonusta koninin tabanı çevresinde, bazal epitel içinde görülen dairesel demir birikimine denilir. En iyi kobalt mavisi filtre kullanılarak görülmektedir (Şekil 6). Hastalık ilerledikçe çizgi daralır ve giderek daha iyi tanımlanır.



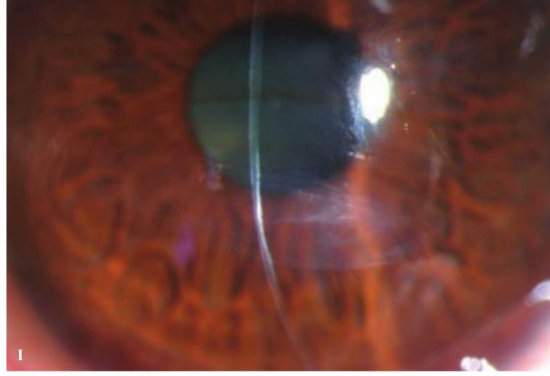
Şekil 6. Fleischer halkası

Vogt striaları: İnce, paralel stres çizgileri, koni tepesindeki posterior stromada görülebilir ve dışarıdan basınç uygulanmasıyla kaybolabilir (Şekil 7).



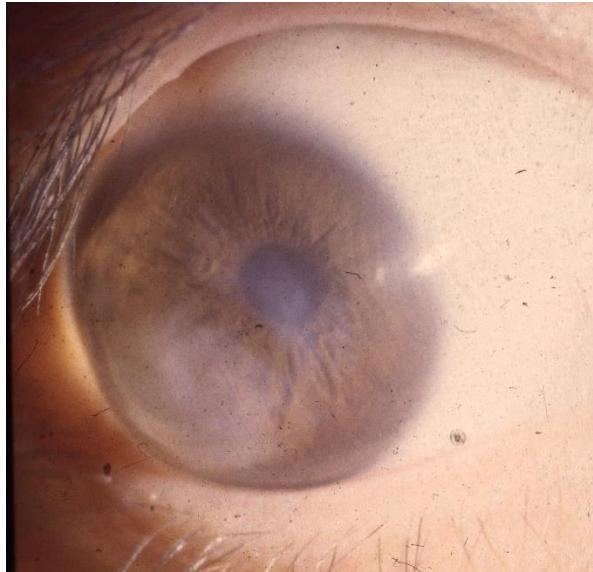
Şekil 7. Vogt striaları

Stromal incelme: Biyomikroskopik muayenede kornea merkezinde veya parasantralde (en yaygın olarak da inferior veya inferotemporal) görülmektedir (Şekil 8).

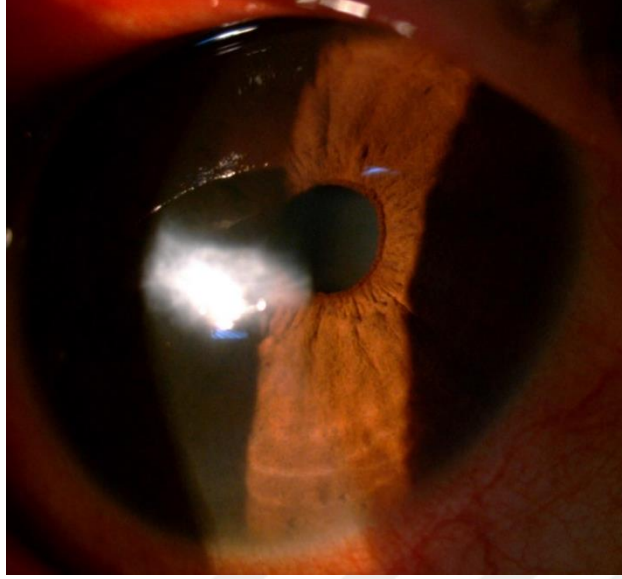


Şekil 8. Stromal incelme

İleri evre keratokonusta hastalar bazen ağrının eşlik ettiği ani başlangıçlı görme kaybı ile başvurabilirler. Biyomikroskopik muayenede konjonktiva enjeksiyonu ve korneada yaygın stromal opasite görülür. Aşırı incelme ve ani korneal gerilmeye bağlı olarak Descemet membranında gelişen çatlaklar ve endotel bariyerinin bozulması ile aköz humor stroma içine difüze olur. Bu durum akut hidrops olarak adlandırılmaktadır (252) (Şekil 9). Ödem haftalar veya aylarca devam edebilir. Kornea ödemi sonrasında gelişen skar dokusu görme ekseninde ise görme daha da kötüleşir (253) (Şekil 10).



Şekil 9. Korneal hidrops



Şekil 10. Korneal skar

2.1.6.3. Retinoskopik bulgular

Şüpheli keratokonus vakalarında tanıyı doğrulamak için retroilluminasyon tekniklerinden yararlanılabilir. Retinoskopik refletin makaslanması ve Charleux'un yağ damlacığı bulguları şüpheli hastaların tanısında önemlidir.

Makaslanma bulgusu: Retinoskopi sırasında irregüler astigmatizma kaynaklı retinal reflete bölünme olması, makaslanma bulgusu olarak tanımlanmıştır. Refle kornea santralinde yüksek miyopi nedeniyle ters yönde hareket ederken, periferde aynı yönde hareket eder.

Charleux'un yağ damlacığı bulgusu: Direkt oftalmoskopi ile pupil dilate iken bakıldığında, ışığın konik kornea kısmından yansımaları ile fundus reflesinden ayrılan, kornea orta periferinde koyu, yuvarlak gölge oluşturmasıdır.

2.1.6.4. Keratokonusta yardımcı tanı yöntemleri

Keratometre (Oftalmometre): Kornea santralinde yaklaşık 3-4 mm boyutunda anüler bir bölgenin eğrilik yarıçapını ölçer. Bu bölgenin boyutları, kornea eğriliğine ve kullanılan cihaza bağlı olarak değişmektedir. Cihaz 90° ile ayrılmış iki ana meridyenle korneayı simetrik varsayar ve perifer kornea hakkında bilgi vermez. Ölçülmüş eğrilik yarıçapı bir denklemle diyoptriye çevrilmiştir.

Keratometre kornea santralinde veya altta dikleşmeyi göstererek keratokonusu tespit edebilir. Zamanla kornea eğriliğinde kaydedilmiş artış, keratokonusun hassas bir

göstergesidir (4). Normal merkezi kornea eğrilikleri olan ancak düzensiz astigmatizma veya sadece alt korneal dikleşme görülen keratokonus hastaları da bildirilmiştir (1).

Göz içi lens (GİL) gücü hesaplaması için keratometrik değerler kullanıldığında, ileri evre keratokonus hastalarında postoperatif hiperopik kayma meydana geldiği bildirilmiştir (254). Özellikle ileri evre keratokonus hastalarında, keratometrinin gerçek kornea kırma gücünü olduğundan fazla gösterdiği düşünülmektedir (255).

Keratoskopi: Keratoskop ön kornea yüzeyine mir adı verilen, çok sayıda konsantrik daireler yansıtan alettir (256). Antonio Placido 1880 yılında düz bir disk üzerinde ardışık siyah ve beyaz halkaları ve merkezinde açıklık (Placido diski) olan keratoskopi hedefini tasarlamıştır. Allvar Gullstrand ise 1896 yılında ilk defa korneanın fotokeratoskopik görüntülerini kantitatif olarak analiz etmiştir. Stephen Klyce 1984 yılında fotokeratoskopik görüntülerin kalitatif analizini (ön kornea eğriliği, ön korneada farklı noktaların kırıcılığı) yapabilen ilk bilgisayarlı videokeratoskopu bulmuştur (257).

Keratoskopi mirlerin direkt olarak gözlenmesidir. Mirlerin birbirine yaklaşması aksın dikleştiğini gösterir. Halkaların genişlemesi, birbirinden uzaklaşması ise aksın düzleştiğini gösterir. Keratoskopa kamera eklenmesi ile fotokeratoskop elde edilmiştir. Fotokeratoskop, toplam korneanın %55-80'inin topografik kaydını oluşturur, ancak korneanın merkezi 3 mm'si hakkında çok az bilgi verir veya hiç bilgi vermez (1). Yapılan bir çalışmada keratokonusun erken evresinde hastalığı tespit etmiştir. Topografik bulgu olarak, korneanın inferotemporal ve merkezinde karakteristik distorsiyon oluşturan dikleşme görülmüştür (258).

Bilgisayarlı Videokeratografi veya topografi: Videokeratoskop, Placido disk görüntüsünü bilgisayar tabanlı bir sistemle yakalar, verilerin doğru ve tekrarlanabilir bir şekilde analizini sağlar. Hem merkezi hem de parasantral kornea tek seferde, aynı ölçümle görüntülenebilir. Bilgisayar ön kornea yüzeyindeki binlerce noktanın kurvatür çapını ve diyoptri cinsinden gücünü hesaplar. Korneadaki her noktanın karşılık gelen güce göre farklı renklerle işaretlendiği topografik haritalar elde edilir. Sıcak renkler (sarı, kırmızı, turuncu) yüksek kırıcılığı olan dikleşme alanlarını gösterirken, soğuk renkler (açık ve koyu mavi) düşük kırıcılığı olan düz bölgeleri, yeşil ve sarı gibi renkler ise normal kırıcılığa sahip alanları göstermektedir.

Kornea topografisi kornea ön yüzünün şekil ve eğriliğini ölçen Placido tabanlı görüntüleme cihazları ile elde edilmektedir. Kornea tomografisi ise iki boyutlu

görüntülerden üç boyutlu modeller oluşturulmasıdır. Böylelikle korneanın ön ve arka yüzey şekil ile eğrilikleri, Slit tarama, Scheimpflug görüntüleme, OKT ve ultrason sistemleri kullanılarak ölçülmektedir. Günümüzde farklı topografi cihazları- Atlas 9000 (Jena, Germany), Tomey TMS-5 (Nagoya, Japan) ve tomografi cihazları- ORBSCAN (Bausch and Lomb.Inc, Rochester, NY, USA), Pentacam (Oculus GmbH, Wetzlar, Germany), Sirius (Costruzione Strumenti Oftalmici, Floransa, İtalya) mevcuttur.

Oküler cevap analizörü (ORA: Ocular Response Analyser) ve CorVis ST (CST: Corneal Visualization Scheimpflug Technology): Korneanın biyomekanik özelliklerini in vivo olarak değerlendiren ilk non-invazif cihaz ORA (Reichert Ophthalmic Instruments, Buffalo, NY), Goldman ile uyumlu göz içi basıncı, kornea kompanse göz içi basıncı, kornea histerezi ve kornea rezistans faktörünü ölçer (259). Keratokonusun erken tespiti için kornea histerezi ve kornea rezistans faktörünün nasıl etkilendiği birçok çalışmada araştırılmıştır (260-262). Her iki parametrenin de sağlıklı kornealara kıyasla anlamlı olarak daha düşük olduğu bildirilmiş olsa da keratokonus teşhisi için sensitivite ve spesifitesi zayıf bulunmuştur (263).

Corvis ST (Oculus; Wetzlar, Almanya) kornea biyomekaniklerini in vivo olarak değerlendiren son yıllarda geliştirilmiş teknolojidir. ORA gibi non-kontakt olarak hava üfleme ile aplanasyon yapan ve aplanasyon sırasında kornea deformasyonunu ve apikal yer değişimini ölçerek göz içi basıncı değerlendirmektedir. Ancak işlem sırasında ORA'dan farklı olarak ultra yüksek hızlı Scheimpflug kamera kullanarak, korneanın 8 mm'lik horizontal alanından saniyede 4330 görüntü alınmaktadır (264). Refraktif cerrahi sonrası ektazi veya iyatrojenik keratokonus gelişme olasılığı nedeniyle, subklinik keratokonus gibi durumların erken tespiti gerekmektedir. CST kornea biyomekanik parametrelerini değerlendirerek, subklinik keratokonus vakalarını tespit etmek için önemlidir. Bu biyomekanik parametrelere: Birinci aplanasyon zamanı (A1T), birinci aplanasyon uzunluğu (A1L), kornea hızı (içeri (Vin) ve dışarı (Vout) doğru hareket ederken kornea apeksinin hızı), deformasyon amplitüdü (DA), eğrilik yarıçapı (RoC), pik mesafe (PD), ikinci aplanasyon zamanı (A2T), ikinci aplanasyon uzunluğu (A2L), maksimum ters yarıçap (1/RoC), apekte 1 veya 2 mm'de DA arasındaki oran (DA Ratio Max [1 mm], DA Ratio Max [2 mm]), Ambrosio ilişkili yatay kalınlık (ARTh), entegre yarıçap, birinci aplanasyonda sertlik parametresi (SP-A1) ve Corvis biyomekanik indeksi (CBI) gibi parametreler dahildir (265, 266). Elham

ve arkadaşları, A1T, A1L, RoC parametrelerinin subklinik keratokonus hastalarında sağlıklı kornealara göre daha düşük değerlere sahip olduğunu göstermişlerdir (264). Tian ve arkadaşları, sağlıklı kornealara kıyasla keratokonusa daha yüksek DA olduğunu bildirmişlerdir (267). Ren ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, subklinik keratokonus hastalarını normal kontrol grubundan ayırmada, sırası ile SP-A1, CBI, entegre yarıçap parametrelerinin önemli olduğu gösterilmiştir. Yine bu çalışmada, mutlak keratokonuslu gözleri normal kontrol grubundan ayırmada CBI, ARTh ve SP-A1 indekslerinin yüksek potansiyele sahip olduğu bulunmuştur (268). Subklinik keratokonus vakalarının tanımlanmasında tomografi ve biyomekanik parametrelerin kombine kullanımı daha başarılı bulunmuştur (269).

2.1.6.5. Topografik Ölçek ve Haritalar

Kornea topografi cihazlarının farklı özellikleri mevcuttur. Bazı sistemler daha bilgilendirici grafik arayüze ve daha yüksek çözünürlüğe sahip veya korneanın daha geniş alanını değerlendirmektedir.

Topografi haritasını doğru olarak değerlendirmek için eğrilik paternlerinin genel şeklini ve ölçek ile ilişkisini anlamak önemlidir.

Standardize (Absolü) ya da mutlak ölçek: Eğrilikteki her bir belirli diyoptri (D) basamak aralığı için her seferinde aynı sabit rengi kullanır ve kornea parametrelerini kendi aralığına uymaya zorlar. Bu ilişki haritadan haritaya veya hastadan hastaya değişmez. Keratometrik değerler maksimum 67,5 D ve minimum 30,0 D olarak ölçülür. Renk skalasındaki basamaklar 0,5-1,5 D arasında değişmektedir. Bu skala progresyon analizinde kullanılsa da küçük lokal değişiklikleri atlayabilmesi esas dezavantajıdır.

Normalize (Rölatif) edilmiş ölçek ya da cihazdaki otomatik boyutlandırma özelliği; Bir korneayı, özel olarak o korneadan ölçülmüş gerçek diyoptri aralığına dayanarak, otomatik olarak diyoptri basamaklarına böler ve otomatik olarak renkleri dağıtır. Standardize skaladan farklı olarak, maksimum ve minimum değerler arasında daha küçük bir fark vardır (49,5- 40,5 D). Klinisyen hastayı maksimum hassasiyette değerlendirmek için topografi programını 0,5 D'lik basamağa manuel olarak ayarlamalıdır. Basamakların 1,0 D veya 1,5 D ayarlanması potansiyel olarak önemli bilgilerin kaçırılmasına neden olur. Sadece haritanın rengine bakılarak yapılan

değerlendirme doğru olmayabilir. Bu ölçek daha detaylı topografik analiz yapmakla beraber, önceki haritalarla karşılaştırma yapamaması dezavantajıdır.

Eğrilik haritaları ya da güç haritaları: Aksiyel, tanjansiyel ve refraktif haritaları içerir. Aksiyel eğrilik haritaları her bir noktadaki kornea eğriliğini, çoğunlukla görme aksına göre ölçerek elde eder. Bu harita bir bütün olarak kornea eğriliğinin genel bir görüntüsünü verir. Fakat aksiyel haritalarda yerel eğrilikteki küçük değişimlerin atlanması ve periferik gittikçe eğim doğruluk oranlarının azalması dezavantajları arasındadır.

Tanjansiyel veya meridyonel harita dış kornea yapısının daha doğru bir şekilde tahmin etmek için farklı matematiksel yaklaşımları temel alan hesaplamalar kullanır. Korneanın her bir noktasındaki yerel eğriliği, meridyonel yönde o nokta üzerinden geçen belli bir halka üzerindeki diğer noktalara göre gösterir. Bu harita, keskin güç geçişlerini aksiyel haritaya göre daha iyi tanıır.

Refraktif harita korneanın Snell kırıcılık yasasına göre hesaplanmış kırma gücünü gösterir. Kornea şekli ile görme arasında ilişki kurar. Sık kullanılan bir harita değildir. Korneadaki odaksal düzensizliklere bağlı görme bozukluğunu belirleyip, biyomikroskopik muayenede belli olmayan görme azlığını açıklayabilir.

Yükseklik (elevasyon) haritaları: Kornea topografisi çapı özel olarak korneanın genel eğrilik yarıçapına en çok benzeyen küre (BFS- *best fit sphere*) olan, referans düzlemine göre gösterilir. Kornea üzerinde referans küre ile kesişen her bir nokta yeşil renkle temsil edilir. Sıcak renkler referans düzleminden daha yüksekteki noktaları temsil ederken, daha soğuk renkler referans düzleminden daha aşağıdaki noktaları temsil eder. Ön yükseklik değerinin kornea santralinde 10-12 μ m'den küçük olması normal, 15 μ m'den büyük olması ise keratokonus olarak kabul edilir (270). Arka yüzey yükseklik değerleri bu rakamlardan yaklaşık 2-5 μ m daha yüksektir (270, 271). Keratokonusta koni sıklıkla hem ön hem de arka yükseklik BFS'si üzerinde yüksek, eksantrik bir tepe olarak temsil edilmektedir (272).

Kalınlık (pakimetri) haritaları: Slit tarama, Scheimflug ve ön segment OKT görüntüleme teknolojileri pakimetri verisi elde edilmesini sağlamaktadır. Bu harita kalınlığın yüzey boyunca dağılımı hakkında bilgi verir. Kornea incilmesi keratokonusta koninin uç kısmına karşılık gelirken, pellusid marjinal dejenerasyonlu olgularda alt kısma denk gelir.

2.1.6.6. Keratokonusla ilişkili topografik bulgular

En erken keratokonus şüphesi bulgusudur ki, bunu saptamada en duyarlı yöntem kornea topografisidir (273). Keratokonus şüphesi olarak bilinen *Forme fruste* keratokonus hafif bir sferosilindirik kırma kusuru dışında herhangi bir oküler morbiditeye ve görsel semptomla neden olmaksızın topografik değişikliklerle kendini gösterir. Hastalık ilerledikçe onunla ilişkili aşağıdaki topografik bulgular açığa çıkar (272).

- 1) Haritada kırıcılığının yüksek olduğu dik bir bölge
- 2) Bu bölgeyi çevreleyen alanlarda kırıcılığı azalan bölgeler
- 3) Korneanın üst ve alt yarısı arasındaki güç farkı (inferiosüperior güç asimetrisi)
- 4) Horizontal meridyenin üst ve altındaki radial akslarda kayma
- 5) Artmış posterior yükseklik
- 6) Maksimum dikleşme alanında azalmış korneal pakimetri

Topografi cihazlarına keratokonus gibi ektatik hastalıkları saptamaya yardımcı olacak tarama yazılımları (yapay zeka metodları) eklenmiştir. Klyce/Maeda, Smolek/Klyce, Rbinowitz/McDonnell testi, KISA % indeksi, Rabinowitz/Rasheed ve Nidek Kornea Navigatörü gibi indeks tabanlı sistemler geliştirilmiş yapay zeka metodlarıdır (274, 275).

Rabinowitz-McDonnell testinde santral korneanın refraktif gücü ve kornea merkezindeki bir noktanın 3 mm altı ve 3mm üstündeki (I-S) K değerleri arasındaki fark dikkate alınmaktadır. Santral korneal kırma gücü $\geq 47,2$ D ve I-S değeri $\geq 1,4$ D ise şüpheli, santral kornea kırma gücü $\geq 48,7$ D ve I-S değeri $\geq 1,9$ D ise hasta mutlak keratokonus olarak değerlendirilir (275, 276).

Keratokonus yüzde indeksi (KISA): keratokonuslu hastalarda görülen topografik özellikleri nicelendirir. Aksiyel haritada aşağıdaki 4 indeks kullanılarak hesaplanır (277).

- 1) K-değeri- merkezi kornea dikleşmesinin bir ifadesi
- 2) I-S değeri – kornea alt üst kadran asimetrinin dioptrik ifadesi

- 3) AST (*astigmatism*) indeksi- reguler korneal astigmatizma derecesini ölçer (Sim K1- Sim K2). Santral 3 mm'lik zondaki en düz ve en dik meridyenlerin aksları ve güçleri sırasıyla Sim K1 ve Sim K2 olarak tanımlanır.
- 4) SRAX (*Skewed Radial Axis*) indeksi- keratokonusta meydana gelen irregüler astigmatizmanın ifadesi

Rabinowitz/Rasheed's KISA % indeksini hesaplama algoritması : (277)

$$\text{KISA} = [(K) \times (I-S) \times (AST) \times (SRAX) \times 100] / 300$$

KISA % >100 olması keratokonus lehinedir. %60-100 arası ise şüphelidir.

Keratokonusun diğer kornea patolojilerinden ayırımını kolaylaştıran bazı kornea topografi indeksleri geliştirilmiştir:

Karşı sektör indeksi (OSI, *Opposite Sector Index*), herhangi 2 zıt sektörün ortalama güçleri arasındaki maksimum farkı temsil etmektedir.

Ayırt edici sektör indeksi (DSI, *Differential Sector Index*), herhangi 2 sektörün ortalama kornea güçleri arasındaki maksimum farkı temsil etmektedir.

Merkez/Çevre indeksi (Center/Surround Index), incelenen korneanın santral 3 mm çapı ile bu santral alanı çevreleyen, içeride 1,5 mm ile dışarıda 3 mm yarıçaplı bölgeler arasında kalan halkanın ortalama kornea güçlerinin farkıdır. Bu indeks merkezi keratokonusu yakalamak için kullanılmaktadır.

