

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KERATOKONUSLU GÖZLERDE KORNEA HÜCRE VE SİNİR
YAPISININ *İN VİVO* KONFOKAL MİKROSKOPİ İLE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Gülfidan BİTİRGEN

UZMANLIK TEZİ

KONYA

2013

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KERATOKONUSLU GÖZLERDE KORNEA HÜCRE VE SİNİR
YAPISININ *İN VİVO* KONFOKAL MİKROSKOPİ İLE
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Gülfidan BİTİRGEN

UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı
Prof.Dr. Ahmet ÖZKAĞNICI

KONYA

2013

ÖZET

Amaç: Keratokonus düzensiz miyopik astigmatizma, parasantral korneal incelme ve apikal korneal protrüzyon ile karakterize, ilerleyici, inflamatuvar olmayan bir kornea hastalığıdır. Bu çalışmada keratokonus olgularında korneanın tüm tabakalarının lazer tarayıcı *in vivo* konfokal mikroskopi görüntülerinin kantitatif analizi ve verilerin kontrol grubu ile karşılaştırılması amaçlandı.

Yöntem: Kontakt lens kullanım öyküsü olmayan, korneada skar bulunmayan 78 keratokonus olgusu ve yaş uyumlu 36 kontrol olgusu biyomikroskopik muayene, kornea topografisi ve lazer tarayıcı *in vivo* konfokal mikroskopi ile değerlendirildi. Analizler için gözlerden biri rastgele seçildi. Ön ve arka stromal keratosit, endotel hücresi ve bazal epitel hücre dansiteleri ile subbazal sinir lifi yapısı incelendi.

Bulgular: Keratokonus grubunda konfokal mikroskopide genişlemiş bazal epitel hücreleri, subbazal ve stromal sinir liflerinde yapısal değişiklikler, keratositlerde ve keratosit nükleuslarında yapısal anormallikler, endotel hücrelerinde pleomorfizm ve genişleme tespit edildi. Bazal epitel hücre dansitesi keratokonus grubunda 4802 ± 508 hücre/mm², kontrol grubunda 5817 ± 306 hücre/mm², ön stromal keratosit dansitesi keratokonus grubunda 555 ± 115 hücre/mm², kontrol grubunda 800 ± 111 hücre/mm², arka stromal keratosit dansitesi keratokonus grubunda 270 ± 47 hücre/mm², kontrol grubunda 333 ± 34 hücre/mm², endotel hücre dansitesi keratokonus grubunda 2686 ± 265 hücre/mm², kontrol grubunda 2875 ± 223 hücre/mm², subbazal sinir lifi dansitesi keratokonus grubunda 18.1 ± 9.2 sinir lifi/mm², kontrol grubunda 31.2 ± 8.4 sinir lifi/mm², subbazal sinir lifi uzunluğu keratokonus grubunda 16.1 ± 5.1 mm/mm², kontrol grubunda 21.4 ± 3.4 mm/mm², subbazal sinir dalı dansitesi medyan değerleri keratokonus grubunda 25.0 (1. çeyreklik 6.2 – 3. çeyreklik 45.3) sinir dalı/mm², kontrol grubunda 50.0 (1. çeyreklik 31.2 – 3. çeyreklik 68.7) sinir dalı/mm² olup tüm parametrelerde aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.001$).

Sonuç: *In vivo* konfokal mikroskopi ile keratokonuslu gözlerin tüm kornea tabakalarında önemli yapısal anormallikler tespit edildi. Bu invaziv olmayan *in vivo* teknik, keratokonustaki yapısal değişikliklerin patofizyolojisine yeni bir bakış açısı sunmaktadır.

Anahtar kelimeler: Keratokonus; *in vivo* konfokal mikroskopi; epitel; keratosit; sinir lifleri

ABSTRACT

Purpose: Keratoconus is a progressive, non-inflammatory corneal disorder that is characterized by irregular myopic astigmatism, paracentral stromal thinning and apical corneal protrusion. The purpose of this study was to quantitatively analyse laser scanning *in vivo* confocal microscopy images of all corneal layers in patients with keratoconus and compare the results with those of control subjects.