Keratokonus morfolojisini gösterme konusunda elevasyon tabanlı topografi cihazı olan Pentacam arka kornea yüzeyi hakkında bilgi vermekle Placido klavuzlu sistemlere göre avantajlar sunmaktadır. Cihazdaki yazılım anormal değerleri dikkate alarak keratokonusu evrelendirmesinde kullanır. Elde edilen topografik verilere göre aşağıdaki eğrilik indeksleri hesaplanır:

Yüzey Varyansı İndeksi (ISV): Her bir kornea eğrilik yarıçapının ortalama değere göre deviasyonunu verir. ISV'nin 30'dan az olması erken evre keratokonus göstergesi olabilir. ISV değerleri keratokonus evre 1'de 30-55, evre 2'de 55-90, evre 3'de 90-150, evre 4'de >150 olarak bilinmektedir.

Vertikal Asimetri İndeksi (IVA): Kornea eğrilik yarıçapının horizontal meridyene göre simetri derecesini verir. Oblik akslı astigmatizmalarda, keratokonusta ya da limbal ektazilerde yüksektir.

Keratokonus indeksi (KI): Özellikle keratokonusta yüksektir. Başlangıç evrede 1,04-1,07, evre 1'de 1,07-1,15, evre 2'de 1,10-1,25, evre 3'de 1,15-1,45 ve evre 4'de >1,50'dir (270).

Pentacam tarafından hesaplanan diğer nicel indeksler arasında merkez keratokonus indeksi (CKI), yükseklik asimetri indeksi (IHA), yükseklik desantralizasyon indeksi (IHD), sapma katsayısı (ABR) ve minimum yarıçap (RMin) keratokonusta yüksek olarak görülmektedir (270).

Sirius tomografi cihazı kornea ve ön kamarayı 25 radyal kesitte incelemeyi sağlayan monokromatik 360 derece dönen bir Scheimpflug kamera ve Placido diskin birleşiminden oluşan ön segment analiz sistemidir (278). Kornea ön ve arka yüzeyinin tanjansiyel ve aksiyel kurvatür bilgisini sağlar, korneanın global refraktif gücünü verir, korneanın pakimetri haritalamasını ve Wavefront analizini sağlar. Kornea ön yüzeyini ve arka yüzeyini 475 nm mavi LED ışığı ile inceler (279). Kornea ön yüzey ölçüm verilerini Placido ve Scheimpflug görüntüleri uygun şekilde birleştirerek verirken, diğer iç yapıların ölçümleri Scheimpflug görüntüleme ile sağlanır (280, 281). Cihazın yazılım sistemi gözü: normal, keratokonus, keratokonus şüphesi, miyopi nedeniyle refraktif cerrahi geçirmiş veya anormal/ tedavi uygulanmış olarak sınıflamaktadır (282). Bu yazılım sisteminin kullandığı keratokonus tarama indekslerinden oluşan parametreler aşağıdakılardır:

Ön apikal keratoskopi (Akf): Ön tanjansiyel haritada en dik eğrilik değeridir.

Arka apikal keratoskopi (AKb): Arka tanjansiyel haritada en dik eğrilik değeridir.

Korneal hacim: Merkezi 10 mm'lik çaplı bölgede kornea hacmidir (mm³).

Simulate (Sim) K indeksi: 4'den 8'e kadar placido halkaları arasındaki ortalama sagittal eğrilik değerini keratometre olarak elde eder. SimK1, en düz meridyende ortalama sagittal eğrilik, SimK2 ise en dik meridyende ortalama sagittal eğrilik değerini D olarak verir.

Root mean square of higher-order aberrations (Üst düzey aberasyonların ortalama karekökü) (RMS/A ve RMSb/A): Korneanın hem ön (RMS/A) hem de arka (RMSb/A) yüzeyinin 4,5 mm, 6,0 mm veya 8,0 mm'lik alana en iyi uyan asifero-torik ideal yüzeye göre altimetrik farkının ortalama karekök değeridir (µm/mm²). RMS değerinin yüksek ölçülmesi, düzensiz kornea yüzeyinin olduğuna işaret etmektedir

(283). RMS/A'nın *cut off* değeri keratokonus şüphelisinde 0,088, keratokonusta 0,13'tür. RMSb/A için ise bu değerler sırası ile 0,212 ve 0,269'dur (283).

Ön yüzey kurvatür haritasında simetri endeksi (Sif): Vertikal ekseninde inferior yarımkürede merkezi [$x=0$ mm, $y= -1,5$ mm] koordinatlarında yer alan ve yarıçapı 1,5 mm olan dairesel alan ile superior yarımkürede merkezi [$x=0$ mm, $y= + 1,5$ mm] koordinatlarında yer alan ve yarıçapı 1,5 mm olan dairesel alan arasında ortalama anterior yüzey tanjansiyel kurvatür farkıdır. Diyoptri cinsinden hesaplanır. Sif'in pozitif değerleri, alt yarımkürenin üst yarımküreye göre daha dik olduğunu, negatif değerleri ise tersini gösterir.

Arka yüzey kurvatür haritasında simetri endeksi (Sib): Sif indeksinin arka yüzeydeki eşdeğeridir.

Ön keratokonus verteksi (KVf): Ön kornea yüzeyinde ektazinin en yüksek noktası olup μm olarak hesaplanır.

Arka keratokonus verteksi (KVb): Arka kornea yüzeyinde ektazinin en yüksek noktası olup μm olarak hesaplanır.

En ince kornea kalınlığı (Thk): Korneanın en ince noktası olup μm cinsinden hesaplanır.

Baiocchi-Calossi-Versaci indeksi (BCV): Koma, trefoil ve sferik aberasyonun karekök değerlerinin ektazi aksının fonksiyonu ile dengelendiği bir formüldür. Ön yüzey BCV (BCVf) ve arka yüzey BCV (BCVb) indekslerinin vektöryel toplamıdır.

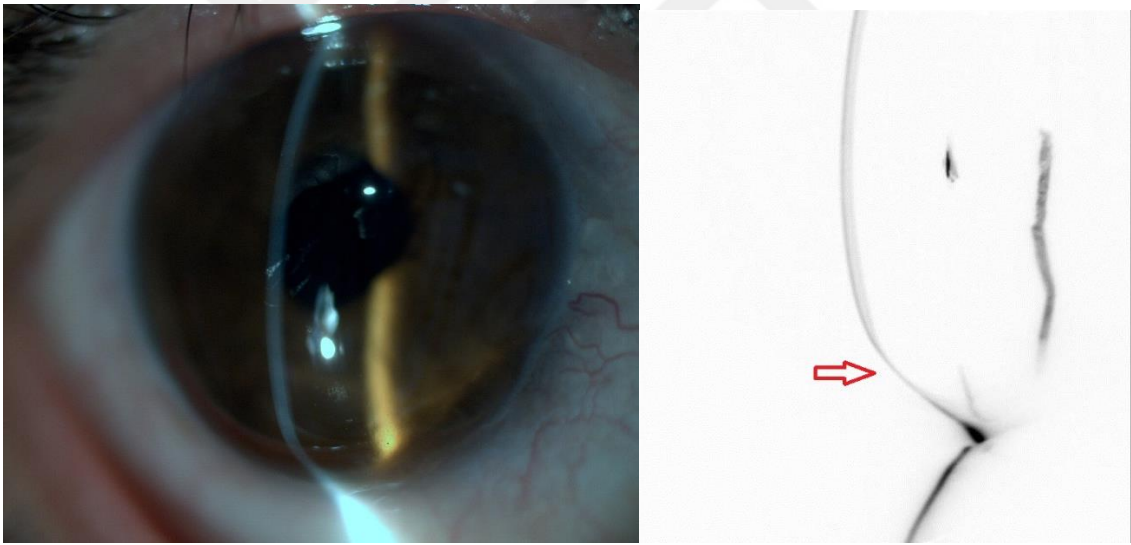
2.1.7. Ayırıcı tanı

Keratokonusun ayırıcı tanısı posterior keratokonus, pellusid marjinal dejenerasyon, keratoglobus, pseudokeratokonus, gibi ektazi ve incelmeye ile giden korneal patolojilerle yapılmalıdır. Bu hastalıkların yönetim ve prognozu keratokonustan belirgin şekilde farklıdır.

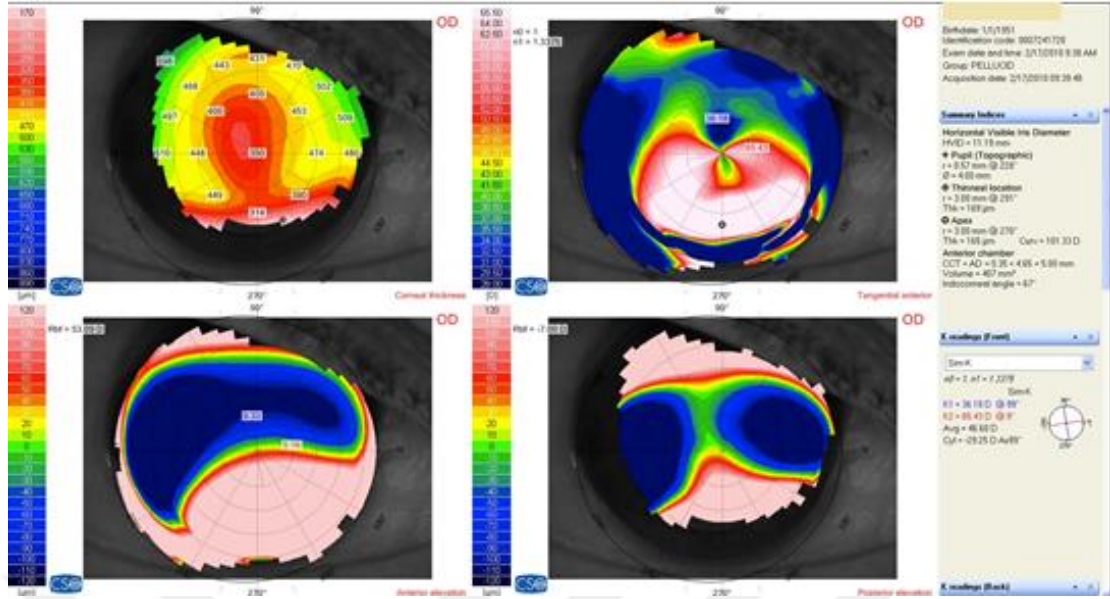
Posterior keratokonus: Konjenital kornea anomalisi olarak kabul edilir. Descemet membranı intakt olmasına rağmen anormal gelişimi söz konusudur (284). Tüm arka kornea eğriliği (*keratoconus posticus totalis*) veya lokalize bir kısım (*keratoconus posticus sirkumscripatus*) etkilenebilir. Bu nadir, enflamatuar olmayan, kornea incelmeye genellikle tek taraflı, sporadik olup keratokonustan farklı olarak progresif değildir. Sistemik hastalıklarla birlikteliği bildirilmiştir (285). Yapılan bir

çalışmada travma sonrası posterior keratokonus geliştiği gösterilmiştir (286). Hastalık genellikle anormal retinoskopik refle veya rutin bir oftalmolojik muayene sırasında tespit edilir.

Pellucid marjinal dejenerasyon (PMCD): Limbustan 1-2 mm normal kalınlıkta kornea ile ayrılan korneanın alt kısmında tipik hilal şeklinde bir incelme alanı gösteren, non-enflamatuvar hastalıktır (287). Genellikle 20-40 yaşlarda kadın ve erkeklerde aynı oranda görülür (288). PMCD kontakt lens kullanmakta güçlük yaratan ilerleyici kurala aykırı yüksek, irregüler astigmatizmayla, sık gözlük değişimiyle veya diğer gözü tam gören bir hastada rutin muayene sırasında tespit edilir. Keratokonustan farklı olarak kornea incelme alanı, artmış korneal dikleşme bölgesini altında bulunur (Şekil 11). Lee ve arkadaşları sıklıkla PMCD ile ilişkili olduğu düşünülen kornea topografisindeki kısaç bulgusunun (*claw-shaped*) patognomik olmadığı, keratokonusta da görüldüğünü vurgulamışlar (Şekil 12) (289).



Şekil 11. PMCD hastanın ön segment fotoğrafında dikleşme alanı ve ön segment OKT’de bu dikleşme alanının altında incelme görülmektedir.



Şekil 12. PMCD tanılı hastanın topografisinde yengeç kısıncı bulgusu görünümü

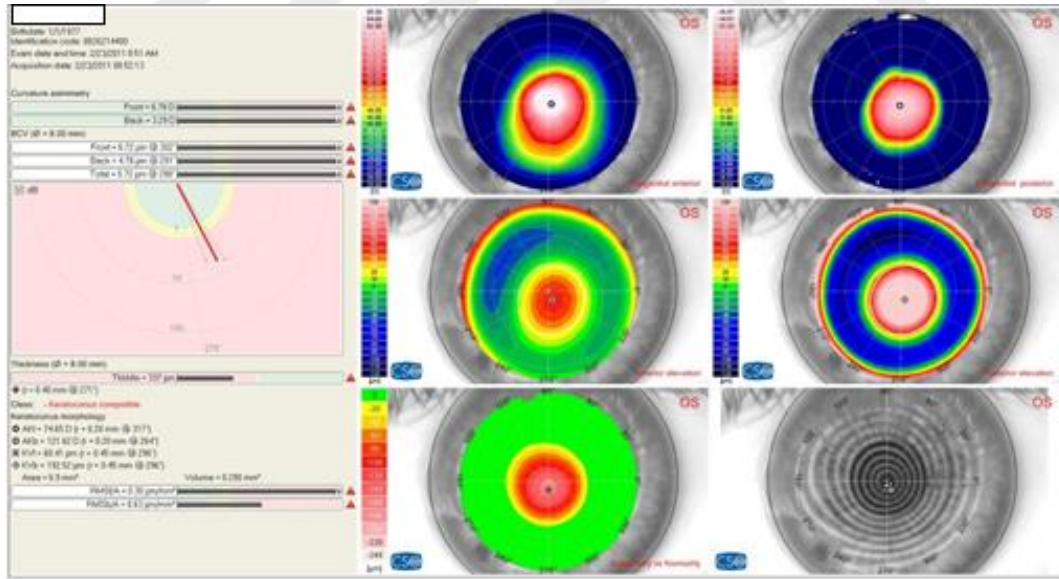
Keratoglobus: Keratokonustan farklı olarak korneanın genel olarak incilmesi ve globüler çıkıntı ile karakterize, nadir görülen, nonenflamatuvar bozukluğudur. Hem konjenital hem de edinsel olduğu gösterilmiştir. Genetik kalıtım paterni kesin olarak bilinmese de, otozomal resessif kalıtıldığı varsayılmaktadır (290). Ehlers-Danlos, Marfan ve Rubinstein-Taybi sendromu gibi bağ dokusu hastalıkları ile de ilişkilendirilmiştir (291). Mavi sklera, el ve ayak bileği eklemlerinin hiperekstansibilitesi, sensörinöral işitme anomalisi ve dişlerde beneklenme gibi bulguları olan ailesel keratoglobus olguları da bildirilmiştir (292). Keratoglobusun klinik bulguları spesifik papyon veya benzer paternlerin olmaması, düzensiz keratometrik değerlerle birlikte yaygın olarak düzleşmiş kornea, yüksek posterior elevasyon ve incelmış pakimetrik değerleri kapsar. Aşırı incelmeye bağlı olarak korneada minimal travma sonucu bile rüptür gelişebilmektedir (293).

Psödokeratokonus: Sert gaz geçirgen kontakt lens (SGGKL) kullanıcılarında ve uzun süredir yumuşak kontakt lens (YKL) kullananlarda mekanik etki ve hipoksi nedeniyle gelişen kornea eğim bozukluğu (*warp*) topografide erken keratokonus benzeri görünüme neden olabilir. Uygun olmayan KL'lerin altında korneanın düzleşmesi, lensin oturma yerinin dışındaki korneada dikleşme ve radyal asimetri görülür (294). Hidrojel ve silikon hidrojel materyali olan YKL'ler arasında eğim bozukluğu prevalansı ve iyileşme süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark

bulunmamıştır (295). Farklı lens tiplerinde ise topografi patern için iyileşme: Uzun süre YKL kullananlarda $11,6 \pm 8,5$ hafta, yumuşak torik KL kullananlarda $5,5 \pm 4,9$ hafta, yumuşak günlük KL kullananlarda $2,5 \pm 2,1$ hafta ve SGGKL kullananlarda $8,8 \pm 6,8$ hafta bulunmuştur (296). Keratorefraktif cerrahi ve göz içi lens implantasyonu planlanan KL kullanıcısı olan hastalarda bu sürecin doğru değerlendirilmesi önem arz etmektedir.

Diğer bir psödokeratokonus nedeni derin marjinal kornea vaskülarizasyonu, stromal incelme ve opaklaşmaya yol açan oküler rozaseadır. Keratokonusa benzer yüksek asimetric astigmatizma ve alt kornea incelmesi gelişen oküler rozasea tanıli hastalar bildirilmiştir (297, 298).

Keratektazi (İyatrojenik keratokonus): Refraktif cerrahisi sonrası progressif kornea incelmesi ve irregüler astigmatizma ile karakterizedir (299). Bu değişiklikler bazı yazarlar tarafından sekonder keratokonus olarak tanımlanmıştır. LASIK (*laser in situ keratomileusis*), RK (*radial keratectomy*), PRK (*photorefractive keratectomy*), PKP ve DALK sonrası literatürde bildirilmiştir (Şekil 13) (300-304).



Şekil 13. LASIK sonrası keratokonus gelişen bir hastanın topografisi

2.1.8. Keratokonus sınıflandırılması

Literatürde korneanın morfolojik şekli, hastalık gelişimi, oküler bulgular ve indeks tabanlı sistemlere dayalı çeşitli keratokonus sınıflandırmaları önerilmiştir.

2.1.8.1. Morfolojik sınıflanma

Keratometre yardımı ile keratkonusta koninin üç temel morfolojik şekli tanımlanmıştır (305).

- **Sivri koni (nipple):** Çapı ≤ 5 mm, merkezi veya parasantral korneada ve daha yaygın olarak inferonazal kornea kadranda bulunur. Kontakt lensle refraktif düzeltme başarılıdır.
- **Oval (sarkan tip) koni:** Çapı 5-6 mm büyüklüğünde, parasantral veya periferik olarak ve daha yaygın olarak inferotemporal korneal kadranda yerleşir. Kontakt lensle düzeltme daha zordur.
- **Globus koni:** Çapı 6 mm'den büyük ve korneanın %75'ni kapsar. Kontakt lensle düzeltme diğer morfolojik tiplere göre daha zordur.

Kornea topografisinin yaygın kullanımı, inferotemporal dikleşmeden ziyade, superior, nazal ve santral korneayı etkileyen yeni keratokonus paternlerinin saptanmasına olanak sağlamıştır (306). Keratokonus ile ilişkili farklı topografik paternlerin daha kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesi, kontakt lens yönetim ve tasarımına yardımcı olabilecek bilgiler sağlamaktadır.

Aşağıdaki topografik parametreler keratokonus için şüphe uyandırdığından daha fazla inceleme yapılmalıdır (307).

- Astigmatizm >5 diyoptri (D)
- Düz veya dik keratometri değeri ($K1$ veya $K2$) > 48 D
- Maksimum keratometri (K_{max}) >49 D
- Merkezi kornea kalınlığı (MKK) <470 μm
- Kornea asferisi (Q) $> -0,50$ μm

2.1.8.2. Keratometrik sınıflanma

Ortalama keratometri (K_m) değeri ve eğrilik yarıçapına (R) göre aşağıdaki gibi sınıflandırılır.

1. Hafif keratokonus: Km <45 D, R <7.50 mm
2. Orta keratokonus: Km: 45-52 D, R: 7.50-6.50 mm
3. İleri keratokonus: Km: 53-62 D, R <6.50 mm
4. Çok ileri keratokonus: Km> 62 D, R <5.60 mm

2.1.8.3. Amsler-Krumeich sınıflaması

Keratokonusun şiddeti refraksiyon (miyopi ve astigmatizma miktarı), topografi (eksantrik dikleşme, ortalama merkezi K değeri), pakimetri (korneanın en ince yerinde) ve biyomikroskopik kornea bulgularına (Vogt çizgileri, korneal opasiteler ve skar) dayanarak dört evreye bölünmüştür (308) (Tablo 2).

Tablo 2. Amsler-Krumeich keratokonus sınıflaması

Evre 1	Eksantrik dikleşme Miyopi ve/veya indüklenmiş astigmatizm $\leq 5,00$ D Ortalama merkezi K değeri $\leq 48,00$ D Vogt striası ve kornea opasitesi yok
Evre 2	Miyop ve/veya indüklenmiş astigmatizm $>5,00$ D ve $\leq 8,00$ D Ortalama merkezi K değeri $\leq 53,00$ D Skar olmaması En ince kornea kalınlığı ≥ 400 μm
Evre 3	Miyop ve/veya indüklenmiş astigmatizm $>8,00$ D ve $\leq 10,00$ D Ortalama merkezi K değeri $>53,00$ D Skar olmaması En ince kornea kalınlığı 300- 400 μm
Evre 4	Refraksiyon ölçülemez Ortalama merkezi K değeri $>55,00$ D Kornea merkezinde skar En ince kornea kalınlığı ≤ 300 μm

2.1.8.4. Alio-Shabayek Sınıflaması

Amsler-Krumeich sınıflaması yaygın olarak kullanılsa da aynı hastanın farklı evrelere ait bulgular göstermesi, klinik kullanımında zorluklar ortaya çıkarmaktadır. Bu sınıflanma Alio ve Shabayek tarafından korneal aberasyonlar eklenerek modifiye edilmiştir. Keratokonus tanılı 40 gözde aberometre analizi sonucunda koma benzeri (*coma-like*) aberasyonların özellikle önemli olduğu belirtilmiştir (309). Koma benzeri aberasyonu evre 1’de 1,50- 2,50 μm ; evre 2’de $>2,50$ ve $\leq 3,50$ μm ; evre 3’de $>3,50$ ve $\leq 4,50$ μm , evre 4’de $>4,50$ μm olduğu bildirilmiştir (309, 310).

2.1.8.5. Belin ABCD Sınıflaması

Belin ABCD sınıflandırması 2016 yılında Oculus Pentacam (Oculus GmbH, Wetzlar, Almanya) tomografi sistemi ile Amsler-Krumeich evrelendirmesindeki olan eksiklikleri gidermek için bildirilmiştir (311). Tomografi sistemi ile merkezi en ince nokta olan 3 mm’lik alanda ön ve arka kornea yüzey verileri elde edilir (311) (Tablo 4).

Sınıflamada kullanılan kriterler:

- A kriteri: Korneanın en ince olduğu bölgenin ön eğrilik yarıçapı (ARC)
- B kriteri: Korneanın en ince olduğu bölgenin arka eğrilik yarıçapı (PRC)
- C kriteri: En ince pakimetri değeri
- D kriteri: En iyi düzeltilmiş görme keskinliği (EDGK)
- Skar olup, olmaması ve iris detaylarının seçilmesine göre (-, +, ++)
değerlendirilir

Tablo 3. ABCD Keratokonus Evrenmesi

	ARC	PRC	C	D	Skar
Evre 0	> 7,25 mm (<46,5 D)	> 5,90 mm	> 490 µm	≥ 20/20 (≥1,0)	-
Evre 1	> 7,05 mm (<48,0 D)	> 5,70 mm	> 450 µm	<20/20 (<1,0)	-, +, ++
Evre 2	> 6,35 mm (<53,0 D)	> 5,15 mm	> 400 µm	<20/40 (<0,5)	-, +, ++
Evre 3	> 6,15 mm (<55,0 D)	> 4,95 mm	> 300 µm	<20/100 (<0,2)	-, +, ++
Evre 4	<6,15 mm (> 55,0 D)	<4,95 mm	≤ 300 µm	<20/400 (<0,05)	-, +, ++

2.1.8.6. CLEK (Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus Study Group) Sınıflaması

CLEK çalışması sekiz yıl boyunca her yıl muayene edilen 1209 keratokonus hastasının dahil olduğu çok merkezli çalışmadır. Çalışmanın amacı görme keskinliği, kornea eğriliği, biyomikroskopik bulgular ve yaşam kalitesindeki değişiklikleri ileriye dönük olarak karakterize etmek ve zaman içinde bu değişikliklerle ilişkili faktörleri belirlemektir (62). Keratokonus sınıflandırmasında objektif ve subjektif değerlendirmeleri birlikte kullanan sınıflandırma şeması olmadığından, yayınlanmış keratokonus çalışmaları dikkate alınarak CLEK altın standart derecelendirme sistemi bu amaçla geliştirilmiştir (Tablo 5) (312) .

Tablo 4. CLEK sınıflaması

Normal	Normal aksiyel topografik patern Normal biyomikroskopik muayene Düzeltilmiş görme keskinliği: LogMAR (Logarithm of the minimum angle of resolution) eşelinde 4 metreden $\geq$ 55 harf (herhangi bir göz hastalığının olmaması)
Atipik normal	Biyomikroskopik muayene veya öykü ile açıklanan aksiyel topografi bulguları (kontakt lense bağlı kornea eğim bozukluğu, keratokonusa özgü olmayan kornea skarları, refraktif cerrahi öyküsü) Normal veya azalmış görme keskinliği
Keratokonus Şüphesi	Keratokonus için şüpheli aksiyel topografi (izole dikleşme alanı, merkezi dikleşme >48 D) Normal biyomikroskopik muayene Düzeltilmiş görme keskinliği: LogMAR eşelinde 4 metreden $\geq$ 55 harf
Hafif keratokonus	Keratokonus ile uyumlu aksiyel topografi K1 <51 D Fleischer halkası veya Vogt striaları Korneada skar olamamsı Düzeltilmiş görme keskinliği: LogMar grafiğinde 4 m'de <55 harf
Orta derecede keratokonus	Keratokonus ile uyumlu aksiyel topografi K1 51,25- 56,00 D veya astigmatizma $\geq 8,0$ D Fleischer halkası veya Vogt striaları Keratokonus ile uyumlu yarısaydam, $\geq 2,5$ mm stromal skar (CLEK grade 3.0) Düzeltilmiş görme keskinliği: LogMar grafiğinde 4 m'de ≤ 45 harf)
Ciddi Keratokonus	Belirgin dikleşme alanları gösteren keratokonus ile uyumlu aksiyel topografi K1 $>56,01$ D Fleischer halkası veya Vogt striaları Keratokonus ile uyumlu opak, $\geq 2,5$ mm stromal skar (CLEK grade 4) Düzeltilmiş görme keskinliği: LogMar eşelinde 4 metreden <30 harf

2.1.9. Tedavi

Hastaların daha iyi görsel rehabilitasyonu sağlamak için keratokonus evresine göre tedavi yaklaşımı belirlenmektedir. Tanı yöntemlerinin geliştirilmesi ile hastalığın erken teşhis oranı artsa da hastalığın medikal ve cerrahi olarak tedavi algoritmasındaki tartışmalar devam etmektedir. Keratokonus ve diğer kornea ektatik hastalıklarının tedavi yönetiminde bir fikir birliğine sahip olmak için Delphi metodu ileri sürülmüştür (313).

2.1.9.1. Refraktif Düzeltme

Gözlük: Hafif ve subklinik keratokonus olgularında gözlük tashihi düzenli miyop ve astigmatizmayı düzeltmede genelde yeterlidir. Hastalık ilerledikçe artan miyopi, düzensiz astigmatizma ve yüksek sıralı aberasyonlar nedeni ile gözlük tatmin edici görüş sağlamaya bilir. Bu durumda kontakt lensler kırma kusurlarının düzeltilmesi ve kornea düzensizliklerinin giderilmesinde kullanılır.

Kontakt lensler: Hastaya reçete edilen kontakt lens tipi keratokonusun evresine bağlıdır (314). Yumuşak lensler, yumuşak torik veya özel yumuşak torik kontakt lensler, hastalığın erken evrelerinde miyopi, düzenli astigmatizma ve hafif düzensiz astigmatizmayı düzeltmek için yeterli olabilir. Hastalık ilerledikçe sert gaz geçirgen (RGP) lensler veya hibrid lensler, piggyback veya skleral lensler gibi çeşitli özel lensler gerekebilir (315).

2.1.9.2. Cerrahi tedavi

Kontakt lenslere intolerans gelişen, kornea santralinde opasite, sık akut hidrops atakları geçiren ve ileri evre ciddi keratokonus hastalarında cerrahi tedavi gereklidir.

İntrastromal kornea halka segmentleri (ICRS): Korneanın morfolojisi ve kırma gücünü değiştirmek için tasarlanmış sentetik (polimetilmetakrilat) yapılı tıbbi malzemelerdir. ICRS implantasyonu, korneada düzleşme, görme keskinliğinde artış, kontakt lens toleransında artma sağlayan, güvenli ve geri dönüşümlü bir tekniktir (315). Farklı uzunluk, kalınlık, çap ve yapıda ICRS'ler (Intacs, Kerarings, Ferrera, MyoRing) mevcuttur. ICRS tipi, yerleştirme tekniği ve hasta seçimi gibi çeşitli faktörler nihai sonuca katkıda bulunur (316). Segmentlerin yerleştirileceği korneada tüneller manuel, vakum sistemi veya femtosaniye lazer kullanımı ile gerçekleştirilebilir (317).

Femtosaniye lazer tüneli oluşturmada, doğru ve kesin bir implantasyon derinliği sağlamakla beraber ameliyat sonrası komplikasyon riskini azaltmıştır (317).

Keratoplasti: Kontakt lens intoleransı gelişen, uygun lens bulunmayan ve alternatif tedavilerden fayda görmeyeceği düşünülen hastalara cerrahi girişim düşünülebilir. Kornea santralinde opasite gelişen, ileri evre ve sık akut hidrops atakları geçiren hastalarda PKP tercih edilmektedir. DALK'ın görme sonuçları PKP'ye göre daha az tatminkar olsa da bir çok avantajlarından dolayı günümüzde popülaritesi giderek artmaktadır (318). Düşük greft reddi oranı, endotelial hücrelerin korunması, koroidal kanama, retina dekolmanı, kistoid makula ödemi gibi komplikasyonların riskinde ve postoperatif steroid ajanlarının kısa sürede kullanılması nedeniyle katarakt ve glokom oluşumu insidansında azalmaya yol açmaktadır(319).

Korneal çapraz bağlama (Corneal Cross-linking, CXL): Keratokonusun ilerlemesini durdurmak için Wollensak ve arkadaşları tarafından tanıtılan, minimal invaziv prosedürdür. Riboflavin ve UV-A ile korneada çapraz bağların arttırılarak, korneanın mekanik gücünün kuvvetlendirilebileceğini ve bunun klinik sonucunda da keratokonusdaki ilerlemenin durdurulabileceğini göstermişlerdir (320). Riboflavin, fotopolimerizasyon sürecinde ışığa duyarlılaştırıcı rol oynar ve UV-A ile birleştirildiğinde, moleküler bir süreç yoluyla intrafibriler ve interfibriller karbonil bazlı kollajen kovalent bağların oluşumunu arttırır (321). CXL'in etki derinliğinin korneanın ön 300 µm ile sınırlı olduğu in vitro çalışmalarda gösterilmiştir (322).

Konvansiyonel cerrahi protokol (Dresden protokolü): İşlem ameliyathane ortamında steril koşullarda yapılır. Hastanın gözüne topikal anestezi ve miyotik ilaçlar damlatılır. Riboflavinin stromaya daha iyi difüzyonunu sağlamak için kornea merkezinde yaklaşık olarak 8-9 mm çapındaki bir alandan epitel uzaklaştırılır. Epitelin uzaklaştırılması %20'lik etanol kullanılarak, mekanik olarak veya göz için özel üretilmiş fırçalama sistemleri ile yapılabilir. Işınlamadan 20-30 dakika önce başlayarak, her 2-5 dakikada bir %0,1'lik bir riboflavin çözeltisi damlatılır. Kornea kalınlığının 400 µm'den yüksek olduğu ölçüldükten ve ön kamarada riboflavin floresansı görüldükten sonra, 370 nm UV-A 30 dakika boyunca 3 mW/cm² (5,4 J/cm²) dozunda uygulanır (323).

Tedavi etkinliği yaklaşık 2 hafta sonra biyomikroskopik muayene ve ön segment OKT'de görülen demarkasyon hattının oluşumuna göre değerlendirilir (324). Yapılan

birçok çalışmada CXL tedavisi sonrası oluşan faydalı değişiklikler gösterilmiştir. Hersh ve arkadaşları CXL tedavisi (Dresden protokolü) sonrası 1 yıllık takipte progresif keratokonuslu hastaların tashihsiz ve tashihli görme keskinliği ve maksimum keratometri değerinde istatistiksel olarak anlamlı iyileşme izlemişlerdir (325). Keratometrik değerlerdeki düzleşmenin yıllar sonrada devam ettiği çalışmalarda gösterilmiştir (326, 327).

Komplikasyonlar; gecikmiş epitel iyileşmesi, kornea bulanıklığı, azalmış kornea duyarlılığı, enfeksiyöz keratit, dirençli kornea ödemi ve endotel hücre hasarındır. Olası komplikasyonlardan kaçınmak için konvansiyonel CXL tedavi yöntemine farklı modifikasyonlar yapılmıştır.

Transepitelyal CXL: Epitel kazınmadan (*epi-on*) daha ince kornealara yapılan çapraz bağlama yöntemidir. Riboflavin, moleküler ağırlığı yüksek, hidrofilik bir molekül olduğundan, sağlıklı epiteli geçemez. Bu nedenle etilendiamintetraasetik asit, benzalkonyum klorür, gentamisin ve trometamol gibi maddeler, epitelden geçirgenliğini arttırmak için riboflavin ile kombine edilir (328). Epitelin intakt olması hasta konforunu artırmakla beraber, enfektif keratit, stromal bulanık ve intraoperatif korneal incelleme riskini azaltır. Bu avantajların olmasına rağmen yapılan çalışmalarda konvansiyonel (*epi-off*) yöntemine göre etkinliği daha düşük bulunmuştur (329, 330).

İyontoforez yardımcı transepitelyal CXL (I-CXL): Bu noninvaziv yöntemde, iyonize bir maddenin (riboflavin) küçük elektrik akımı kullanılarak, dokuya nüfuz etmesi sağlanmaktadır (331). Yapılan bir çalışmada, standart CXL tedavisi ile I-CXL karşılaştırılmıştır, ilk 6 ayda I-CXL grubunda görme keskinliği anlamlı olarak daha iyi olsa da 24 ay sonra anlamlı fark bulunmamıştır. Her iki grupta da demarkasyon hattı oluşumu, keratometri değerlerinde stabilizasyon ve gerileme görülmüştür, fakat altın standart olan konvansiyonel CXL tedavisinin daha etkili olduğu vurgulanmıştır (332).

Hızlandırılmış CXL (ACXL): Bu yöntem konvansiyonel CXL'in işlem süresini kısaltmak ve hastanın intra ve postoperatif konforunu artırmak için geliştirilmiştir. Araştırmacılar Bunsen-Roscoe fotokimyasal karşılıklılık kanununa dayanarak (aynı fotokimyasal etkinin daha kısa bir süre boyunca benzer enerji verilerek elde edilmesi) toplamda korneaya verilecek enerji miktarı sabit tutularak, UV-A tedavi süresini kısaltmışlar (315). Farklı protokoller kullanan birçok çalışmada, keratokonus progresyonunu durdurmada güvenli ve etkili olduğu gösterilmiştir (333-335). Yapılan

bir çalışmada konvasiyonel CXL'e kıyasla demarkasyon hattının oluşma derinliğinin daha yüzeysel veya etkilenen stromal hacmin daha az olduğunu göstermişler (336). Kymionis ve arkadaşları ise modifiye edilmiş ACXL protokolü kullanarak demarkasyon hattının derinliğinde hiçbir fark bulamamışlardır (337). Hızlandırılmış CXL tedavisinde optimum etkinlik sağlayacak protokol halen araştırılmaktadır.

Pulse/Oksijenli CXL: Riboflavin ve UV-A ile korneal çapraz bağlama yöntemi oksijene bağımlı olan bir sistemle çalışmaktadır. İşlem sırasında korneada oksijen miktarını yükselterek tedavi etkinliğini artırmak için iki farklı yöntem tanımlanmıştır. Bunlardan birincisi, pulse CXL yönteminde oksijen konsantrasyonunu artırmak için UV-A devamlı olarak değil, belirli aralıklarla (*on-off paterni*) uygulanmaktadır. Böylelikle ışınlama aralarında oksijenin stromaya difüzyonu sağlanmaktadır (315). İkinci yöntem oksijenli CXL'de UV-A tedavisi sırasında korneaya sürekli/ aralıklarla oksijen verilir. Mazzotta ve arkadaşları pulse CXL uygulanan hastaların ACXL tedavisi alan gruba göre demarkasyon hattının daha derinde oluştuğu ve fonksiyonel başarısının daha iyi olduğu sonucuna varmışlardır (338).

CXL plus: Kymionis 2011 yılında "CXL plus" terimini CXL ile kombine yapılan refraktif prosedürleri tanımlamak için kullanmıştır (339). Topografi kılavuzluğunda PRK, CXL tedavisi ile aynı anda ve 6 ay sonra yapılmış hasta grupları karşılaştırılmıştır. Aynı günde PRK sonrası CXL yapılan grupta tedavini daha etkili olduğu gösterilmiştir (340).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu prospektif çalışmaya Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi (ÇÜTF) Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Kornea Birimi'nde keratokonus tanısı alan hastalar dahil edildi. ÇÜTF Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra gönüllü olan ve bilgilendirilmiş onam formunu imzalayan 30 hasta çalışmaya alındı. Bu çalışma Helsinki Deklarasyonu'na uygun olarak yürütüldü. Veri toplama formunda kaydedilen bilgiler; hastaların yaşı, cinsiyeti, tanı alma tarihi, ailede keratokonus varlığı, anne-baba akrabalığı, sistemik (Atopi öyküsü, Marfan sendromu, Ehlers-Danlos sendromu, Osteogenezis imperfekta, Down sendromu) ve oküler hastalıklar idi.

Keratokonus tanısı klinik muayene ve topografik bulgulara dayanılarak konuldu. Korneada dikleşme, stromal incelme, Fleischer halkası, Vogt striaları, geçirilmiş akut hidrops ataklarına bağlı olarak gelişen skar ile Munson ve Rizutti fenomeni varlığı klinik muayenede incelendi. Ayrıca, bu bulgular olmaksızın yüksek astigmatik refraktif kusur saptanan olgulara keratokonus açısından topografik değerlendirme yapıldı.

Topografi ölçümleri Sirius korneal tomografi cihazı (Costruzione Strumenti Oftalmici, Florence, İtalya) ile yapıldı. Uygun kalitede yapılan çekimler değerlendirmeye alındı. Keratokonus tanısı aşağıdaki parametreler ışığında konuldu;

- Ön veya arka tanjansiyel haritada asimetrik papyon paterni (üst ve alt kadrın güç asimetrisi)
- Ön veya arka elevasyon haritasında, tanjansiyel haritada görülen dikleşme bölgesine uyan alanda elevasyon
- Pakimetrik haritada kornea dikleşme bölgesine uyan alanda incelme

Tüm hastaların ön segment fotoğrafları alındı.

Keratokonus evrelemesi Amsler-Krumeich sınıflamasına göre 4 evrede değerlendirildi.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri:

- Klinik ve topografik olarak keratokonus tanısı konulması
- Onam alınması

Dışlanma kriterleri:

- Klinik ve topografik olarak kesin keratokonus tanısı almayan veya her iki gözünde de keratokonus şüphesi olanlar
- Vernal ve alerjik konjonktivit dışında herhangi bir oküler patolojinin olması
- Keratokonusun yüksek komorbidite gösterdiği sendromlar (ör: Down, Turner) ve bağ dokusu hastalıkları (ör: MVP, Ehlers-Danlos, Marfan)
- Yoğun radyasyon ve UV ışın gibi oksidatif stres faktörlerine maruz kalma riski yüksek meslek grupları (ör: radyoloji teknisyenleri).

Keratokonus tanısı alan hastaların genetik analiz için alınan periferik kan örnekleri, ilgili bilgilendirilmiş onam formları da alınarak, ÇÜTF Balcalı Hastanesi Hücre ve Biyobankası'nda kayıt altına alındı. Periferik kan örnekleri ve formlar, ÇÜ Adana Genetik Hastalıklar Tanı ve Tedavi Merkezi (AGENTEM) ve ÇÜTF Tıbbi Genetik Anabilim Dalı sorumlu öğretim üyesine, Kişisel Verilerin Korunması Kanunu'na uyumlu biçimde teslim edildi.

Çukurova Üniversitesi AGENTEM ve ÇÜTF Tıbbi Genetik Anabilim Dalı bünyesinde yapılacak moleküler genetik çalışmalar için seçilen hastalardan alınan periferik kan örneklerinden DNA izolasyonu otomatize sistem (QiaCube, Qiagen) aracılığıyla ilgili kitler kullanılarak yapıldı. İzolasyon aşaması tamamlanan örnekler ölçüm aşamasına alındı ve ölçümler DNA konsantrasyon ölçüm cihazı ile florometrik olarak yapıldı. Konsantrasyonu yeterli olan örnekler, kütüphane oluşturulması için çalışmanın bir sonraki aşamasına aktarıldı.

Sensitivite ve spesifisiteyi artırmak, ayrıca maliyeti azaltmak amacıyla araştırılan genleri dizilemek için yeni nesil dizi analizi yöntemi kullanılmış olup ilgili genlere ait primer dizaynları Çukurova Üniversitesi AGENTEM bünyesinde gerçekleştirildi.

Yeni nesil dizileme işleminde prosedüre fragmantasyon aşaması ile başlandı ve büyük fragmanların istenilen boyuta getirilerek barkodlamanın sağlanabilmesi için kırık uçların oluşumu sağlandı. Bu aşamada enzimatik olarak fragmente edilen DNA'lar hem polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) duplikantlarının elimine edilmesini hem de klonalite tespitini sağlayabilmek adına moleküler olarak etiketlendi.

Sonraki aşamada ilgili gen bölgeleri multipleks PZR ile çoğaltılarak, hedef bölgelerin zenginleştirilmesi sağlandı. Elde edilen PZR ürünleri saflaştırma işlemleri sonrası yeni nesil dizilemeye yönelik olarak barkodlanarak kütüphane oluşturuldu ve real time (eş zamanlı) PZR yöntemiyle kalite ve miktar tayini yapıldı. Kütüphane oluşturulma aşaması sonrası örneklerin konsantrasyonları, ÇÜ AGENTEM’de optimize ve valide olarak uygulanan hesaplamalar ve parametreler ile yeni nesil dizileme cihazında (Illumina MiSeq- San Diego, ABD) dizilendi.

Yeni nesil dizileme sonucunda elde edilen verilerin kalite kontrolleri aşamalı olarak FASTQ dosyalarının kontrolü, sekans kalite skoru kontrolü, döngü kalite skoru kontrolü, son ürün miktarının kontrolü, son ürün/filtreden geçen ürün kontrolü, örnekler arası ürün miktarı kontrolü, örnek kalite kontrolü/çalışma kalite kontrolü ve kalite kontrol parametrelerinin kontrolü şeklinde gerçekleştirilerek uluslararası standartlara uygun biçimde yapıldı. Varyantların değerlendirilmesi de ilgili gen paneline yönelik üçüncü parti bir teknogirişim ve biyoinformatik firması (İnfoGenom-AB, Adana, Türkiye) tarafından oluşturuldu ve ÇÜ AGENTEM’de kullanılan biyoinformatik analiz algoritması aracılığıyla analiz edilerek gerçekleştirildi.

Hasta örneklerine ait elde edilen diziler, okumaya yönelik kalite kontrollerinden geçirildikten sonra referans dizilerle karşılaştırıldı. Bunun için ÇÜ AGENTEM bünyesinde kullanılmakta olan algoritma ile en az iki ayrı yazılım kullanılarak uluslararası standartların da üzerinde bir kalite standardında analizler gerçekleştirildi (İnfoGenom-AB ve QCI-I). Sonrasında her bir hasta için elde edilecek dizi farklılıkları ortaya konarak listelendi, Tıbbi Genetik alanında uzman bir hekim tarafından hastaların klinikleri ile uyumlu olan hastalık etiyolojisi ve/veya prognostik öneme sahip varyantların klinik raporlaması yapıldı.

Hastalarda yapılan yeni nesil dizi analizi çalışmalarında tespit edilen değişikliklerin her biri önce Human Genome Mutation Database (HGMD), NCBI dbSNP database, VARSOME (*The Human Genomic Variant Search Engine*) ve PubMed veri kaynakları kullanılarak bilinen ve daha önce hastalıkla ilişkilendirilen varyantlar açısından değerlendirildi. Bu kaynaklarda yer almayan değişikliklerde, nükleotid ve amino asit değişimlerinin protein fonksiyonları üzerine etkilerini tahmin etmek için en az üç ayrı in-siliko analiz aracı (PolyPhen2, SIFT, MutationTaster,

DANN, EIGEN vb) kullanılarak varyantın olası etkisi (patojenikten benigne kadar geniş bir spektrumda) ortaya konuldu.