Methods: Unscarred corneas of 78 keratoconic patients without a history of contact lens use and 36 age-matched control subjects were evaluated with slit lamp examination, corneal topography and laser scanning *in vivo* confocal microscopy. One eye was randomly chosen for analysis. Anterior and posterior stromal keratocyte, endothelial cell and basal epithelial cell densities and sub-basal nerve structure were evaluated.

Results: In the keratoconus group, *in vivo* confocal microscopy findings included enlarged basal epithelial cells; structural changes in sub-basal and stromal nerve fibers; structurally abnormal stromal keratocytes and keratocyte nuclei; and pleomorphism and enlargement of endothelial cells. Compared with corneas of control subjects, patients with keratoconus had a significantly lower basal epithelial cell density (5817 ± 306 cells/mm² vs. 4802 ± 508 cells/mm², $p < 0.001$), lower anterior stromal keratocyte density (800 ± 111 cells/mm² vs. 555 ± 115 cells/mm², $p < 0.001$), lower posterior stromal keratocyte density (333 ± 34 cells/mm² vs. 270 ± 47 cells/mm², $p < 0.001$), lower endothelial cell density (2875 ± 223 cells/mm² vs. 2686 ± 265 cells/mm², $p < 0.001$), lower sub-basal nerve fiber density (31.2 ± 8.4 nerves/mm² vs. 18.1 ± 9.2 nerves/mm², $p < 0.001$), lower sub-basal nerve fiber length (21.4 ± 3.4 mm/mm² vs. 16.1 ± 5.1 mm/mm², $p < 0.001$), lower sub-basal nerve branch density (median 50.0 (first quartile 31.2 - third quartile 68.7) nerve branches/mm² vs. median 25.0 (first quartile 6.2 - third quartile 45.3) nerve branches/mm², $p < 0.001$).

Conclusion: Significant microstructural abnormalities were identified in all corneal layers in eyes with keratoconus by using *in vivo* confocal microscopy. This non-invasive *in vivo* technique offers a potential insight into the pathophysiology of the microstructural changes in keratoconus.

Key words: Keratoconus; *in vivo* confocal microscopy; epithelium; keratocyte; nerve fibers

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Kornea	2
2.1.1. Korneanın Anatomisi ve Fizyolojisi	2
2.1.1.1. Kornea Epiteli	2
2.1.1.2. Bowman Tabakası	3
2.1.1.3. Stroma	3
2.1.1.4. Descemet Membranı	4
2.1.1.5. Endotel	4
2.1.2. Korneanın Fonksiyonları	4
2.1.2.1. Refraksiyon	4
2.1.2.2. Dehidratasyon	5
2.1.2.3. Bariyer Fonksiyonu	5
2.1.2.4. Prekorneal Gözyaşı Film Tabakası	5
2.2. Keratokonus	6
2.2.1. Tanım	6
2.2.2. Epidemiyoloji	6
2.2.3. Etiyoloji ve Patogenez	6
2.2.3.1. Genetik	7
2.2.3.2. Biyokimyasal Faktörler	7
2.2.3.3. Biyomekanik Faktörler	8

2.2.3.4. İlişkili Hastalıklar	8
2.2.4. Histopatoloji	8
2.2.5. Klinik Özellikler	9
2.2.6. Sınıflandırma	9
2.2.6.1. Morfolojiye Göre Sınıflandırma	9
2.2.6.2. Keratometriye Göre Sınıflandırma	10
2.2.6.3. Oküler Bulgular ve Topografi Verilerine Göre Sınıflandırma	10
2.2.7. Ayırıcı Tanı	12
2.2.7.1. Pellusid Marjinal Dejenerasyon	12
2.2.7.2. Keratoglobus	12
2.2.7.3. İyatrojenik Keratektazi	12
2.2.7.4. Posterior Keratokonus	13
2.2.7.5. Psödokeratokonus	13
2.2.8. Tedavi	13
2.3. Konfokal Mikroskopi	14
2.3.1. Genel Bilgiler	14
2.3.2. Normal Korneanın Konfokal Mikroskopik Analizi	15
2.3.3. Keratokonusta Konfokal Mikroskopik Bulgular	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
4. BULGULAR	27
5. TARTIŞMA	34
6. SONUÇ	39
7. KAYNAKLAR	40