VARSome veritabanında arama motoruna saptanan varyantın gen üzerindeki lokalizasyonu ve nükleotid değişimi bilgisi girilerek biyoinformatik analiz sonuçlarına ulaşıldı. DNA’da oluşan değişikliklerin patojenik olma potansiyeli, "The American College of Medical Genetics and Genomics" (ACMG)’nin son kılavuzuna uygun olarak; olası benign (LB), benign (B), klinik önemi bilinmeyen (VUS: variants of uncertain significance; etkisi henüz bilinmeyen genetik değişiklik, varyantın normal veya hastalığa neden olup olmadığını belirlemek için yeterli bilgiye sahip olunmaması durumu), olası patojen (LP) ve patojen (P) olmak üzere beş ayrı sınıfta incelendi (341).

3.1. Verilerin İstatistiksel Analizi

Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sayısal ölçümler ise ortalama ve standart sapma (gerekli yerlerde ortanca ve minimum- maksimum) olarak özetlendi. Verilerin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics Versiyon 20.0 paket programı kullanıldı.

4. BULGULAR

Bu çalışmaya ortalama yaşları $28,63 \pm 10,93$ (12-52) olan 30 keratokonus hastası dahil edildi. Hastaların 14'ü (%46,7) erkek, 16'sı (%53,3) kadın idi. Beş hastanın tek gözüne, 1 hastanın ise her iki gözüne keratoplasti (5 PKP +2 DALK) cerrahisi yapılmış idi. Çalışmaya dahil edilen hastaların demografik özellikleri Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 5. Çalışmaya dahil edilen hastaların demografik özellikleri

Yaş (yıl)	
Ortalama $\pm$ SS	$28,63 \pm 10,93$
Ortanca (dağılım)	$24,5 \pm (12- 52)$
Cinsiyet n (%)	
Erkek (n)	14 (%46,7)
Kadın (n)	16 (%53,3)
Ailede keratokonus	
Evet	10 (%33,3)
Hayır	20 (%66,7)
Anne- baba akrabalığı	
Evet	14 (%46,7)
Hayır	16 (%53,3)

SS: Standart sapma

Hastaların 17'sinde (%56,67) herhangi bir sistemik ve oküler hastalık öyküsü yoktu. Beş (%16,67) hastada mevsimsel alerjik konjonktivit, 4 (%13,33) hastada ise vernal keratokonjonktivit mevcuttu. Olası sistemik patolojiler açısından incelendiğinde, 2 (%6,67) hastada atopi öyküsü, 1 (%3,33) hastada kronik hepatit B enfeksiyonu, 1 (%3,33) hastada ise sistemik hipertansyon ve hipotiroidi mevcut idi.

Amsler-Krumeich keratokonus sınıflama sistemine göre evre 1'de 7 (%23,3), evre 2'de 10 (%33,3) evre 3'te 3 (%10), evre 4'te ise 10 (%33,3) hasta mevcuttu. Hastaların gözlük tashihi ile en iyi düzeltilmiş görme keskinliği (EİDGK) sağ göz için $0,27 \pm 0,44$, sol göz için $0,24 \pm 0,36$ logMAR idi.

Genetik Analiz

Yeni nesil dizileme yöntemi ile hastaların *VSX1* ve *LOX* genlerinin analizinde; *LOX* geninde herhangi bir mutasyon saptanmaz iken, iki hastanın *VSX1* geninde 2 farklı (c.113 G>A; c.808+17 G>A) varyant saptandı (Tablo 6).

Tablo 6. *VSX1* geninde saptanan mutasyonlar

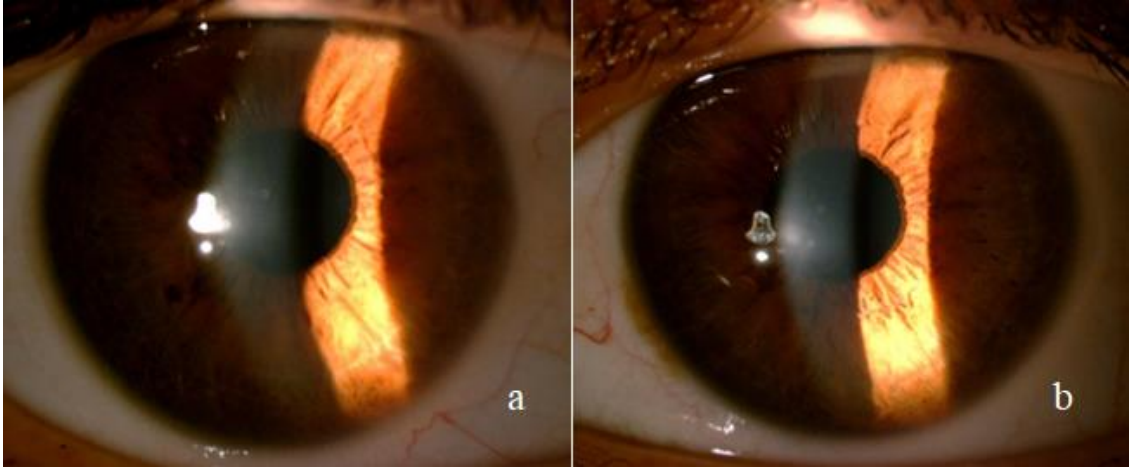
Hasta numarası	Genetik varyant	Protein mutasyonu	20. kromozomda konumu	db SNP ID	Allel sıklığı
Olgu 8	c.113 G>A	p.G38D (p.Gly38Asp)	25062620	rs954041391	0,0000319
Olgu 23	c.808+17G>A	İntronik varyant	25058304	rs559185959	0,000153

Olgu 8

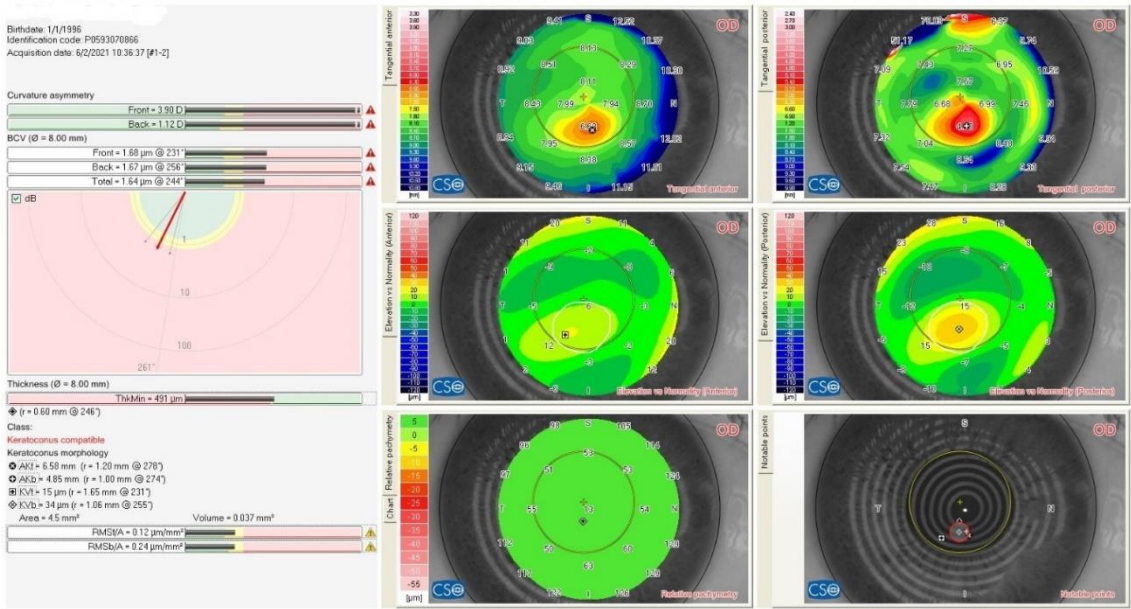
Yirmi dört yaşındaki kadın hastanın ilk olarak 5 yıl önce bulanık görme şikayetiyle kliniğimize başvurma öyküsü mevcut idi. Hastanın anamnezinde herhangi bir oküler ve sistemik hastalık öyküsü saptanmadı. Hastanın ailesinde bilinen keratokonus öyküsü mevcut değildi. Anne-baba arasında yakın akrabalık bağı (2. derece akrabalık) vardı.

Snellen eşeline göre hastanın sağ göz görme keskinliği 0,8, tashih ile 1,0 (-1,75α 50°) olarak ölçülürken, sol göz görme keskinliği 0,8, tashih ile 1,0 (-1,0; -2,50α 115°) idi. Ön segment muayenesinde bilateral kornea saydam ve hafif diklik artışı, iris ve lens doğaldı (Şekil 14). Fundus muayenesinde herhangi bir patoloji mevcut değildi. Kornea topografisinde her iki gözde keratokonus paterni görüldü. Hasta Amsler-Krumeich sınıflamasına göre evre 1 sınıfında idi (Şekil 15 ve 16).

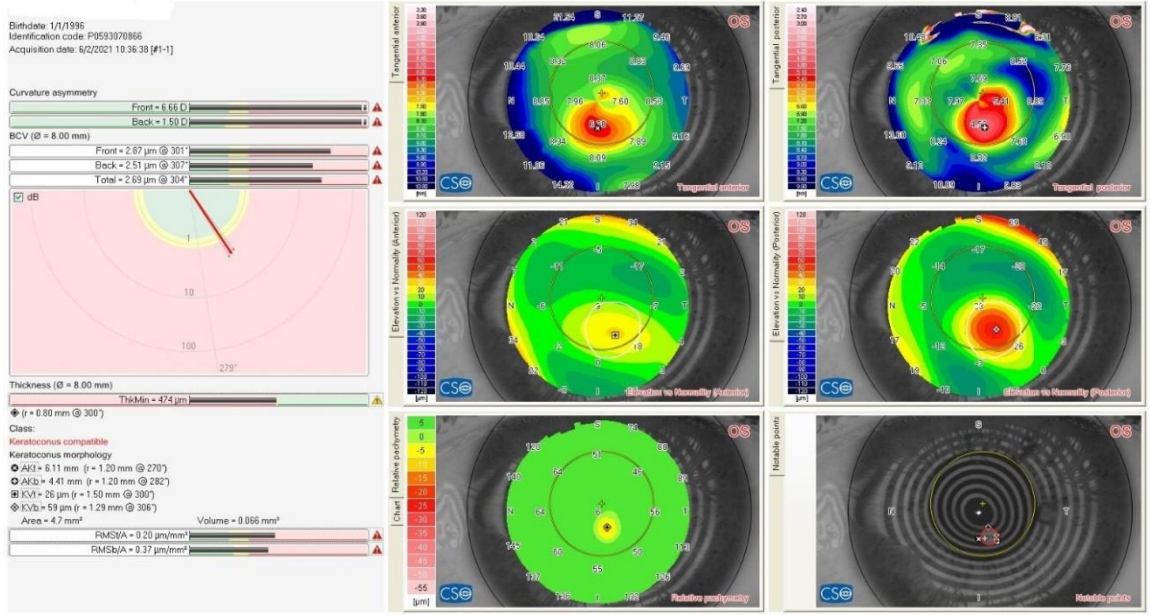
Bu hastanın *VSX1* geninde c.113 G>A (p.Gly38Asp) varyantı heterozigot olarak tespit edildi, in-siliko yöntemle yapılan biyoinformatik analizler- BayesDel addAF, DANN, FATHMM-MKL, LIST-S2, M-CAP, MVP, MutationAssessor, MutationTaster, PrimateAI ve SIFT analiz araçları kullanıldığında varyant patojenik olarak öngörüldü (Şekil 17). DEOGEN2 ve EIGEN in-siliko araçları ise varyantı benign olarak belirledi. In-siliko araçların hepsi birden göz önüne alındığında *VSX1*: c.113 G>A (p.Gly38Asp) varyantı VUS olarak tanımlandı.



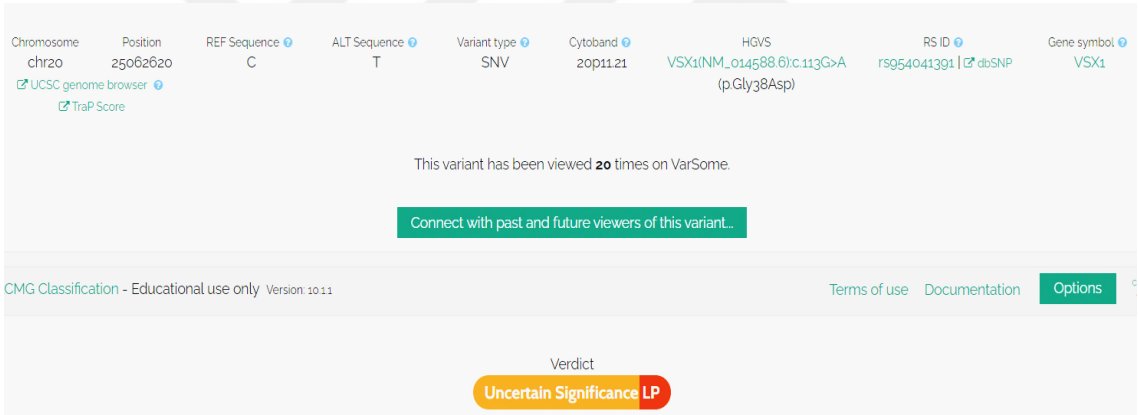
Şekil 14. Olgu 8'in sağ (a) ve sol (b) göz ön segment fotoğrafı



Şekil 15. Olgu 8'in sağ göz kornea topografisi



Şekil 16. Olgu 8'in sol göz kornea topografisi



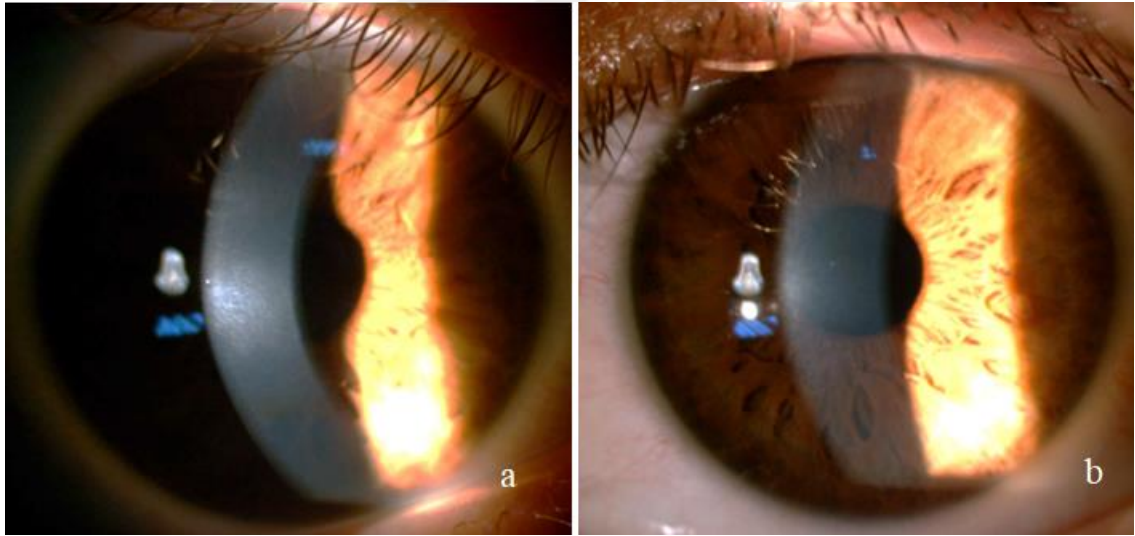
Şekil 17. VARSOME veri tabanına göre 8. olguda saptanan varyant hakkında temel bilgiler
özetlenmiştir.

Olgu 23

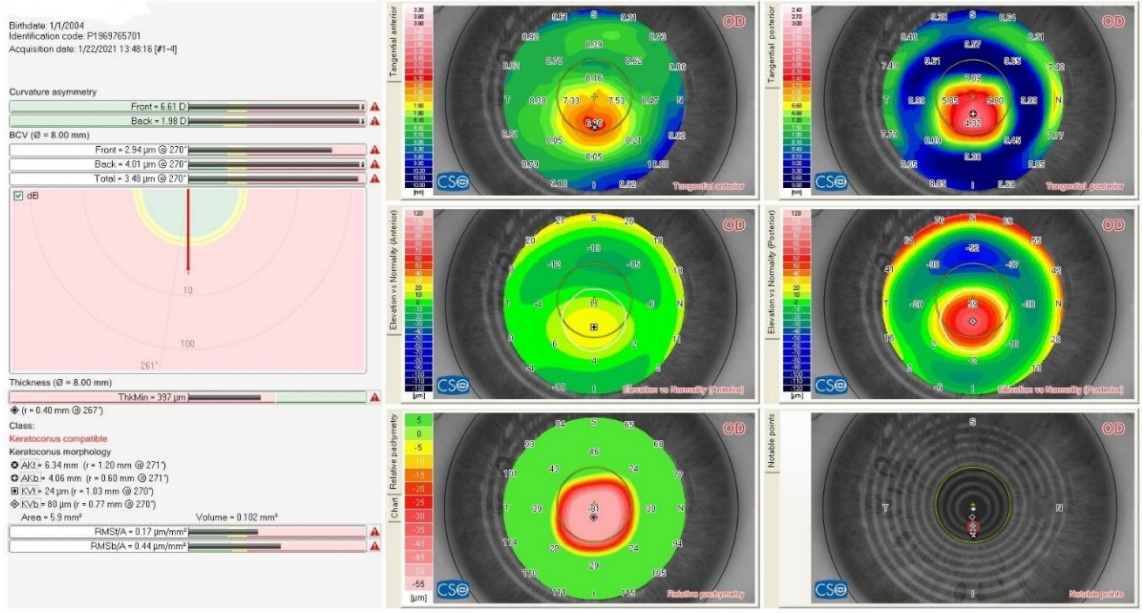
On yedi yaşında erkek hastanın 2 yıl önce her iki gözünde kaşıntı ve bulanık görme şikayetiyle kliniğimize başvurma öyküsü mevcut idi. Anamnezinde herhangi bir sistemik hastalığı yoktu. Hastanın ailesinde bilinen keratokonus öyküsü mevcut değildi. Anne-baba arasında yakın akrabalık bağı (2. derece akrabalık) vardı. Hastanın sağ gözüne 2 yıl önce konvansiyonel CXL tedavisi yapılmış idi.

Snellen eşeline göre sağ göz görme keskinliği 0,2, tashih ile 1,0 (- 2,50; -1,75α 90°), sol göz görme keskinliği 0,8, tashih ile 1,0 (-1,50; -0,50α 174°) idi. Ön segment muayenesinde sağ göz korneasında nefelyon ve diklik artışı izlenirken, sol göz korneası saydam idi (Şekil 18). Bilateral iris ve lens doğaldı. Fundus muayenesinde herhangi bir patoloji mevcut değildi. Kornea topografisinde sağ göz evre 1 keratokonus olarak evrelenirken, sol göz ise "keratokonus şüphesi" olarak değerlendirildi (Şekil 19 ve 20).

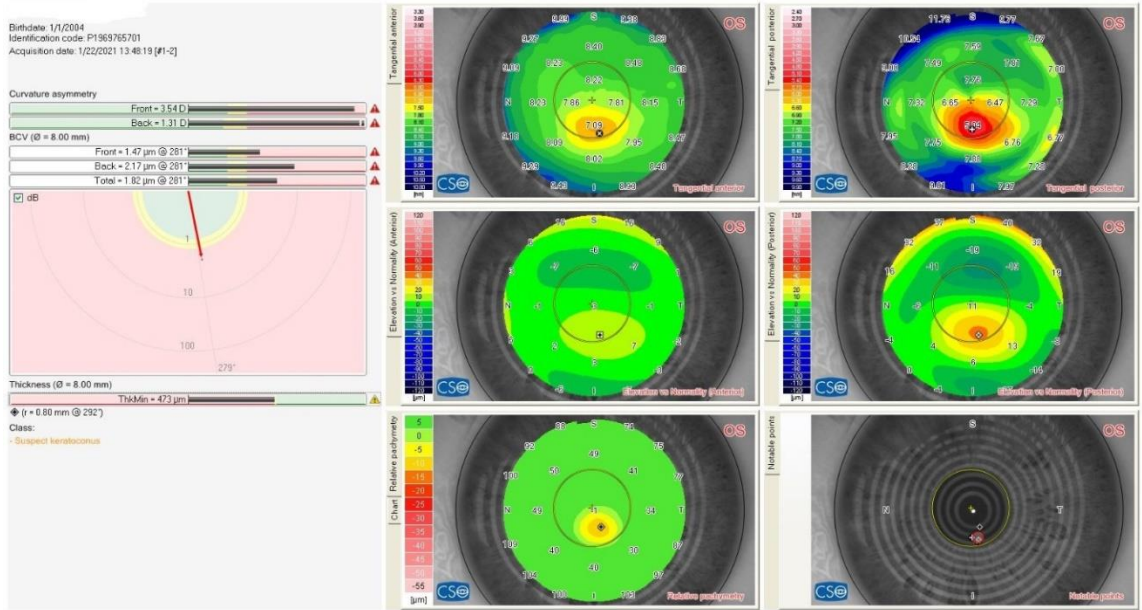
Bu hastanın *VSX1* geninde c.808+17G>A varyantı heterozigot olarak tespit edildi. DANN in-siliko analiz algoritması patojenite skorlamasını 0,8121 olarak skorladı ve varyantın benign olduğu öngörüldü (Şekil 21) (342). Fakat bu skorlamanın GnomAD-exomes veri bankasındaki latin alel frekansını güçlü kanıt olarak göz önünde bulundurması nedeniyle, varyantın patojenite değerlendirmesinde diğer in-siliko analiz araçlar (CADD, PolyPhen, SIFT, Mutation Taster, BLOSUM, PhyloP, MaxEntScan, GeneSplicer, B-SIFT) kullanıldığında varyant VUS olarak tanımlandı.



Şekil 18. Olgu 23'ün sağ (a) ve sol (b) göz ön segment fotoğrafları



Şekil 19. Olgu 23'ün sağ göz kornea topografisi



Şekil 20. Olgu 23'ün sol göz kornea topografisi

Chromosome	Position	REF Sequence	ALT Sequence	Variant type	Cytoband	HGVs	RS ID	Gene symbol
chr20	25058304	C	T	SNV	20p11.21	VSX1(NM_014588.6):c.808+17G>A	rs559185959 dbSNP	VSX1
UCSC genome browser TraP Score								
This variant has been viewed 34 times on VarSome.								
Connect with past and future viewers of this variant...								
CMG Classification - Educational use only Version: 10.1.1						Terms of use Documentation		Options
Verdict Benign								

Şekil 21. VARSOME veri tabanına göre 23. olguda saptanan varyant hakkında temel bilgiler özetlenmiştir.