TABLolar

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1. Keratokonus hastalığında etkilenmiş gen lokusları.	7
Tablo 2. Keratokonus alt grupları ve kontrol grubu arasında topografik verilerin karşılaştırılması.	28
Tablo 3. Keratokonus ve kontrol grubunda subepitelyal sinir lifi parametrelerinin karşılaştırılması.	30
Tablo 4. Keratokonus ve kontrol grubunda <i>in vivo</i> konfokal mikroskopi ile elde edilen kantitatif parametreler.	32
Tablo 5. Kornea stromasında bulanıklık ve reflektivite artışı düzeylerinin evrelendirilmesi.	33
Tablo 6. Keratokonuslu kornealarda konfokal mikroskopi ile yapılmış çalışma sonuçlarının karşılaştırılması.	38

ŞEKİLLER

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. A. Yüzeyel epitel hücreleri.	16
B. Kanat hücreleri.	16
Şekil 2 A. Bazal epitel hücreleri.	17
B. Bowman tabakası ve sinir lifleri.	17
Şekil 3 A. Ön stromal keratositler.	18
B. Mid-stromal keratositler.	18
C. Arka stromal keratositler.	18
D. Stromal sinir lifi.	18
Şekil 4 A. Descemet membranı.	19
B. Endotel hücreleri.	19
Şekil 5. Keratokonusta düzensiz yerleşimli ve elongasyona uğramış yüzey epitel hücreleri.	20
Şekil 6. Keratokonusta koninin apeksine doğru morfolojisi bozulan bazal epitel hücreleri.	20
Şekil 7. Keratokonusta bozulmuş sinir morfolojisini gösteren kesit.	21
Şekil 8. Keratokonusta arka stromada hiporeflektif strialar.	21
Şekil 9. Keratokonusta anormal keratosit morfolojisi ile birlikte stromada lakunaları gösteren kesit.	22
Şekil 10. Keratokonusta Descemet membranında foldlar.	22
Şekil 11. Keratokonusta endotel hücrelerinde pleomorfizm ve polimegetizm.	23
Şekil 12. Bazal epitel hücreleri arasında hiperreflektif depozitler.	29
Şekil 13 A. Keratokonusta stromal sinir lifinde kalınlaşma.	30
B. Subepitelyal sinir lifi dansitesinde azalma ve sinir lifinde kalınlaşma.	30
Şekil 14. Keratokonusta stromada arkaplan reflektivitesinde artış ve keratosit nükleuslarında düzensizlikler.	32

KISALTMALAR

ANOVA	Analysis of variance
CCD	Charge-coupled device
DALK	Derin anterior lameller keratoplasti
GK	Görme keskinliği
HRT	Heidelberg retina tomograph
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule-1
IL-1	İnterlökin-1
Km	Ortalama keratometri değeri
μm	Mikrometre
PAS	Periodic acid shiff
PMMA	Polimetil metakrilat
RCM	Rostock corneal module
SKK	Santral kornea kalınlığı
SPSS	Statistical package for social science
VCAM-1	Vascular cell adhesion molecule-1

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Keratokonus irregüler astigmatizma, parasantral stromal incelme ve apikal protrüzyon ile karakterize ilerleyici, inflamatuvar olmayan bir kornea etkazisidir. Genel popülasyonda insidansı yaklaşık 5-23/10,000'dir (1). Patogeneizde genel olarak kabul gören teori bazal epitel hücrelerinin dejenerasyonudur. Primer patolojik değişiklik santral korneadaki bazal epitel hücrelerinin endoplazmik retikulumunda meydana gelen organel disorganizasyonudur. Bazal epitel hücreleri dejenere olunca hücre duvarı parçalanır ve açığa çıkan proteolitik enzimler bazal membranın lif yapısına hasar verir. Daha sonra proteolitik enzimler Bowman tabakasına ulaşır ve bu tabakada parçalanma başlar. Süreç devam ederse proteolitik enzimler derin stroma tabakalarını ve Descemet membranını etkileyebilir. Kollajen liflerin kaybından dolayı santral kornea incelir ve öne doğru protrüzyon gelişir (2). Histopatolojik incelemelerde de bu teoriyi destekleyecek şekilde Bowman tabakasında fragmentasyon, stroma ve epitelde incelme, Descemet membranında katlantılar ve çatlaklar ile değişen miktarlarda diffüz skarlaşma izlenir (3). Kornea protrüzyonu yüksek miyopi ve irregüler astigmatizmaya ve sonuçta ilerleyici görme azalmasına yol açar (4). Sert gaz geçirgen kontakt lensler ile keratokonuslu çoğu hastada görsel rehabilitasyon elde edilebilirken, bazı ilerlemiş olgularda penetran keratoplasti uygulanması gerekmektedir (5).

Konvansiyonel biyomikroskopik muayenede çözünürlük ancak 20 μm 'dir. Bu durumda büyütmenin artırılması görüntünün daha da bulanık bir hal almasına yol açar. Ayrıca korneanın hemen tamamen saydam bir doku oluşu ve korneaya düşen ışığın ancak % 1'inin yansıtılması da gözlemleri güçleştiren bir husustur (6).

Kornea ve hastalıklarının değerlendirilmesinde son 20 yıl içinde kullanıma giren konfokal mikroskopi, kornea dokusunun *in vivo* olarak hücresel düzeyde incelenmesine imkan veren önemli bir teknolojik gelişmedir. Bu cihazlarda aydınlatma ve gözlem sistemleri tek bir noktaya odaklanmaktadır. Bu şekilde çözünürlük çok artmakta ve korneanın 400-600 defa büyütülerek incelenmesi mümkün olmaktadır. Cihaz 670 nm dalga boylu diod lazer ışığı kullanır, oküler dokulara herhangi bir zarar verici etkisi yoktur. Konfokal mikroskopi ile koronal kesitler alarak kornea epiteli, Bowman tabakası, stroma, keratositler, sinirler ve kornea endoteli 1-2 μm çözünürlükte incelenebilir (7).

Bu çalışmada *in vivo* korneal konfokal mikroskopi cihazı kullanılarak keratokonuslu gözlerde kornea hücre ve sinir yapılarının değerlendirilmesi ve sonuçların normal olgularla kıyaslanması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kornea

2.1.1. Korneanın Anatomisi ve Fizyolojisi

Kornea göz küresinin ön 1/6'sını oluşturan saydam, avasküler bir dokudur. Erişkinde ortalama çapı horizontal meridyende 11.7 mm, vertikal meridyende 10.6 mm'dir. Kalınlığı santralde ortalama 0.52 mm, periferde ortalama 0.7 mm'dir. Kornea santralinin ortalama eğrilik yarıçapı 7.8 mm'dir. Normal bir insan gözünde toplam 58.6 diyoptri (D) olan kırma gücünün % 74'üne (43.25 D) sahiptir. Göze ulaşan ışığın ilk temas ettiği yerin kornea yüzeyi olması nedeniyle yüzeyinin son derece düzgün olması gerekmektedir. Kornea epitelinin en dış kısmındaki mikro düzeydeki düzensizlikler ideal bir optik yüzey oluşturmamaktadır. Kornea yüzeyindeki 7 µm kalınlığındaki gözyaşı tabakası bu düzensizlikleri örttüğü için korneanın iyi bir optik yüzey oluşturmasında son derece önemli rol oynamaktadır. Korneaya ulaşan ışık stromanın da düzenli yapısı nedeniyle dağılmadan korneayı geçerek retinaya doğru odaklanır (8).

Korneanın beslenmesi, hümeör aközden difüzyona uğrayan glikoz ve gözyaşı film tabakası boyunca difüzyona uğrayan oksijen yoluyla olmaktadır. Ek olarak kornea periferi limbus dolaşımından sağlanan oksijeni de kullanır (9).