5. TARTIŞMA

Keratokonus, korneanın bilateral, asimetrik, progresif incilmesi ile karakterize, kompleks genetik kalıtım gösteren ektatik hastalığıdır. Gelişmiş ülkelerde kornea naklinin en önemli nedenlerinden biridir (343). Yakın zamanda yapılan bir meta-analiz çalışmasında hastalığın prevalansının 138/100000 olduğu gösterilmiştir. Bu değer daha önce bildirilen prevalans değerinden 2,5 kat daha yüksektir (27).

Hastalığın etyopatogenezinde hormonal, çevresel, mekanik ve genetik faktörlerin rolü pek çok çalışma ile gösterilse de kesin olarak altta yatan neden halen bilinmemektedir.

Lema ve arkadaşları, göz yaşındaki IL-6, TNF α , MMP-9 düzeylerinin keratokonus hastalarında kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (344). Ayrıca yazarlar, artan mediyatör düzeyleri ile hastalığın şiddeti arasında pozitif korelasyon olduğunu göstermişlerdir. Behindig ve arkadaşları, keratokonuslu hastaların korneasında reaktif oksijen türlerini ortadan kaldıran süperoksit dismutaz seviyesinin düşük olduğunu saptamışlardır (100). Bu bulgu hastalığın patogenezinde oksidatif stresin rolü olabileceğini düşündürmüştür. Keratokonusun gelişim ve progresyonunun, ergenlik, gebelik veya menopoiz sırasında meydana gelen hormonal değişikliklerle ilişkili olabileceği bazı çalışmalarda ileri sürülmüştür (213, 345, 346). Ayrıca, atopi varlığı, kontakt lens kullanımı ve göz ovuşturma gibi faktörlerin keratokonus patogenezinde rolü olduğu bildirilmiştir (347).

Keratokonus fizyopatolojisinde irdelenen konulardan biri de genetik faktörlerdir. Keratokonus gibi kompleks hastalıklarda, sıklıkla görülen genler arası etkileşimler, genetik heterojenlik, azalmış penetrasyon veya fenokopi gibi olaylar, genetik faktörlerin tanımlanma sürecini önemli ölçüde etkilemektedir (348). Farklı popülasyonlarda bağlantı analizleriyle yapılan 12 farklı çalışmada 17 gen lokusu tespit edilmiştir (349). Bu sonuç, keratokonus epidemiyolojisinin genetik heterojenliği ile uyumludur.

GWAS çalışması yöntemi, keratokonus ile ilgili birçok çalışmada kullanılmıştır (127, 129, 350). Genotip ve fenotip arasındaki ilişkiyi araştıran bu yöntem ile keratokonus için birçok aday gen araştırılmış ve ilişkili SNP'ler bildirilmiştir. *HGF* geninde: rs1014091 ve rs3735520; *RAB3GAP1* geninde rs4954218; *LOX* geninde:

rs10519694 ve rs2956540 SNP'lerinin keratokonusla ilişkili olabileceği gösterilmiştir (127, 129, 351).

Günümüzde giderek popüleritesi artan diğer bir genetik araştırma yöntemi olan yeni nesil dizileme yöntemi, keratokonusun fizyopatolojisinde genetik nedenlerin araştırılmasında kullanılmaktadır. Çin'de yapılan bir çalışmada ESM ile ilgili üç genin (*LOX*, *COL5A1* ve *TIMP3*) yeni nesil dizileme yöntemi ile analizi yapılmıştır (352). Bu çalışmada üç yeni varyant (*LOX*'ta c.95 G > A, *COL5A1*'de c.1372 C > T ve *TIMP3*'te c.476 C > T) saptanmıştır. Yapılan başka bir çalışmada ise keratokonus olgularında saptanan *ZNF469* genindeki mutasyonların, patojenik olduğu gösterilmiştir (131).

Çalışmamızda *VSX1* ve *LOX* genlerinde görülen genetik varyantları saptamak amacıyla 30 keratokonuslu olguda yeni nesil dizileme yöntemi ile genetik inceleme yapıldı.

Keratokonus patogenezinde bildirilen tek majör genetik faktör *VSX1*'dir. *VSX1* geni, 20. kromozomun üzerinde bir bağlantı (20p11-q11) lokusu içinde yer alır. Bu gen yaklaşık 6,2 kb ve 5 ekzondan oluşmaktadır (353). 1433 bp uzunluğunda DNA dizisinden oluşur ve 365 amino asit kalıntısından oluşan homeodomain transkripsiyon faktörü bir proteini kodlar (67). İnsan embriyonik kraniyofasiyal DNA bankasından izole edilmekle beraber, yetişkinlerin retina ve kornea dokusundan da eksprese edilmiştir. *VSX1* geninin kraniyofasiyal ve oküler dokuların gelişiminde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (67). Aynı zamanda korneada keratositlerin miyofibroblastlara farklılaşması ve yara iyileşmesinde rol oynadığı saptanmıştır (68).

Farklı etnik gruplarda yapılan çalışmalarda, *VSX1* geninin keratokonus ve kornea distrofileri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (69, 71, 354-356). Heon ve arkadaşları ilk defa 2002 yılında *VSX1* genindeki mutasyonlardan R166W, D144E ve H244R'nin keratokonusla, L159M'in ise hem keratokonus hem de PPCD ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (69). Bisceglia ve arkadaşları, 80 keratokonus hastasının 7'sinde (%8,75) biri yeni olmak üzere (L17P) toplam 4 mutasyon bildirmişlerdir (71). Yazarlar, İtalyan popülasyonunda bu genin keratokonus patogenezinde önemli bir rol oynayabileceğini vurgulamışlardır. Tang ve arkadaşları ise R166W, H244R ve L159M mutasyonlarının keratokonus patojenik olmadığını bildirmişlerdir (357).

Stabuc-Silih ve arkadaşları 113 Sloven hastada *VSX1* geninde hastalığa neden olacak mutasyon saptamamışlardır (76). Yazarlar hem hasta hem de kontrol grubunda

saptadıkları D144E değişikliğinin ise bir polimorfizm olabileceğini düşünmüşlerdir. Aldave ve arkadaşları da 100 keratokonus hastasından sadece birinde saptanan D144E'nin polimorfizm olduğunu vurgulamışlardır (358). Yazarlar, akraba bağı olmayan bu hasta grubunda *VSX1* geninde patojenik mutasyonların saptanmamasından dolayı, hastalığın gelişiminde başka genetik faktörlerin var olabileceğini belirtmişlerdir. Liskova ve arkadaşları da 85 ailenin dahil edildiği çalışmada D144E polimorfizminin doğrudan hastalığa neden olmadığını saptamışlardır (359). Patojenik *VSX1* varyantlarının saptanmaması bu genin az sayıda soyağacında keratokonusa neden olduğunu düşündürmüştür (359). Üç kuşak keratokonus öyküsü olan bir Yahudi ailesinde yapılan diğer bir çalışmada D144E mutasyonu olan bireylerin tamamında patolojik kornea bulguları izlenmiştir (70). Hastaların bazılarında keratokonus saptanırken, bazılarında ise korneal kalınlığın azalması gibi daha hafif değişiklikler görülmüştür ve bu çalışma *VSX1* geninin keratokonustaki patojenik rolünü desteklemiştir (70). Guan ve arkadaşları Çin'den yapılan bir çalışmada sporadik keratokonus olgularında 2 heterozigot mutasyon bildirmişlerdir (360). Yazarlar, bu mutasyonlardan birinin yeni bir mutasyon olan p.R131P olduğunu, diğerinin ise daha önce farklı çalışmalarda bildirilen p.G160V olduğunu ifade etmişlerdir. Ancak, biyoinformatik analiz sonuçlarına göre ise bu yeni varyantın patojenik olmadığı bildirilmiştir. De Bonis ve arkadaşları, G239R'in, Paliwal ve arkadaşları ise Q175H'nin patojenik olduğunu bildirmişlerdir (74, 101). D105E; R131S; G160D; G160V; R217H; A256S gibi farklı çalışmalarda tanımlanan *VSX1* varyantlarının çoğu polimorfizmdir ve keratokonus patogenezindeki rolleri hala tartışılmaktadır (349).

Bardak ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada ileri evre keratokonusu ve keratoplasti öyküsü olan 44 hastada *VSX1* genini, yeni nesil dizileme yöntemi ile incelemişlerdir (9). Yazarlar, daha önce bildirilmeyen D144N ve D295Y mutasyonlarını Türk popülasyonunda patojenik olabileceğini bildirmişlerdir.

Nejabat ve arkadaşları Güney İran'da yaptıkları çalışmada akrabalık bağı olmayan 20 keratokonus hastasında *VSX1* ve *SOD1* genlerinde mutasyon tespit etmemişlerdir (361). Yine bu çalışmada *VSX1* geninde 5 hastada 2 farklı polimorfizm (c.627+23G>A; c.503+202G>A) görülmüştür. Yazarlar İran popülasyonunda yeni nesil dizileme yöntemi kullanılarak, keratokonusa neden olabilecek potansiyel mutasyonlar açısından kromozomal lokusların araştırılması gerekliliğini savunmuşlardır. Abu-

Amero ve arkadaşları ise Suudi Arabistan'dan bildirdikleri bir çalışmada akrabalık bağı olmayan 55 keratokonus hastasında patojenik VSX1 mutasyonu saptamamışlardır (75).

Otuz keratokonus hastasında genetik inceleme yaptığımız çalışmada 2 farklı olguda VSX1 geninde p.G38D ve c.808+17G>A varyantları saptandı. Bildiğimiz kadarıyla çalışmamızda saptanan bu mutasyonlar literatürde ilk kez tanımlanmaktadır.

Ekzon 1'de yerleşen p.G38D (p.Gly38Asp) heterozigot mutasyonunun bazı biyoinformatik in-siliko analiz sonuçlarına (BayesDel addAF, DANN, SIFT) göre patojen, bazılarına (DEOGEN2 ve EIGEN) göre ise benign olduğu görüldü. Saptadığımız diğer bir genetik varyant olan c.808+17G>A'nın ise heterozigot olduğu ve intron 4'de yer aldığı saptandı. Bu varyant DANN in-siliko analiz aracına göre benign olarak gösterilmektedir. Her iki genetik varyant tüm in-siliko analizler göz önüne alındığında VUS olarak sınıflandırıldı. Bu mutasyonların klinik önemini ortaya çıkarmak için daha geniş hasta grubunda ve farklı popülasyonlarda çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Gelecekte yapılacak çalışmalar ile VUS olarak tanımlanan bu varyantlar benign veya patojen olarak yeniden sınıflandırılabilir.

Keratokonusun genetik temelinde rolü araştırılan bir diğer gen olan, LOX ekstrasellüler alanda kollajen ve elastinin kovalent çapraz bağını katalize eder ve bağ dokusunun biyomekanik özelliklerini belirleyen bir amino oksidazdır. Bu gen, 5q23.2 lokusunda yer alan, yaklaşık 14,5 kb genomik DNA aracılığıyla dağıtılan 7 ekzon ve 6 introndan oluşan bir gendir (107, 108). LOX enzim aktivitesinin korneada azalmasının keratokonus patogenezinde önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir. Gözde kornea ile beraber trabeküler ağ, siliyer cisim, lens ve retinada da LOX enzimi tespit edilmiştir (109).

Nielsen ve arkadaşları LOX'u fonksiyonu nedeniyle keratokonus için aday gen olarak göstermişlerdir (362). LOX geninde görülen varyantların keratokonusla ilişkisini inceleyen birçok vaka kontrol çalışması yapılmış ve saptanan bazı SNP'lerin keratokonusla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bykhovskaya ve arkadaşları, intron 4'de bulunan rs10519694 ve rs2956540 SNP'lerinin keratokonusla ilişkili olabileceğini saptamışlardır (107). Hasanian-Langroudi ve arkadaşları ise rs1800449 SNP'nin keratokonusla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (112). Yapılan bir meta-analiz çalışmasında rs2956540 ve rs10519694 polimorfizimlerinin keratokonusla önemli ölçüde ilişkili olduğu, rs1800449 ve rs2288393 polimorfizimlerinin ise hastalıkla

ilişisini gösteren yeterli kanıtın olmadığı gösterilmiştir (363). Yakın zamanda Brezilya'dan yapılan bir çalışmada ise daha önce bildirilmeyen Thr392Pro mutasyonu saptanmıştır (364).

Çalışmamızda keratokonus hastalarında analiz ettiğimiz bir diğer gen *LOX* idi. Bildiğimiz kadarıyla Türk toplumunda keratokonus olgularında ilk defa çalışılan bu gende, herhangi bir patojenik genetik varyant saptanamadı. Çalışmamızda bu gende hiçbir mutasyonun bulunmaması, hastalığın genetik heterojen olduğu fikrini desteklemektedir. Çalışmadaki keratokonus olgularında hastalığın patogenezinde diğer genlerin rol oynamakta olabileceğini düşünmekteyiz. Bu genin farklı popülasyondaki daha geniş hasta gruplarında olası mutasyonlar açısından incelenmesi faydalı olacaktır.

Keratokonus genellikle sporadik bir bozukluk olmasına rağmen, hastaların önemli bir kısmında otozomal dominant kalıtım paternini düşündüren aile öyküsü görülmektedir (8). Karimian ve arkadaşları keratokonuslu hastaların akrabalarında, tanı almamış keratokonus prevalansının yüksek olduğunu bulmuşlardır (365). Son yıllardaki çalışmalarda tanısal yöntemlerdeki gelişmeler ve aile bireylerinin bu yeni yöntemler ile değerlendirilmesi, keratokonus hastalarında aile öyküsü varlığının oranını artırmaktadır (65, 366). Otozomal resesif kalıtım paterni, özellikle yakın akrabalığın olduğu popülasyonlarda bildirilmiştir (367).

Çalışmamızdaki olgulardan 14'ünde (%46,7) anne-baba akrabalığı mevcut idi. Ayrıca 10 (%33,3) olguda aile bireylerinin en az birinde keratokonus olduğu görüldü. Mutasyon saptanan 2 olguda ise aile öyküsü mevcut değildi. Bu olguların ailesinde keratokonuslu hastaların olmaması her iki olgunun sporadik olma ihtimalini düşündürmektedir. Ayrıca çalışmada saptadığımız mutasyonlar heterozigot karakterde idi. Mutasyon saptanan hastaların aile bireylerinin bu varyantlar açısından incelenmesi, bu varyantların keratokonus fizyopatolojisindeki rolünün anlaşılmasına katkı sağlayacaktır.

Keratokonus, bazı oküler ve sistemik hastalıklar ile birliktelik gösterebilmektedir. Bu hastalığın, Down sendromu, Turner sendromu, Leber'in konjenital amaurozisi, Bardet-Biedl sendromu, Ehlers-Danlos sendromu, tırnak-patella sendromu, nörofibromatozis, psödoksantoma elastikum, kseroderma pigmentosum, retinitis pigmentosa, MVP ve Marfan sendromu gibi hastalıklarla birlikteliği bildirilmiştir (229). Atopi varlığının katarakt, glokom, üveit ve retina dekolmanı gibi

hastalıkların yanı sıra, keratokonus için de risk faktörü olduğu literatürde gösterilmiştir (368). Shajari ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, atopi öyküsü olan keratokonus hastalarının yaş ortalamasının, atopi öyküsü olmayan keratokonus hastalarına göre daha düşük olduğunu bulmuşlardır (369). Atopi keratokonusun erken manifestasyonuna neden olduğundan, bu hastaların erken yaşlardan başlayarak düzenli aralıklarla muayene olmaları gerektiği, yazarlar tarafından önerilmiştir (369). Korneal patolojiler açısından ise, Granüler distrofi tip II, PPCD, Avellino distrofisi ve Fuchs distrofisi gibi kornea hastalıklarının keratokonusla ilişkili olduğu gösterilmiştir (245-249). Çalışmamızdaki olgulardan ikisinde (%6,67) atopi öyküsü mevcuttu. Vernal veya alerjik konjonktivit dışındaki oküler hastalıklar, keratokonusun yüksek komorbidite gösterdiği sendromlar (Down, Turner) ve bağ dokusu hastalıkları (MVP, Ehlers-Danlos, Marfan) genetik inceleme sonuçlarının doğruluğu açısından çalışmamızda dışlama kriteri olarak belirlenmiş idi.

Oküler alerji varlığı ve göz ovuşturma keratokonus için önemli risk faktörlerindendir (370). Alerjik konjonktivitlerde spesifik alerjenler konjonktivada mast hücre veya bazofillerin yüzeyindeki alerjene özgü IgE ile reaksiyona girerek vazoaktif mediatörlerin salınımını artırır. Diğer yandan, göz ovuşturmanın sağlıklı kişilerde bile MMP-13, IL-6 ve TNF- α gibi mediatörleri arttırdığı gösterilmiştir (371). Bu mediatörler, alerjik konjonktivitli hastalarda gözün ovuşturulması sırasında daha da artarak hastalığın gelişim ve ilerlemesine katkıda bulunabilmektedir (370). Totan ve arkadaşları, vernal keratokonjonktiviti olan hastaların %26,8'inde keratokonus tespit etmişlerdir (372). Çalışmamızda hastaların %30'unda oküler alerji durumu (5 [%16,67] hastada mevsimsel alerjik konjonktivit, 4 [%13,33] hastada vernal keratokonjonktiviti) saptandı. Kliniğimiz subtropikal iklimi nedeniyle alerjik hastalıkların sık görüldüğü Çukurova bölgesinde yer almaktadır ve oküler alerji saptanan hastaların yüksek oranı coğrafik nedenler ile açıklanabilir.

Heterozigot mutasyon saptanan 2 olgunun aile bireylerinde genetik incelemenin yapılamamış olması çalışmamızın kısıtlılığı olarak sayılabilir.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

VSX1 ve *LOX* genleri keratokonus patogeneğinde rolü olduğu düşünölen ve bu açıdan pek çok çalışmada araştırılan genlerdir. Bu çalışmalarda birçok varyant tespit edilmiş, ancak bazılarının keratokonus fizyopatolojisindeki rolü tam olarak aydınlatılmamıştır. Çalışmamızda *VSX1* geninde VARSOME veri kaynağına göre VUS olarak sınıflandırılan; p.G38D ve c.808+17G>A genetik varyantları saptandı. Literatürde ilk kez saptanan bu mutasyonların keratokonusun genetik temelini anlaşılmasına yönelik gelecekteki çalışmalara yol gösterici olacağını düşünmekteyiz. Ayrıca çalışmada keratokonus olgularında *LOX* geni Türk toplumunda ilk kez araştırıldı. Çalışmamız keratokonus patogeneğinde *LOX* geninin rolünü araştırarak ileri çalışmalarda, daha geniş olgu sayılarına ihtiyaç duyulacağına dair öngörü sağlayabilir.

Diğer yandan çalışmada 30 keratokonus hastasında sadece 2 hastada mutasyon saptanması, keratokonusun genetik heterojenliğini destekler niteliktedir.

Genetik çalışmalarda kullanılan teknolojilerin gelişmesi ve farklı popölasyonlarda daha geniş katılımlı çalışmaların yapılması ile bu kompleks hastalığın genetik temeline dair daha önemli veriler elde edilebilecektir.

KAYNAKLAR

1. Rabinowitz YS. Keratoconus. *Surv Ophthalmol*. 1998;42(4):297-319.
2. Kennedy RH, Bourne WM, Dyer JA. A 48-year clinical and epidemiologic study of keratoconus. *American journal of ophthalmology*. 1986;101(3):267-73.
3. Magalhaes OA, Marafon SB, Ferreira RC. Gender differences in keratoconus keratoplasty: a 25-year study in Southern Brazil and global perspective. *International ophthalmology*. 2018;38(4):1627-33.
4. Krachmer JH, Feder RS, Belin MW. Keratoconus and related noninflammatory corneal thinning disorders. *Survey of ophthalmology*. 1984;28(4):293-322.
5. Godefrooij DA, De Wit GA, Uiterwaal CS, et al. Age-specific incidence and prevalence of keratoconus: a nationwide registration study. *American journal of ophthalmology*. 2017;175:169-72.
6. Wang Y, Rabinowitz Y, Rotter J, et al. Genetic epidemiological study of keratoconus: evidence for major gene determination. *American journal of medical genetics*. 2000;93(5):403-9.
7. Tur VM, MacGregor C, Jayaswal R, et al. A review of keratoconus: diagnosis, pathophysiology, and genetics. *Survey of ophthalmology*. 2017;62(6):770-83.
8. Romero-Jiménez M, Santodomingo-Rubido J, Wolffsohn JS. Keratoconus: a review. *Contact Lens and Anterior Eye*. 2010;33(4):157-66.
9. Bardak H, Gunay M, Yildiz E, et al. Novel visual system homeobox 1 gene mutations in Turkish patients with keratoconus. *Genet mol res*. 2016;15(4):10.4238.
10. Grzybowski A, McGhee CN. The early history of keratoconus prior to N ottingham's landmark 1854 treatise on conical cornea: a review. *Clinical and Experimental Optometry*. 2013;96(2):140-5.
11. Auffarth GU, Wang L, Völcker HE. Keratoconus evaluation using the Orbscan topography system. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*. 2000;26(2):222-8.
12. Ucar M, Cakmak HB, Sen B. A statistical approach to classification of keratoconus. *Int J Ophthalmol*. 2016;9(9):1355-7.
13. Gokhale NS. Epidemiology of keratoconus. *Indian J Ophthalmol*. 2013;61(8):382-3.
14. Gorskova E, Sevost'ianov E. Epidemiology of keratoconus in the Urals. *Vestnik Oftalmologii*. 1998;114(4):38-40.
15. Jonas JB, Nangia V, Matin A, et al. Prevalence and associations of keratoconus in rural maharashtra in central India: the central India eye and medical study. *American journal of ophthalmology*. 2009;148(5):760-5.
16. Assiri AA, Yousuf BI, Quantock AJ, et al. Incidence and severity of keratoconus in Asir province, Saudi Arabia. *Br J Ophthalmol*. 2005;89(11):1403-6.
17. Hofstetter HW. A keratoscopic survey of 13,395 eyes. *Optometry and Vision Science*. 1959;36(1):3-11.
18. Nielsen K, Hjortdal J, Aagaard Nohr E, et al. Incidence and prevalence of keratoconus in Denmark. *Acta Ophthalmol Scand*. 2007;85(8):890-2.

19. Ihalainen A. Clinical and epidemiological features of keratoconus genetic and external factors in the pathogenesis of the disease. *Acta Ophthalmol Suppl.* 1986;178:1-64.
20. Tanabe U, Fujiki K, Ogawa A, et al. [Prevalence of keratoconus patients in Japan]. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi.* 1985;89(3):407-11.
21. Gordon-Shaag A, Millodot M, Shneor E, et al. The genetic and environmental factors for keratoconus. *BioMed research international.* 2015;2015.
22. Cristina Kenney M, Brown DJ. The cascade hypothesis of keratoconus. *Cont Lens Anterior Eye.* 2003;26(3):139-46.
23. Georgiou T, Funnell CL, Cassels-Brown A, et al. Influence of ethnic origin on the incidence of keratoconus and associated atopic disease in Asians and white patients. *Eye (Lond).* 2004;18(4):379-83.
24. Pearson AR, Soneji B, Sarvananthan N, et al. Does ethnic origin influence the incidence or severity of keratoconus? *Eye (Lond).* 2000;14 (Pt 4):625-8.
25. Li X, Rabinowitz YS, Rasheed K, et al. Longitudinal study of the normal eyes in unilateral keratoconus patients. *Ophthalmology.* 2004;111(3):440-6.
26. Owens H, Gamble G. A profile of keratoconus in New Zealand. *Cornea.* 2003;22(2):122-5.
27. Hashemi H, Heydarian S, Hooshmand E, et al. The Prevalence and Risk Factors for Keratoconus: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cornea.* 2020;39(2):263-70.
28. Dua HS, Faraj LA, Said DG, et al. Human corneal anatomy redefined: a novel pre-Descemet's layer (Dua's layer). *Ophthalmology.* 2013;120(9):1778-85.
29. Reidy J. Basic and clinical science course, section 8: External disease and cornea. *American Academy of Ophthalmology.* 2010;2011.
30. Bitirgen G, Ozkagnici A, Bozkurt B, et al. In vivo corneal confocal microscopic analysis in patients with keratoconus. *Int J Ophthalmol.* 2015;8(3):534-9.
31. Hollingsworth JG, Bonshek RE, Efron N. Correlation of the appearance of the keratoconic cornea in vivo by confocal microscopy and in vitro by light microscopy. *Cornea.* 2005;24(4):397-405.
32. Sandali O, El Sanharawi M, Temstet C, et al. Fourier-domain optical coherence tomography imaging in keratoconus: a corneal structural classification. *Ophthalmology.* 2013;120(12):2403-12.
33. Mathew JH, Goosey JD, Bergmanson JP. Quantified histopathology of the keratoconic cornea. *Optom Vis Sci.* 2011;88(8):988-97.
34. DelMonte DW, Kim T. Anatomy and physiology of the cornea. *J Cataract Refract Surg.* 2011;37(3):588-98.
35. Scroggs MW, Proia AD. Histopathological variation in keratoconus. *Cornea.* 1992;11(6):553-9.
36. Weed KH, MacEwen CJ, Cox A, et al. Quantitative analysis of corneal microstructure in keratoconus utilising in vivo confocal microscopy. *Eye (Lond).* 2007;21(5):614-23.
37. Erie JC, Patel SV, McLaren JW, et al. Keratocyte density in keratoconus. A confocal microscopy study(a). *Am J Ophthalmol.* 2002;134(5):689-95.

38. Uçakhan OO, Kanpolat A, Yılmaz N, et al. In vivo confocal microscopy findings in keratoconus. *Eye Contact Lens*. 2006;32(4):183-91.
39. Reinstein DZ, Archer TJ, Gobbe M. Corneal epithelial thickness profile in the diagnosis of keratoconus. *J Refract Surg*. 2009;25(7):604-10.
40. Reinstein DZ, Gobbe M, Archer TJ, et al. Epithelial, stromal, and total corneal thickness in keratoconus: three-dimensional display with artemis very-high frequency digital ultrasound. *J Refract Surg*. 2010;26(4):259-71.
41. 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(1):e85994.
42. Sherwin T, Brookes NH, Loh IP, et al. Cellular incursion into Bowman's membrane in the peripheral cone of the keratoconic cornea. *Exp Eye Res*. 2002;74(4):473-82.
43. van Dijk K, Liarakos VS, Parker J, et al. Bowman layer transplantation to reduce and stabilize progressive, advanced keratoconus. *Ophthalmology*. 2015;122(5):909-17.
44. van Dijk K, Parker JS, Baydoun L, et al. Bowman layer transplantation: 5-year results. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2018;256(6):1151-8.
45. Sherwin T, Brookes NH. Morphological changes in keratoconus: pathology or pathogenesis. *Clin Exp Ophthalmol*. 2004;32(2):211-7.
46. Simo Mannion L, Tromans C, O'Donnell C. An evaluation of corneal nerve morphology and function in moderate keratoconus. *Cont Lens Anterior Eye*. 2005;28(4):185-92.
47. Patel DV, McGhee CN. Mapping the corneal sub-basal nerve plexus in keratoconus by in vivo laser scanning confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47(4):1348-51.
48. Brookes NH, Loh IP, Clover GM, et al. Involvement of corneal nerves in the progression of keratoconus. *Exp Eye Res*. 2003;77(4):515-24.
49. Morishige N, Shin-Gyou-Uchi R, Azumi H, et al. Quantitative analysis of collagen lamellae in the normal and keratoconic human cornea by second harmonic generation imaging microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55(12):8377-85.
50. Mocan MC, Yilmaz PT, Irkeç M, et al. In vivo confocal microscopy for the evaluation of corneal microstructure in keratoconus. *Curr Eye Res*. 2008;33(11):933-9.
51. Takahashi A, Nakayasu K, Okisaka S, et al. [Quantitative analysis of collagen fiber in keratoconus]. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi*. 1990;94(11):1068-73.
52. Wolter JR, Henderson JW, Clahassey EG. Ruptures of descemet's membrane in keratoconus causing acute hydrops and posterior keratoconus. *Am J Ophthalmol*. 1967;63(6):1689-92.
53. Levine LM. 2015-2016 Basic and Clinical Science Course (bcsc): Fundamentals and Principles of Ophthalmology... Section 2: Amer Academy Of Ophthalmo; 2015.
54. El-Agha MS, El Sayed YM, Harhara RM, et al. Correlation of corneal endothelial changes with different stages of keratoconus. *Cornea*. 2014;33(7):707-11.
55. Timucin OB, Karadag MF, Cinal A, et al. Assessment of corneal endothelial cell density in patients with keratoconus not using contact lenses. *Cont Lens Anterior Eye*. 2013;36(2):80-5.

56. Goebels S, Eppig T, Seitz B, et al. Endothelial alterations in 712 keratoconus patients. *Acta Ophthalmol.* 2018;96(2):e134-e9.
57. Hollingsworth JG, Efron N, Tullo AB. In vivo corneal confocal microscopy in keratoconus. *Ophthalmic Physiol Opt.* 2005;25(3):254-60.
58. Lema I, Sobrino T, Durán JA, et al. Subclinical keratoconus and inflammatory molecules from tears. *Br J Ophthalmol.* 2009;93(6):820-4.
59. Jun AS, Cope L, Speck C, et al. Subnormal cytokine profile in the tear fluid of keratoconus patients. *PLoS One.* 2011;6(1):e16437.
60. Brancati F, Valente EM, Sarkozy A, et al. A locus for autosomal dominant keratoconus maps to human chromosome 3p14-q13. *J Med Genet.* 2004;41(3):188-92.
61. Davidson AE, Hayes S, Hardcastle AJ, et al. The pathogenesis of keratoconus. *Eye (Lond).* 2014;28(2):189-95.
62. Wagner H, Barr JT, Zadnik K. Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus (CLEK) Study: methods and findings to date. *Cont Lens Anterior Eye.* 2007;30(4):223-32.
63. Stabuc-Silih M, Strazisar M, Ravnik-Glavac M, et al. Genetics and clinical characteristics of keratoconus. *Acta Dermatovenereol Alp Pannonica Adriat.* 2010;19(2):3-10.
64. Schmitt-Bernard C, Schneider CD, Blanc D, et al. Keratographic analysis of a family with keratoconus in identical twins. *J Cataract Refract Surg.* 2000;26(12):1830-2.
65. Itoi M, Hisae M, Tsuda N, et al. Corneal Shape Of Familial Members Of Keratoconic Patients. *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 2011;52(14):1082-.
66. Parker J, Ko WW, Pavlopoulos G, et al. Videokeratography of keratoconus in monozygotic twins. *J Refract Surg.* 1996;12(1):180-3.
67. Semina EV, Mintz-Hittner HA, Murray JC. Isolation and characterization of a novel human paired-like homeodomain-containing transcription factor gene, VSX1, expressed in ocular tissues. *Genomics.* 2000;63(2):289-93.
68. Barbaro V, Di Iorio E, Ferrari S, et al. Expression of VSX1 in human corneal keratocytes during differentiation into myofibroblasts in response to wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47(12):5243-50.
69. Héon E, Greenberg A, Kopp KK, et al. VSX1: a gene for posterior polymorphous dystrophy and keratoconus. *Hum Mol Genet.* 2002;11(9):1029-36.
70. Eran P, Almogit A, David Z, et al. The D144E substitution in the VSX1 gene: a non-pathogenic variant or a disease causing mutation? *Ophthalmic Genet.* 2008;29(2):53-9.
71. Bisceglia L, Ciaschetti M, De Bonis P, et al. VSX1 mutational analysis in a series of Italian patients affected by keratoconus: detection of a novel mutation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005;46(1):39-45.
72. Chow RL, Volgyi B, Szilard RK, et al. Control of late off-center cone bipolar cell differentiation and visual signaling by the homeobox gene Vsx1. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(6):1754-9.
73. Mok JW, Baek SJ, Joo CK. VSX1 gene variants are associated with keratoconus in unrelated Korean patients. *J Hum Genet.* 2008;53(9):842-9.

74. Paliwal P, Singh A, Tandon R, et al. A novel VSX1 mutation identified in an individual with keratoconus in India. *Mol Vis.* 2009;15:2475-9.
75. Abu-Amero KK, Kalantan H, Al-Muammar AM. Analysis of the VSX1 gene in keratoconus patients from Saudi Arabia. *Mol Vis.* 2011;17:667-72.
76. Stabuc-Silih M, Strazisar M, Hawlina M, et al. Absence of pathogenic mutations in VSX1 and SOD1 genes in patients with keratoconus. *Cornea.* 2010;29(2):172-6.
77. Tanwar M, Kumar M, Nayak B, et al. VSX1 gene analysis in keratoconus. *Mol Vis.* 2010;16:2395-401.
78. Guan T, Liu C, Ma Z, et al. The point mutation and polymorphism in keratoconus candidate gene TGFBI in Chinese population. *Gene.* 2012;503(1):137-9.
79. Carrington LM, Albon J, Anderson I, et al. Differential regulation of key stages in early corneal wound healing by TGF-beta isoforms and their inhibitors. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47(5):1886-94.
80. Chen J, Chen Y, Han SN. Comparison of TGF- β 1 in tears and corneal haze following Epi-LASIK with and without mitomycin C. *Int J Ophthalmol.* 2013;6(3):312-5.
81. Takács L, Csutak A, Balázs E, et al. Expression of betaig-h3 is lower than normal in keratoconus corneas but increases with scarring. *Cornea.* 1999;18(5):599-605.
82. Bykhovskaya Y, Gromova A, Makarenkova HP, et al. Abnormal regulation of extracellular matrix and adhesion molecules in corneas of patients with keratoconus. *Int J Keratoconus Ectatic Corneal Dis.* 2016;5(2):63-70.
83. Hughes AE, Bradley DT, Campbell M, et al. Mutation altering the miR-184 seed region causes familial keratoconus with cataract. *Am J Hum Genet.* 2011;89(5):628-33.
84. Hao XD, Chen P, Wang Y, et al. Mitochondrial DNA copy number, but not haplogroup is associated with keratoconus in Han Chinese population. *Exp Eye Res.* 2015;132:59-63.
85. Meola N, Gennarino VA, Banfi S. microRNAs and genetic diseases. *Pathogenetics.* 2009;2(1):7.
86. Karali M, Peluso I, Gennarino VA, et al. miRNeye: a microRNA expression atlas of the mouse eye. *BMC Genomics.* 2010;11:715.
87. Ryan DG, Oliveira-Fernandes M, Lavker RM. MicroRNAs of the mammalian eye display distinct and overlapping tissue specificity. *Mol Vis.* 2006;12:1175-84.
88. Bykhovskaya Y, Caiado Canedo AL, Wright KW, et al. C.57 C > T Mutation in MIR 184 is Responsible for Congenital Cataracts and Corneal Abnormalities in a Five-generation Family from Galicia, Spain. *Ophthalmic Genet.* 2015;36(3):244-7.
89. Lechner J, Bae HA, Guduric-Fuchs J, et al. Mutational analysis of MIR184 in sporadic keratoconus and myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54(8):5266-72.
90. Farzadfard A, Nassiri N, Moghadam TN, et al. Screening for MIR184 Mutations in Iranian Patients with Keratoconus. *J Ophthalmic Vis Res.* 2016;11(1):3-7.
91. Abu-Amero KK, Helwa I, Al-Muammar A, et al. Screening of the Seed Region of MIR184 in Keratoconus Patients from Saudi Arabia. *Biomed Res Int.* 2015;2015:604508.

92. Kwofie MA, Skowronski J. Specific recognition of Rac2 and Cdc42 by DOCK2 and DOCK9 guanine nucleotide exchange factors. *J Biol Chem.* 2008;283(6):3088-96.
93. Gajecka M, Radhakrishna U, Winters D, et al. Localization of a gene for keratoconus to a 5.6-Mb interval on 13q32. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009;50(4):1531-9.
94. Karolak JA, Rydzanicz M, Ginter-Matuszewska B, et al. Variant c.2262A>C in DOCK9 Leads to Exon Skipping in Keratoconus Family. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015;56(13):7687-90.
95. Czugała M, Karolak JA, Nowak DM, 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.
96. Behndig A, Svensson B, Marklund SL, et al. Superoxide dismutase isoenzymes in the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998;39(3):471-5.
97. Udar N, Atilano SR, Brown DJ, et al. SOD1: a candidate gene for keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47(8):3345-51.
98. Udar N, Atilano SR, Small K, et al. SOD1 haplotypes in familial keratoconus. *Cornea.* 2009;28(8):902-7.
99. Rosen DR, Siddique T, Patterson D, et al. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature.* 1993;362(6415):59-62.
100. Behndig A, Karlsson K, Johansson BO, et al. Superoxide dismutase isoenzymes in the normal and diseased human cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42(10):2293-6.
101. De Bonis P, Laborante A, Pizzicoli C, et al. Mutational screening of VSX1, SPARC, SOD1, LOX, and TIMP3 in keratoconus. *Mol Vis.* 2011;17:2482-94.
102. Rohrbach M, Spencer HL, Porter LF, et al. ZNF469 frequently mutated in the brittle cornea syndrome (BCS) is a single exon gene possibly regulating the expression of several extracellular matrix components. *Mol Genet Metab.* 2013;109(3):289-95.
103. Abu A, Frydman M, Marek D, et al. Deleterious mutations in the Zinc-Finger 469 gene cause brittle cornea syndrome. *Am J Hum Genet.* 2008;82(5):1217-22.
104. Burkitt Wright EMM, Spencer HL, Daly SB, et al. Mutations in PRDM5 in brittle cornea syndrome identify a pathway regulating extracellular matrix development and maintenance. *Am J Hum Genet.* 2011;88(6):767-77.
105. Al-Hussain H, Zeisberger SM, Huber PR, et al. Brittle cornea syndrome and its delineation from the kyphoscoliotic type of Ehlers-Danlos syndrome (EDS VI): report on 23 patients and review of the literature. *Am J Med Genet A.* 2004;124a(1):28-34.
106. Davidson AE, Borasio E, Liskova P, et al. Brittle cornea syndrome ZNF469 mutation carrier phenotype and segregation analysis of rare ZNF469 variants in familial keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015;56(1):578-86.
107. Bykhovskaya Y, Li X, Epifantseva I, et al. Variation in the lysyl oxidase (LOX) gene is associated with keratoconus in family-based and case-control studies. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012;53(7):4152-7.
108. Hämmäläinen ER, Jones TA, Sheer D, et al. Molecular cloning of human lysyl oxidase and assignment of the gene to chromosome 5q23.3-31.2. *Genomics.* 1991;11(3):508-16.

109. Dudakova L, Liskova P, Trojek T, et al. Changes in lysyl oxidase (LOX) distribution and its decreased activity in keratoconus corneas. *Exp Eye Res.* 2012;104:74-81.
110. Shetty R, Sathyanarayanamoorthy A, Ramachandra RA, et al. Attenuation of lysyl oxidase and collagen gene expression in keratoconus patient corneal epithelium corresponds to disease severity. *Mol Vis.* 2015;21:12-25.
111. Coral K, Angayarkanni N, Madhavan J, et al. Lysyl oxidase activity in the ocular tissues and the role of LOX in proliferative diabetic retinopathy and rhegmatogenous retinal detachment. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49(11):4746-52.
112. Hasanian-Langroudi F, Saravani R, Validad MH, et al. Association of Lysyl oxidase (LOX) Polymorphisms with the Risk of Keratoconus in an Iranian Population. *Ophthalmic Genet.* 2015;36(4):309-14.
113. Chaerkady R, Shao H, Scott SG, et al. The keratoconus corneal proteome: loss of epithelial integrity and stromal degeneration. *J Proteomics.* 2013;87:122-31.
114. Lechner J, Dash DP, Muszynska D, et al. Mutational spectrum of the ZEB1 gene in corneal dystrophies supports a genotype-phenotype correlation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;54(5):3215-23.
115. Hopfer U, Fukai N, Hopfer H, et al. Targeted disruption of Col8a1 and Col8a2 genes in mice leads to anterior segment abnormalities in the eye. *Faseb j.* 2005;19(10):1232-44.
116. Pöschl E, Pollner R, Kühn K. The genes for the alpha 1(IV) and alpha 2(IV) chains of human basement membrane collagen type IV are arranged head-to-head and separated by a bidirectional promoter of unique structure. *Embo j.* 1988;7(9):2687-95.
117. Krafchak CM, Pawar H, Moroi SE, et al. Mutations in TCF8 cause posterior polymorphous corneal dystrophy and ectopic expression of COL4A3 by corneal endothelial cells. *Am J Hum Genet.* 2005;77(5):694-708.
118. Stachs O, Bochert A, Gerber T, et al. [The extracellular matrix structure in keratoconus]. *Ophthalmologe.* 2004;101(4):384-9.
119. Stabuc-Silih M, Ravnik-Glavac M, Glavac D, et al. Polymorphisms in COL4A3 and COL4A4 genes associated with keratoconus. *Mol Vis.* 2009;15:2848-60.
120. Kokolakis NS, Gazouli M, Chatziralli IP, et al. Polymorphism analysis of COL4A3 and COL4A4 genes in Greek patients with keratoconus. *Ophthalmic Genet.* 2014;35(4):226-8.
121. Agre P, Kozono D. Aquaporin water channels: molecular mechanisms for human diseases. *FEBS Lett.* 2003;555(1):72-8.
122. Thiagarajah JR, Verkman AS. Aquaporin deletion in mice reduces corneal water permeability and delays restoration of transparency after swelling. *J Biol Chem.* 2002;277(21):19139-44.
123. Rabinowitz YS, Dong L, Wistow G. Gene expression profile studies of human keratoconus cornea for NEIBank: a novel cornea-expressed gene and the absence of transcripts for aquaporin 5. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005;46(4):1239-46.
124. Garfias Y, Navas A, Pérez-Cano HJ, et al. Comparative expression analysis of aquaporin-5 (AQP5) in keratoconic and healthy corneas. *Mol Vis.* 2008;14:756-61.
125. Adachi W, Mitsuishi Y, Terai K, et al. The association of HLA with young-onset keratoconus in Japan. *Am J Ophthalmol.* 2002;133(4):557-9.

126. Manolio TA. Genomewide association studies and assessment of the risk of disease. *N Engl J Med*. 2010;363(2):166-76.
127. Burdon KP, Macgregor S, Bykhovskaya Y, et al. Association of polymorphisms in the hepatocyte growth factor gene promoter with keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(11):8514-9.
128. Sahebjada S, Schache M, Richardson AJ, et al. Association of the hepatocyte growth factor gene with keratoconus in an Australian population. *PLoS One*. 2014;9(1):e84067.
129. Li X, Bykhovskaya Y, Haritunians T, et al. A genome-wide association study identifies a potential novel gene locus for keratoconus, one of the commonest causes for corneal transplantation in developed countries. *Hum Mol Genet*. 2012;21(2):421-9.
130. Lu Y, Vitart V, Burdon KP, et al. Genome-wide association analyses identify multiple loci associated with central corneal thickness and keratoconus. *Nat Genet*. 2013;45(2):155-63.
131. Yu X, Chen B, Zhang X, et al. Identification of seven novel ZNF469 mutations in keratoconus patients in a Han Chinese population. *Mol Vis*. 2017;23:296-305.
132. Vincent AL, Jordan CA, Cadzow MJ, et al. Mutations in the zinc finger protein gene, ZNF469, contribute to the pathogenesis of keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55(9):5629-35.
133. Lechner J, Porter LF, Rice A, et al. Enrichment of pathogenic alleles in the brittle cornea gene, ZNF469, in keratoconus. *Hum Mol Genet*. 2014;23(20):5527-35.
134. Karolak JA, Gambin T, Rydzanicz M, et al. Evidence against ZNF469 being causative for keratoconus in Polish patients. *Acta Ophthalmol*. 2016;94(3):289-94.
135. 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;39(2):158-74.
136. McMonnies CW. Mechanisms of rubbing-related corneal trauma in keratoconus. *Cornea*. 2009;28(6):607-15.
137. Merdler I, Hassidim A, Sorkin N, et al. Keratoconus and allergic diseases among Israeli adolescents between 2005 and 2013. *Cornea*. 2015;34(5):525-9.
138. Bron AJ, Rabinowitz YS. Corneal dystrophies and keratoconus. *Curr Opin Ophthalmol*. 1996;7(4):71-82.
139. Wilson SE, He YG, Weng J, et al. Epithelial injury induces keratocyte apoptosis: hypothesized role for the interleukin-1 system in the modulation of corneal tissue organization and wound healing. *Exp Eye Res*. 1996;62(4):325-7.
140. Gasset AR, Houde WL, Garcia-Bengochea M. Hard contact lens wear as an environmental risk in keratoconus. *Am J Ophthalmol*. 1978;85(3):339-41.
141. Bawazeer AM, Hodge WG, Lorimer B. Atopy and keratoconus: a multivariate analysis. *Br J Ophthalmol*. 2000;84(8):834-6.
142. Hargrave S, Chu Y, Mendelblatt D, et al. Preliminary findings in corneal allograft rejection in patients with keratoconus. *Am J Ophthalmol*. 2003;135(4):452-60.
143. Newkirk KM, Chandler HL, Parent AE, et al. Ultraviolet radiation-induced corneal degeneration in 129 mice. *Toxicol Pathol*. 2007;35(6):819-26.