Kornea insan vücudunda en çok sinir sonlanmasına sahip olan yapılardan biridir ve kornea duyarlılığı konjonktivadan 100 kat daha fazladır. Duyusal sinir lifleri uzun silyer sinirlerden gelerek subepitelyal pleksusu oluştururlar. Asetilkolin, katekolaminler, substans P, kalsitonin gen bağımlı peptid, nöropeptid Y, intestinal polipeptid, galanin ve metiyonin-enkefalin korneadaki nörotransmitterlerdir (9).

Kornea histolojik olarak önden arkaya doğru epitel, Bowman tabakası, stroma, Descemet membranı ve endotel olarak adlandırılan beş tabakadan oluşmaktadır.

2.1.1.1. Kornea Epiteli

Kornea epiteli, nonkeratinize çok katlı yassı epitelden oluşur ve 50-90 µm kalınlıktadır. En dışta 2-3 sıra halinde yassı, horizontal nükleuslu ve zonula okludenslerle birbirine bağlı yüzey hücreleri bulunur. Yüzeydeki epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar gözyaşı sıvısının stromaya penetrasyonunu engeller. En dıştaki hücrelerin yüzeyi mikrovillus ve mikropililerle genişlemiştir ve müsin absorpsiyonunu kolaylaştırarak korneanın ıslanmasına yardım eder. Yüzey hücrelerinin yaşam süreleri birkaç gündür ve daha sonra gözyaşına dökülürler (10).

Yüzey hücrelerinin altında 2 veya 3 tabakadan oluşan poligonal kanat hücreleri yer alır. Bu hücreler birbirlerine desmozom ve maküla okludenslerle bağlıdırlar. En içte ise ince bir bazal membran üzerine oturmuş tek sıra halinde silindirik bazal epitel hücreleri yer alır. Perilimbal bazal epitel hücreleri (limbal kök hücreleri) çoğalarak periferden merkeze doğru göç eden ve bazal epitelden kanat hücrelerine ve yüzey epiteline farklılaşan hücreleri oluştururlar. Bu farklılaşma işlemi 7-14 günde tamamlanır. Bazal epitel hücreleri devamlı olarak tip 4 kollajen, laminin ve diğer proteinlerden oluşan, 50 nm kalınlıkta bazal membran sekresyonu yapar (11).

Kornea epiteli tabakasında epitel olmayan hücreler de yer almaktadır. Histiyoitler, makrofajlar, lenfositler ve melanositler periferik korneanın sık görülen elemanlarıdır. Antijen sunan Langerhans hücreleri periferde bulunur ve yaşla birlikte veya inflamasyona cevap olarak merkeze doğru hareket ederler (10).

2.1.1.2. Bowman Tabakası

Kornea ön stromasının modifikasyonu ile oluşan 8-14 µm kalınlıkta asellüler bir tabakadır. Epitelin bazal membranı bu tabakaya düzensiz filamanlar ile sıkıca tutunur. Bu tabakanın hasardan sonra onarıma kapasitesi yoktur ve skar dokusu gelişir. Epiteldeki patolojilerin stromaya geçişini engelleyen önemli bir bariyerdir (8).

2.1.1.3. Stroma

Stroma, toplam kornea kalınlığının %90'ını oluşturur. Kollajen üreten keratositlerden, ara maddeden ve kolajen lamellerinden oluşmaktadır. Kollajen fibriller stromanın ön 1/3'lük kısmında oblik yerleşen lameller ve arka 2/3'lük kısmında paralel lameller oluştururlar. Kornea kollajen fibrilleri korneanın tüm çapı boyunca yer alır ve sonunda limbusta çevresel olarak uzanır. Stromada özellikle tip 1, 3, 5, ve 6 kollajen fibrilleri yer alır. Keratan sülfat ve dermatan sülfat stromanın temel proteoglikanlarıdır ve yapısal olarak fibroblastlara benzeyen keratositler tarafından sentezlenirler. Kornea, stromal hacmin %5'ini oluşturan yaklaşık 2-4 milyon keratosit içerir ve keratosit yoğunluğu önden arkaya doğru giderek azalır (12).

Lens kristallerinin analogu olan