144. Podskochy A, Gan L, Fagerholm P. Apoptosis in UV-exposed rabbit corneas. *Cornea*. 2000;19(1):99-103.
145. Ferrari G, Rama P. The keratoconus enigma: A review with emphasis on pathogenesis. *Ocul Surf*. 2020;18(3):363-73.
146. Spoerl E, Raiskup-Wolf F, Kuhlisch E, et al. Cigarette smoking is negatively associated with keratoconus. *J Refract Surg*. 2008;24(7):S737-40.
147. Wojcik KA, Blasiak J, Szaflik J, et al. Role of biochemical factors in the pathogenesis of keratoconus. *Acta Biochim Pol*. 2014;61(1):55-62.
148. Cheung IM, McGhee CN, Sherwin T. A new perspective on the pathobiology of keratoconus: interplay of stromal wound healing and reactive species-associated processes. *Clin Exp Optom*. 2013;96(2):188-96.
149. Kallinikos P, Morgan P, Efron N. Assessment of stromal keratocytes and tear film inflammatory mediators during extended wear of contact lenses. *Cornea*. 2006;25(1):1-10.
150. Carracedo G, González-Méijome JM, Martín-Gil A, et al. The influence of rigid gas permeable lens wear on the concentrations of dinucleotides in tears and the effect on dry eye signs and symptoms in keratoconus. *Cont Lens Anterior Eye*. 2016;39(5):375-9.
151. Balasubramanian SA, Mohan S, Pye DC, et al. Proteases, proteolysis and inflammatory molecules in the tears of people with keratoconus. *Acta Ophthalmol*. 2012;90(4):e303-9.
152. Hong JW, Liu JJ, Lee JS, et al. Proinflammatory chemokine induction in keratocytes and inflammatory cell infiltration into the cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001;42(12):2795-803.
153. Maertzdorf J, Osterhaus AD, Verjans GM. IL-17 expression in human herpetic stromal keratitis: modulatory effects on chemokine production by corneal fibroblasts. *J Immunol*. 2002;169(10):5897-903.
154. Bureau J, Fabre EJ, Hecquet C, et al. Modification of prostaglandin E2 and collagen synthesis in keratoconus fibroblasts, associated with an increase of interleukin 1 alpha receptor number. *C R Acad Sci III*. 1993;316(4):425-30.
155. Fan Gaskin JC, Loh IP, McGhee CN, et al. An Immunohistochemical Study of Inflammatory Cell Changes and Matrix Remodeling With and Without Acute Hydrops in Keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56(10):5831-7.
156. Karaca EE, Özmen MC, Ekici F, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio may predict progression in patients with keratoconus. *Cornea*. 2014;33(11):1168-73.
157. Lema I, Durán JA, Ruiz C, et al. Inflammatory response to contact lenses in patients with keratoconus compared with myopic subjects. *Cornea*. 2008;27(7):758-63.
158. Balasubramanian SA, Pye DC, Willcox MD. Levels of lactoferrin, secretory IgA and serum albumin in the tear film of people with keratoconus. *Exp Eye Res*. 2012;96(1):132-7.
159. Legrand D, Pierce A, Ellass E, et al. Lactoferrin structure and functions. *Adv Exp Med Biol*. 2008;606:163-94.
160. Saghizadeh M, Chwa M, Aoki A, et al. Altered expression of growth factors and cytokines in keratoconus, bullous keratopathy and diabetic human corneas. *Exp Eye Res*. 2001;73(2):179-89.

161. Dogru M, Karakaya H, Ozçetin H, et al. Tear function and ocular surface changes in keratoconus. *Ophthalmology*. 2003;110(6):1110-8.
162. Ridley F. EYE-RUBBING AND CONTACT LENSES. *Br J Ophthalmol*. 1961;45(9):631.
163. McMonnies CW. Abnormal rubbing and keratectasia. *Eye Contact Lens*. 2007;33(6 Pt 1):265-71.
164. Krachmer JH. Eye rubbing can cause keratoconus. *Cornea*. 2004;23(6):539-40.
165. Jafri B, Lichter H, Stulting RD. Asymmetric keratoconus attributed to eye rubbing. *Cornea*. 2004;23(6):560-4.
166. Zhou L, Sawaguchi S, Twining SS, et al. Expression of degradative enzymes and protease inhibitors in corneas with keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998;39(7):1117-24.
167. Collier SA. Is the corneal degradation in keratoconus caused by matrix-metalloproteinases? *Clin Exp Ophthalmol*. 2001;29(6):340-4.
168. Sawaguchi S, Yue BY, Sugar J, et al. Lysosomal enzyme abnormalities in keratoconus. *Arch Ophthalmol*. 1989;107(10):1507-10.
169. Fukuchi T, Yue BY, Sugar J, et al. Lysosomal enzyme activities in conjunctival tissues of patients with keratoconus. *Arch Ophthalmol*. 1994;112(10):1368-74.
170. Balasubramanian SA, Wasinger VC, Pye DC, et al. Preliminary identification of differentially expressed tear proteins in keratoconus. *Mol Vis*. 2013;19:2124-34.
171. Galvis V, Sherwin T, Tello A, et al. Keratoconus: an inflammatory disorder? *Eye (Lond)*. 2015;29(7):843-59.
172. Kao WW, Vergnes JP, Ebert J, et al. Increased collagenase and gelatinase activities in keratoconus. *Biochem Biophys Res Commun*. 1982;107(3):929-36.
173. Fini ME, Yue BY, Sugar J. Collagenolytic/gelatinolytic metalloproteinases in normal and keratoconus corneas. *Curr Eye Res*. 1992;11(9):849-62.
174. Collier SA, Madigan MC, Penfold PL. Expression of membrane-type 1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP) and MMP-2 in normal and keratoconus corneas. *Curr Eye Res*. 2000;21(2):662-8.
175. Shetty R, Ghosh A, Lim RR, et al. Elevated expression of matrix metalloproteinase-9 and inflammatory cytokines in keratoconus patients is inhibited by cyclosporine A. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56(2):738-50.
176. Balasubramanian SA, Pye DC, Willcox MD. Are proteinases the reason for keratoconus? *Curr Eye Res*. 2010;35(3):185-91.
177. Sawaguchi S, Twining SS, Yue BY, et al. Alpha-1 proteinase inhibitor levels in keratoconus. *Exp Eye Res*. 1990;50(5):549-54.
178. Sawaguchi S, Twining SS, Yue BY, et al. Alpha 2-macroglobulin levels in normal human and keratoconus corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1994;35(12):4008-14.
179. Brown D, Chwa MM, Opbroek A, et al. Keratoconus corneas: increased gelatinolytic activity appears after modification of inhibitors. *Curr Eye Res*. 1993;12(6):571-81.
180. Kenney MC, Chwa M, Alba A, et al. Localization of TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3, gelatinase A and gelatinase B in pathological human corneas. *Curr Eye Res*. 1998;17(3):238-46.

181. Matthews FJ, Cook SD, Majid MA, et al. Changes in the balance of the tissue inhibitor of matrix metalloproteinases (TIMPs)-1 and -3 may promote keratocyte apoptosis in keratoconus. *Exp Eye Res.* 2007;84(6):1125-34.
182. Dudakova L, Jirsova K. The impairment of lysyl oxidase in keratoconus and in keratoconus-associated disorders. *J Neural Transm (Vienna).* 2013;120(6):977-82.
183. Molnar J, Fong KS, He QP, et al. Structural and functional diversity of lysyl oxidase and the LOX-like proteins. *Biochim Biophys Acta.* 2003;1647(1-2):220-4.
184. Wojcik KA, Kaminska A, Blasiak J, et al. Oxidative stress in the pathogenesis of keratoconus and Fuchs endothelial corneal dystrophy. *Int J Mol Sci.* 2013;14(9):19294-308.
185. Arnal E, Peris-Martínez C, Menezo JL, et al. Oxidative stress in keratoconus? *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(12):8592-7.
186. Chwa M, Atilano SR, Reddy V, et al. Increased stress-induced generation of reactive oxygen species and apoptosis in human keratoconus fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47(5):1902-10.
187. Buddi R, Lin B, Atilano SR, et al. Evidence of oxidative stress in human corneal diseases. *J Histochem Cytochem.* 2002;50(3):341-51.
188. Squadrito GL, Pryor WA. Oxidative chemistry of nitric oxide: the roles of superoxide, peroxynitrite, and carbon dioxide. *Free Radic Biol Med.* 1998;25(4-5):392-403.
189. Ollinger K, Brunk UT. Cellular injury induced by oxidative stress is mediated through lysosomal damage. *Free Radic Biol Med.* 1995;19(5):565-74.
190. Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radic Biol Med.* 2002;33(3):337-49.
191. Olofsson EM, Marklund SL, Pedrosa-Domellöf F, et al. Interleukin-1alpha downregulates extracellular-superoxide dismutase in human corneal keratoconus stromal cells. *Mol Vis.* 2007;13:1285-90.
192. Pappa A, Chen C, Koutalos Y, et al. Aldh3a1 protects human corneal epithelial cells from ultraviolet- and 4-hydroxy-2-nonenal-induced oxidative damage. *Free Radic Biol Med.* 2003;34(9):1178-89.
193. Piatigorsky J. Enigma of the abundant water-soluble cytoplasmic proteins of the cornea: the "refracton" hypothesis. *Cornea.* 2001;20(8):853-8.
194. Agarwal S, Ghosh A, Chatterjee SN. Spontaneous release of malondialdehyde from ultraviolet light exposed liposomal membranes. *Z Naturforsch C J Biosci.* 1987;42(5):585-8.
195. Gondhowiardjo TD, van Haeringen NJ, Völker-Dieben HJ, et al. Analysis of corneal aldehyde dehydrogenase patterns in pathologic corneas. *Cornea.* 1993;12(2):146-54.
196. Beak SM, Lee YS, Kim JA. NADPH oxidase and cyclooxygenase mediate the ultraviolet B-induced generation of reactive oxygen species and activation of nuclear factor-kappaB in HaCaT human keratinocytes. *Biochimie.* 2004;86(7):425-9.
197. Valencia A, Kochevar IE. Nox1-based NADPH oxidase is the major source of UVA-induced reactive oxygen species in human keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 2008;128(1):214-22.

198. Jiang F, Zhang Y, Dusting GJ. NADPH oxidase-mediated redox signaling: roles in cellular stress response, stress tolerance, and tissue repair. *Pharmacol Rev.* 2011;63(1):218-42.
199. Joseph R, Srivastava OP, Pfister RR. Differential epithelial and stromal protein profiles in keratoconus and normal human corneas. *Exp Eye Res.* 2011;92(4):282-98.
200. Atilano SR, Coskun P, Chwa M, et al. Accumulation of mitochondrial DNA damage in keratoconus corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005;46(4):1256-63.
201. Hao XD, Chen ZL, Qu ML, et al. Decreased Integrity, Content, and Increased Transcript Level of Mitochondrial DNA Are Associated with Keratoconus. *PLoS One.* 2016;11(10):e0165580.
202. Chwa M, Atilano SR, Hertzog D, et al. Hypersensitive response to oxidative stress in keratoconus corneal fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49(10):4361-9.
203. Taylor RW, Turnbull DM. Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nat Rev Genet.* 2005;6(5):389-402.
204. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, et al. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ J.* 2012;5(1):9-19.
205. Saijyothi AV, Fowjana J, Madhumathi S, et al. Tear fluid small molecular antioxidants profiling shows lowered glutathione in keratoconus. *Exp Eye Res.* 2012;103:41-6.
206. Iwamoto T, DeVoe AG. Electron microscopical study of the Fleisher ring. *Arch Ophthalmol.* 1976;94(9):1579-84.
207. He X, Hahn P, Iacovelli J, et al. Iron homeostasis and toxicity in retinal degeneration. *Prog Retin Eye Res.* 2007;26(6):649-73.
208. Loh A, Hadziahmetovic M, Dunaief JL. Iron homeostasis and eye disease. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1790(7):637-49.
209. Lema I, Brea D, Rodríguez-González R, et al. Proteomic analysis of the tear film in patients with keratoconus. *Mol Vis.* 2010;16:2055-61.
210. Toprak I, Kucukatay V, Yildirim C, et al. Increased systemic oxidative stress in patients with keratoconus. *Eye (Lond).* 2014;28(3):285-9.
211. Gupta PD, Johar K, Sr., Nagpal K, et al. Sex hormone receptors in the human eye. *Surv Ophthalmol.* 2005;50(3):274-84.
212. Fink BA, Sinnott LT, Wagner H, et al. The influence of gender and hormone status on the severity and progression of keratoconus. *Cornea.* 2010;29(1):65-72.
213. Hoogewoud F, Gatziofas Z, Hafezi F. Transitory topographical variations in keratoconus during pregnancy. *J Refract Surg.* 2013;29(2):144-6.
214. Pizzarello LD. Refractive changes in pregnancy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2003;41(6):484-8.
215. Spoerl E, Zubaty V, Raiskup-Wolf F, et al. Oestrogen-induced changes in biomechanics in the cornea as a possible reason for keratectasia. *Br J Ophthalmol.* 2007;91(11):1547-50.
216. Suzuki T, Sullivan DA. Estrogen stimulation of proinflammatory cytokine and matrix metalloproteinase gene expression in human corneal epithelial cells. *Cornea.* 2005;24(8):1004-9.

217. Yuksel E, Yalinbas D, Aydin B, et al. Keratoconus Progression Induced by In Vitro Fertilization Treatment. *J Refract Surg.* 2016;32(1):60-3.
218. McKay TB, Hjortdal J, Sejersen H, et al. Endocrine and Metabolic Pathways Linked to Keratoconus: Implications for the Role of Hormones in the Stromal Microenvironment. *Sci Rep.* 2016;6:25534.
219. Koob TJ, Jeffrey JJ, Eisen AZ, et al. Hormonal interactions in mammalian collagenase regulation. Comparative studies in human skin and rat uterus. *Biochim Biophys Acta.* 1980;629(1):13-23.
220. Sato T, Ito A, Mori Y, et al. Hormonal regulation of collagenolysis in uterine cervical fibroblasts. Modulation of synthesis of procollagenase, prostromelysin and tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP) by progesterone and oestradiol-17 beta. *Biochem J.* 1991;275 (Pt 3)(Pt 3):645-50.
221. Ayan B, Yuksel N, Carhan A, et al. Evaluation estrogen, progesteron and androgen receptor expressions in corneal epithelium in keratoconus. *Cont Lens Anterior Eye.* 2019;42(5):492-6.
222. Bürgi H, König MP. [Endocrine ophthalmology. An overview of pathology, classification, and therapy]. *Schweiz Med Wochenschr.* 1975;105(35):1101-10.
223. Conrad AH, Zhang Y, Walker AR, et al. Thyroxine affects expression of KSPG-related genes, the carbonic anhydrase II gene, and KS sulfation in the embryonic chicken cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47(1):120-32.
224. Coulombre AJ, Coulombre JL. Corneal Development. 3. The Role of the Thyroid in Dehydration and the Development of Transparency. *Exp Eye Res.* 1964;3:105-14.
225. Thanos S, Oellers P, Meyer Zu Hörste M, et al. Role of Thyroxine in the Development of Keratoconus. *Cornea.* 2016;35(10):1338-46.
226. Gatzoufas Z, Thanos S. Acute keratoconus induced by hypothyroxinemia during pregnancy. *J Endocrinol Invest.* 2008;31(3):262-6.
227. Flaskó Z, Zemova E, Eppig T, et al. Hypothyroidism is Not Associated with Keratoconus Disease: Analysis of 626 Subjects. *J Ophthalmol.* 2019;2019:3268595.
228. Kahán IL, Varsányi-Nagy M, Tóth M, et al. The possible role of tear fluid thyroxine in keratoconus development. *Exp Eye Res.* 1990;50(4):339-43.
229. Sugar J, Macsai MS. What causes keratoconus? *Cornea.* 2012;31(6):716-9.
230. Marsack JD, Benoit JS, Kollbaum PS, et al. Application of Topographical Keratoconus Detection Metrics to Eyes of Individuals with Down Syndrome. *Optom Vis Sci.* 2019;96(9):664-9.
231. Alio JL, Vega-Estrada A, Sanz P, et al. Corneal Morphologic Characteristics in Patients With Down Syndrome. *JAMA Ophthalmol.* 2018;136(9):971-8.
232. Beardsley TL, Foulks GN. An association of keratoconus and mitral valve prolapse. *Ophthalmology.* 1982;89(1):35-7.
233. Sharif KW, Casey TA, Coltart J. Prevalence of mitral valve prolapse in keratoconus patients. *J R Soc Med.* 1992;85(8):446-8.
234. Delling FN, Vasan RS. Epidemiology and pathophysiology of mitral valve prolapse: new insights into disease progression, genetics, and molecular basis. *Circulation.* 2014;129(21):2158-70.

235. Nucci P, Brancato R. Keratoconus and congenital hip dysplasia. *Am J Ophthalmol*. 1991;111(6):775-6.
236. Ezra DG, Beaconsfield M, Sira M, et al. The associations of floppy eyelid syndrome: a case control study. *Ophthalmology*. 2010;117(4):831-8.
237. Donnenfeld ED, Perry HD, Gibralter RP, et al. Keratoconus associated with floppy eyelid syndrome. *Ophthalmology*. 1991;98(11):1674-8.
238. Salinas R, Puig M, Fry CL, et al. Floppy eyelid syndrome: A comprehensive review. *Ocul Surf*. 2020;18(1):31-9.
239. Schlötzer-Schrehardt U, Stojkovic M, Hofmann-Rummelt C, et al. The Pathogenesis of floppy eyelid syndrome: involvement of matrix metalloproteinases in elastic fiber degradation. *Ophthalmology*. 2005;112(4):694-704.
240. Maumenee IH. The eye in the Marfan syndrome. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 1981;79:684-733.
241. Mashor RS, Kumar NL, Ritenour RJ, et al. Keratoconus caused by eye rubbing in patients with Tourette Syndrome. *Can J Ophthalmol*. 2011;46(1):83-6.
242. Pihlblad MS, Schaefer DP. Eyelid laxity, obesity, and obstructive sleep apnea in keratoconus. *Cornea*. 2013;32(9):1232-6.
243. Seiler T, Huhle S, Spoerl E, et al. Manifest diabetes and keratoconus: a retrospective case-control study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2000;238(10):822-5.
244. Kuo IC, Broman A, Pirouzmanesh A, et al. Is there an association between diabetes and keratoconus? *Ophthalmology*. 2006;113(2):184-90.
245. Igarashi S, Makita Y, Hikichi T, et al. Association of keratoconus and Avellino corneal dystrophy. *Br J Ophthalmol*. 2003;87(3):367-8.
246. Mitsui M, Sakimoto T, Sawa M, et al. Familial case of keratoconus with corneal granular dystrophy. *Jpn J Ophthalmol*. 1998;42(5):385-8.
247. Lipman RM, Rubenstein JB, Torczynski E. Keratoconus and Fuchs' corneal endothelial dystrophy in a patient and her family. *Arch Ophthalmol*. 1990;108(7):993-4.
248. Weissman BA, Ehrlich M, Levenson JE, et al. Four cases of keratoconus and posterior polymorphous corneal dystrophy. *Optom Vis Sci*. 1989;66(4):243-6.
249. Cremona FA, Ghosheh FR, Rapuano CJ, et al. Keratoconus associated with other corneal dystrophies. *Cornea*. 2009;28(2):127-35.
250. Dantas PE, Alves MR, Nishiwaki-Dantas MC. Topographic corneal changes in patients with vernal keratoconjunctivitis. *Arq Bras Oftalmol*. 2005;68(5):593-8.
251. Arntz A, Durán JA, Pijoán JJ. [Subclinical keratoconus diagnosis by elevation topography]. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2003;78(12):659-64.
252. Thota S, Miller WL, Bergmanson JP. Acute corneal hydrops: a case report including confocal and histopathological considerations. *Cont Lens Anterior Eye*. 2006;29(2):69-73.
253. Fournié P, Touboul D, Arné JL, et al. [Keratoconus]. *J Fr Ophtalmol*. 2013;36(7):618-26.

254. Kamiya K, Iijima K, Nobuyuki S, et al. Predictability of Intraocular Lens Power Calculation for Cataract with Keratoconus: A Multicenter Study. *Sci Rep*. 2018;8(1):1312.
255. Kamiya K, Kono Y, Takahashi M, et al. Comparison of Simulated Keratometry and Total Refractive Power for Keratoconus According to the Stage of Amsler-Krumeich Classification. *Sci Rep*. 2018;8(1):12436.
256. Wise GM, Osborn JE, Zwart PR. Photokeratoscopy: some theoretical and practical considerations of the technique. *Aust N Z J Ophthalmol*. 1986;14(3):255-8.
257. Martin R. Cornea and anterior eye assessment with placido-disc keratoscopy, slit scanning evaluation topography and scheimpflug imaging tomography. *Indian J Ophthalmol*. 2018;66(3):360-6.
258. Rowsey JJ, Reynolds AE, Brown R. Corneal topography. Corneascopy. *Arch Ophthalmol*. 1981;99(6):1093-100.
259. Kaushik S, Pandav SS. Ocular Response Analyzer. *J Curr Glaucoma Pract*. 2012;6(1):17-9.
260. Luz A, Fontes BM, Lopes B, et al. ORA waveform-derived biomechanical parameters to distinguish normal from keratoconic eyes. *Arq Bras Oftalmol*. 2013;76(2):111-7.
261. Saad A, Lteif Y, Azan E, et al. Biomechanical Properties of Keratoconus Suspect Eyes. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2010;51(6):2912-6.
262. Shah S, Laiquzzaman M, Bhojwani R, et al. Assessment of the Biomechanical Properties of the Cornea with the Ocular Response Analyzer in Normal and Keratoconic Eyes. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2007;48(7):3026-31.
263. Fontes BM, Ambrósio R, Jr., Velarde GC, et al. Ocular response analyzer measurements in keratoconus with normal central corneal thickness compared with matched normal control eyes. *J Refract Surg*. 2011;27(3):209-15.
264. Elham R, Jafarzadehpur E, Hashemi H, et al. Keratoconus diagnosis using Corvis ST measured biomechanical parameters. *J Curr Ophthalmol*. 2017;29(3):175-81.
265. Yang K, Xu L, Fan Q, et al. Evaluation of new Corvis ST parameters in normal, Post-LASIK, Post-LASIK keratectasia and keratoconus eyes. *Sci Rep*. 2020;10(1):5676.
266. Vellara HR, Patel DV. Biomechanical properties of the keratoconic cornea: a review. *Clin Exp Optom*. 2015;98(1):31-8.
267. Tian L, Huang YF, Wang LQ, et al. Corneal biomechanical assessment using corneal visualization scheimpflug technology in keratoconic and normal eyes. *J Ophthalmol*. 2014;2014:147516.
268. Ren S, Xu L, Fan Q, et al. Accuracy of new Corvis ST parameters for detecting subclinical and clinical keratoconus eyes in a Chinese population. *Sci Rep*. 2021;11(1):4962.
269. Chan TCY, Wang YM, Yu M, et al. Comparison of Corneal Tomography and a New Combined Tomographic Biomechanical Index in Subclinical Keratoconus. *J Refract Surg*. 2018;34(9):616-21.
270. Hashemi H, Mehravaran S. Day to Day Clinically Relevant Corneal Elevation, Thickness, and Curvature Parameters Using the Orbscan II Scanning Slit Topographer and the Pentacam Scheimpflug Imaging Device. *Middle East Afr J Ophthalmol*. 2010;17(1):44-55.
271. Fam HB, Lim KL. Corneal elevation indices in normal and keratoconic eyes. *J Cataract Refract Surg*. 2006;32(8):1281-7.

272. Lim L, Wei RH, Chan WK, et al. Evaluation of keratoconus in Asians: role of Orbscan II and Tomey TMS-2 corneal topography. *Am J Ophthalmol*. 2007;143(3):390-400.
273. Klyce SD. Chasing the suspect: keratoconus. *Br J Ophthalmol*. 2009;93(7):845-7.
274. Maeda N, Klyce SD, Smolek MK, et al. Automated keratoconus screening with corneal topography analysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1994;35(6):2749-57.
275. Smolek MK, Klyce SD. Current keratoconus detection methods compared with a neural network approach. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1997;38(11):2290-9.
276. Maeda N, Klyce SD, Smolek MK. Comparison of methods for detecting keratoconus using videokeratography. *Arch Ophthalmol*. 1995;113(7):870-4.
277. Rabinowitz YS, Rasheed K. KISA% index: a quantitative videokeratography algorithm embodying minimal topographic criteria for diagnosing keratoconus. *J Cataract Refract Surg*. 1999;25(10):1327-35.
278. KAZANCI L, EREN S, AYDIN E, et al. Erişkinlerde Sirius® Topografi Cihazı ile Kornea ve Ön Kamara Ölçümlerinin Değerlendirilmesi. *Glokom-Katarakt/Journal of Glaucoma-Cataract*. 2016;11(4).
279. Shetty R, Rao H, Khamar P, et al. Keratoconus Screening Indices and Their Diagnostic Ability to Distinguish Normal From Ectatic Corneas. *Am J Ophthalmol*. 2017;181:140-8.
280. Savini G, Carbonelli M, Sbreghia A, et al. Comparison of anterior segment measurements by 3 Scheimpflug tomographers and 1 Placido corneal topographer. *J Cataract Refract Surg*. 2011;37(9):1679-85.
281. Polat O, Baysal Z, Özcan S, et al. Comparison of Anterior Segment Measurements Obtained by Aladdin Optical Biometer and Sirius Corneal Topography. *Turk J Ophthalmol*. 2016;46(6):259-63.
282. Gökçinar Nb, Akbulut Y, Oğurel T, Et Al. Keratokonusta Kornea Endotel Hücre Özelliklerinin Topografik Ektazi Göstergeleri İle Karşılaştırılması. *Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 21(2):218-25.
283. Doctor K, Vunnava KP, Shroff R, et al. Simplifying and understanding various topographic indices for keratoconus using Scheimpflug based topographers. *Indian Journal of Ophthalmology*. 2020;68(12):2732-43.
284. Charles N, Charles M, Croxatto JO, et al. Surface and Orbscan II slit-scanning elevation topography in circumscribed posterior keratoconus. *J Cataract Refract Surg*. 2005;31(3):636-9.
285. Streeten BW, Karpik AG, Spitzer KH. Posterior keratoconus associated with systemic abnormalities. *Arch Ophthalmol*. 1983;101(4):616-22.
286. Bareja U, Vajpayee RB. Posterior keratoconus due to iron nail injury--a case report. *Indian J Ophthalmol*. 1991;39(1):30.
287. Karabatsas CH, Cook SD. Topographic analysis in pellucid marginal corneal degeneration and keratoglobus. *Eye (Lond)*. 1996;10 (Pt 4):451-5.
288. Krachmer JH. Pellucid marginal corneal degeneration. *Arch Ophthalmol*. 1978;96(7):1217-21.
289. Lee BW, Jurkunas UV, Harissi-Dagher M, et al. Ectatic disorders associated with a claw-shaped pattern on corneal topography. *Am J Ophthalmol*. 2007;144(1):154-6.

290. Pouliquen Y, Dhermy P, Espinasse MA, et al. [Keratoglobus]. *J Fr Ophtalmol*. 1985;8(1):43-54.
291. Nelson ME, Talbot JF. Keratoglobus in the Rubinstein-Taybi syndrome. *Br J Ophthalmol*. 1989;73(5):385-7.
292. Biglan AW, Brown SI, Johnson BL. Keratoglobus and blue sclera. *Am J Ophthalmol*. 1977;83(2):225-33.
293. Wallang BS, Das S. Keratoglobus. *Eye (Lond)*. 2013;27(9):1004-12.
294. Ruiz-Montenegro J, Mafra CH, Wilson SE, et al. Corneal topographic alterations in normal contact lens wearers. *Ophthalmology*. 1993;100(1):128-34.
295. Rayess Y, Arej N, Abdel Massih Y, et al. Influence of soft contact lens material on corneal warpage: prevalence and time to resolution. *Can J Ophthalmol*. 2018;53(2):135-8.
296. Wang X, McCulley JP, Bowman RW, et al. Time to resolution of contact lens-induced corneal warpage prior to refractive surgery. *Clao j*. 2002;28(4):169-71.
297. Stoesser F, Lévy D, Moalic S, et al. [Pseudokeratoconus and ocular rosacea]. *J Fr Ophtalmol*. 2004;27(3):278-84.
298. Dursun D, Piniella AM, Pflugfelder SC. Pseudokeratoconus caused by rosacea. *Cornea*. 2001;20(6):668-9.
299. Binder PS. Ectasia after laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg*. 2003;29(12):2419-29.
300. Rao SN, Epstein RJ. Early onset ectasia following laser in situ keratomileusis: case report and literature review. *J Refract Surg*. 2002;18(2):177-84.
301. Xie W, Xu Y, Yao YF. Case Report: Acute Hydrops with Descemet Membrane Schisis in Corneal Ectasia after Radial Keratotomy. *Optom Vis Sci*. 2018;95(1):76-81.
302. Leccisotti A. Corneal ectasia after photorefractive keratectomy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2007;245(6):869-75.
303. Patel SV, Malta JB, Banitt MR, et al. Recurrent ectasia in corneal grafts and outcomes of repeat keratoplasty for keratoconus. *Br J Ophthalmol*. 2009;93(2):191-7.
304. Feizi S, Javadi MA, Rezaei Kanavi M. Recurrent keratoconus in a corneal graft after deep anterior lamellar keratoplasty. *J Ophthalmic Vis Res*. 2012;7(4):328-31.
305. Romero-Jiménez M, Santodomingo-Rubido J, Wolffsohn JS. Keratoconus: a review. *Cont Lens Anterior Eye*. 2010;33(4):157-66; quiz 205.
306. McMahon TT, Robin JB, Scarpulla KM, et al. The spectrum of topography found in keratoconus. *Clao j*. 1991;17(3):198-204.
307. Mas Tur V, MacGregor C, Jayaswal R, et al. A review of keratoconus: Diagnosis, pathophysiology, and genetics. *Surv Ophthalmol*. 2017;62(6):770-83.
308. Kamiya K, Ishii R, Shimizu K, et al. Evaluation of corneal elevation, pachymetry and keratometry in keratoconic eyes with respect to the stage of Amsler-Krumeich classification. *Br J Ophthalmol*. 2014;98(4):459-63.
309. Alió JL, Shabayek MH. Corneal higher order aberrations: a method to grade keratoconus. *J Refract Surg*. 2006;22(6):539-45.

310. Ortiz-Toquero S, Fernandez I, Martin R. Classification of Keratoconus Based on Anterior Corneal High-order Aberrations: A Cross-validation Study. *Optom Vis Sci*. 2020;97(3):169-77.
311. Belin MW, Duncan JK. Keratoconus: The ABCD Grading System. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2016;233(6):701-7.
312. McMahon TT, Szczotka-Flynn L, Barr JT, et al. A new method for grading the severity of keratoconus: the Keratoconus Severity Score (KSS). *Cornea*. 2006;25(7):794-800.
313. Gomes JA, Tan D, Rapuano CJ, et al. Global consensus on keratoconus and ectatic diseases. *Cornea*. 2015;34(4):359-69.
314. Katsoulos C, Karageorgiadis L, Vasileiou N, et al. Customized hydrogel contact lenses for keratoconus incorporating correction for vertical coma aberration. *Ophthalmic Physiol Opt*. 2009;29(3):321-9.
315. Andreanos KD, Hashemi K, Petrelli M, et al. Keratoconus Treatment Algorithm. *Ophthalmol Ther*. 2017;6(2):245-62.
316. Heikal MA, Abdelshafy M, Soliman TT, et al. Refractive and visual outcomes after Keraring intrastromal corneal ring segment implantation for keratoconus assisted by femtosecond laser at 6 months follow-up. *Clin Ophthalmol*. 2017;11:81-6.
317. Shabayek MH, Alió JL. Intrastromal corneal ring segment implantation by femtosecond laser for keratoconus correction. *Ophthalmology*. 2007;114(9):1643-52.
318. Parker JS, van Dijk K, Melles GR. Treatment options for advanced keratoconus: A review. *Surv Ophthalmol*. 2015;60(5):459-80.
319. Pramanik S, Musch DC, Sutphin JE, et al. Extended long-term outcomes of penetrating keratoplasty for keratoconus. *Ophthalmology*. 2006;113(9):1633-8.
320. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol*. 2003;135(5):620-7.
321. Zhang Y, Conrad AH, Conrad GW. Effects of ultraviolet-A and riboflavin on the interaction of collagen and proteoglycans during corneal cross-linking. *J Biol Chem*. 2011;286(15):13011-22.
322. Wollensak G, Spoerl E, Reber F, et al. Keratocyte cytotoxicity of riboflavin/UVA-treatment in vitro. *Eye (Lond)*. 2004;18(7):718-22.
323. Wollensak G. Crosslinking treatment of progressive keratoconus: new hope. *Curr Opin Ophthalmol*. 2006;17(4):356-60.
324. Yam JC, Chan CW, Cheng AC. Corneal collagen cross-linking demarcation line depth assessed by Visante OCT After CXL for keratoconus and corneal ectasia. *J Refract Surg*. 2012;28(7):475-81.
325. Hersh PS, Greenstein SA, Fry KL. Corneal collagen crosslinking for keratoconus and corneal ectasia: One-year results. *J Cataract Refract Surg*. 2011;37(1):149-60.
326. Raiskup-Wolf F, Hoyer A, Spoerl E, et al. Collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A light in keratoconus: long-term results. *J Cataract Refract Surg*. 2008;34(5):796-801.
327. Caporossi A, Mazzotta C, Baiocchi S, et al. Long-term results of riboflavin ultraviolet a corneal collagen cross-linking for keratoconus in Italy: the Siena eye cross study. *Am J Ophthalmol*. 2010;149(4):585-93.

328. Deshmukh R, Hafezi F, Kymionis GD, et al. Current concepts in crosslinking thin corneas. *Indian J Ophthalmol.* 2019;67(1):8-15.
329. Akbar B, Intisar-Ul-Haq R, Ishaq M, et al. Comparison of transepithelial corneal crosslinking with epithelium-off crosslinking (epithelium-off CXL) in adult Pakistani population with progressive keratoconus. *Taiwan J Ophthalmol.* 2017;7(4):185-90.
330. Li W, Wang B. Efficacy and safety of transepithelial corneal collagen crosslinking surgery versus standard corneal collagen crosslinking surgery for keratoconus: a meta-analysis of randomized controlled trials. *BMC Ophthalmol.* 2017;17(1):262.
331. Bikbova G, Bikbov M. Transepithelial corneal collagen cross-linking by iontophoresis of riboflavin. *Acta Ophthalmol.* 2014;92(1):e30-4.
332. Bikbova G, Bikbov M. Standard corneal collagen crosslinking versus transepithelial iontophoresis-assisted corneal crosslinking, 24 months follow-up: randomized control trial. *Acta Ophthalmol.* 2016;94(7):e600-e6.
333. Tomita M, Mita M, Huseynova T. Accelerated versus conventional corneal collagen crosslinking. *J Cataract Refract Surg.* 2014;40(6):1013-20.
334. Shetty R, Nagaraja H, Jayadev C, et al. Accelerated corneal collagen cross-linking in pediatric patients: two-year follow-up results. *Biomed Res Int.* 2014;2014:894095.
335. Ng AL, Chan TC, Cheng AC. Conventional versus accelerated corneal collagen cross-linking in the treatment of keratoconus. *Clin Exp Ophthalmol.* 2016;44(1):8-14.
336. Ng AL, Chan TC, Lai JS, et al. Comparison of the Central and Peripheral Corneal Stromal Demarcation Line Depth in Conventional Versus Accelerated Collagen Cross-Linking. *Cornea.* 2015;34(11):1432-6.
337. Kymionis GD, Tsoulfaras KI, Liakopoulos DA, et al. Corneal Stromal Demarcation Line Depth Following Standard and a Modified High Intensity Corneal Cross-linking Protocol. *J Refract Surg.* 2016;32(4):218-22.
338. Mazzotta C, Traversi C, Paradiso AL, et al. Pulsed Light Accelerated Crosslinking versus Continuous Light Accelerated Crosslinking: One-Year Results. *J Ophthalmol.* 2014;2014:604731.
339. Kymionis GD. Corneal Collagen Cross Linking - PLUS. *Open Ophthalmol J.* 2011;5:10.
340. Kanellopoulos AJ. Comparison of sequential vs same-day simultaneous collagen cross-linking and topography-guided PRK for treatment of keratoconus. *J Refract Surg.* 2009;25(9):S812-8.
341. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in medicine.* 2015;17(5):405-23.
342. Quang D, Chen Y, Xie X. DANN: a deep learning approach for annotating the pathogenicity of genetic variants. *Bioinformatics.* 2015;31(5):761-3.
343. Sarezky D, Orlin SE, Pan W, et al. Trends in Corneal Transplantation in Keratoconus. *Cornea.* 2017;36(2):131-7.
344. Lema I, Durán JA. Inflammatory molecules in the tears of patients with keratoconus. *Ophthalmology.* 2005;112(4):654-9.

345. Bilgihan K, Hondur A, Sul S, et al. Pregnancy-induced progression of keratoconus. *Cornea*. 2011;30(9):991-4.
346. Soeters N, Tahzib NG, Bakker L, et al. Two cases of keratoconus diagnosed after pregnancy. *Optom Vis Sci*. 2012;89(1):112-6.
347. Rabinowitz YS. The genetics of keratoconus. *Ophthalmol Clin North Am*. 2003;16(4):607-20, vii.
348. Nowak DM, Gajicka M. The genetics of keratoconus. *Middle East Afr J Ophthalmol*. 2011;18(1):2-6.
349. Wheeler J, Hauser MA, Afshari NA, et al. The Genetics of Keratoconus: A Review. *Reprod Syst Sex Disord*. 2012(Suppl 6).
350. Li X, Bykhovskaya Y, Tang YG, et al. An association between the calpastatin (CAST) gene and keratoconus. *Cornea*. 2013;32(5):696-701.
351. Bykhovskaya Y, Li X, Epifantseva I, et al. Variation in the lysyl oxidase (LOX) gene is associated with keratoconus in family-based and case-control studies. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2012;53(7):4152-7.
352. Xu X, Zhang X, Cui Y, et al. Three novel variants identified within ECM-related genes in Chinese Han keratoconus patients. *Sci Rep*. 2020;10(1):5844.
353. Ohtoshi A, Justice MJ, Behringer RR. Isolation and characterization of Vsx1, a novel mouse CVC paired-like homeobox gene expressed during embryogenesis and in the retina. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;286(1):133-40.
354. Vincent AL, Jordan C, Sheck L, et al. Screening the visual system homeobox 1 gene in keratoconus and posterior polymorphous dystrophy cohorts identifies a novel variant. *Mol Vis*. 2013;19:852-60.
355. Jeoung JW, Kim MK, Park SS, et al. VSX1 gene and keratoconus: genetic analysis in Korean patients. *Cornea*. 2012;31(7):746-50.
356. Saeed-Rad S, Hashemi H, Miraftab M, et al. Mutation analysis of VSX1 and SOD1 in Iranian patients with keratoconus. *Mol Vis*. 2011;17:3128-36.
357. Tang YG, Picornell Y, Su X, et al. Three VSX1 gene mutations, L159M, R166W, and H244R, are not associated with keratoconus. *Cornea*. 2008;27(2):189-92.
358. Aldave AJ, Yellore VS, Salem AK, et al. No VSX1 gene mutations associated with keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47(7):2820-2.
359. Liskova P, Ebenezer ND, Hysi PG, et al. Molecular analysis of the VSX1 gene in familial keratoconus. *Mol Vis*. 2007;13:1887-91.
360. Guan T, Wu HJ, Zhang LJ, et al. [A novel VSX1 gene mutation identified in a sporadic keratoconus patient from China]. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi*. 2018;54(3):212-7.
361. Nejabat M, Naghash P, Dastsooz H, et al. VSX1 and SOD1 Mutation Screening in Patients with Keratoconus in the South of Iran. *J Ophthalmic Vis Res*. 2017;12(2):135-40.
362. Nielsen K, Birkenkamp-Demtröder K, Ehlers N, et al. Identification of differentially expressed genes in keratoconus epithelium analyzed on microarrays. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44(6):2466-76.

363. Zhang J, Zhang L, Hong J, et al. Association of Common Variants in LOX with Keratoconus: A Meta-Analysis. *PLoS One*. 2015;10(12):e0145815.
364. Gadelha DNB, Feitosa AFB, da Silva RG, et al. Screening for Novel LOX and SOD1 Variants in Keratoconus Patients from Brazil. *J Ophthalmic Vis Res*. 2020;15(2):138-48.
365. Karimian F, Aramesh S, Rabei HM, et al. Topographic evaluation of relatives of patients with keratoconus. *Cornea*. 2008;27(8):874-8.
366. Hammerstein W. [Genetics of conical cornea (author's transl)]. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol*. 1974;190(4):293-308.
367. Jacobs DS, Dohlman CH. Is keratoconus genetic? *Int Ophthalmol Clin*. 1993;33(2):249-60.
368. Pietruszyńska M, Zawadzka-Krajewska A, Duda P, et al. Ophthalmic manifestations of atopic dermatitis. *Postepy Dermatol Alergol*. 2020;37(2):174-9.
369. Shajari M, Eberhardt E, Müller M, et al. Effects of Atopic Syndrome on Keratoconus. *Cornea*. 2016;35(11):1416-20.
370. Sharma N, Rao K, Maharana PK, et al. Ocular allergy and keratoconus. *Indian J Ophthalmol*. 2013;61(8):407-9.
371. Balasubramanian SA, Pye DC, Willcox MD. Effects of eye rubbing on the levels of protease, protease activity and cytokines in tears: relevance in keratoconus. *Clin Exp Optom*. 2013;96(2):214-8.
372. Totan Y, Hepşen IF, Cekiç O, et al. Incidence of keratoconus in subjects with vernal keratoconjunctivitis: a videokeratographic study. *Ophthalmology*. 2001;108(4):824-7.

EKLER

Ek-1. Aydınlatılmış Onam Formu

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Ana Bilim Dalı Çukurova Bölgesindeki Keratokonus Olgularında VSX1 ve LOX Genlerinin Dizileme Yöntemi ile Analizi Çalışması

AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

“Çukurova bölgesindeki keratokonus olgularında VSX1 ve LOX genlerinin dizileme yöntemi ile analizi” isimli bir çalışmada yer almak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışma araştırma amaçlı olarak yapılmaktadır. Çalışmaya katılma konusunda karar vermeden önce araştırmanın nasıl ve neden yapıldığını, sizinle ilgili bilgilerin nasıl kullanılacağını, çalışmanın neler içerdiğini, olası yararlarını, risklerini bilmeniz önemlidir. Çalışma hakkında tam olarak bilgi sahibi olduktan ve sorularınız cevaplandıktan sonra eğer katılmak isterseniz sizden bu formu imzalamanız istenecektir. Çalışmaya 25 hastanın katılması ön görülmektedir. Çalışmaya katılmanızın sizin tedavi sürecinize olumsuz herhangi bir etkisi bulunmamaktadır. Sonuçlar öncelikle bilimsel amaçla kullanılacak, kişisel bilgileriniz gizli tutulacak, sorun saptanması halinde durum size bildirilecek ve alınması gereken önlemler konusunda ayrıntılı bilgilendirme yapılacaktır. Parasal bir bedel ödemenizi gerektirmeyen ve size de bir ödeme yapılması söz konusu olmayan bu çalışmaya katılmama veya katıldıktan sonra çekilme hakkınız bulunmaktadır. Ek bilgi talebiniz olursa sözlü olarak karşılanacaktır.

Araştırmamıza katılmayı kabul ediyorsanız, lütfen aşağıdaki bölüme adınızı-soyadınızı yazıp tarih ve imza atınız. Teşekkür ederiz.

Arş. Gör. Dr. Astan İbayev

SÖZ KONUSU ARAŞTIRMAYA, YUKARIDA BELİRTİLEN KOŞULLAR ÇERÇEVESİNDE HİÇBİR BASKI VE ZORLAMA OLMAKSIZIN KENDİ RIZAMLA KATILMAYI KABUL EDİYORUM.

TARİH

AD-SOYADI

Katılımcı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Görüşme tanığı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Katılımcı ile görüşen hekim

Adı soyadı, unvanı:

Adres:

Tel:

İmza: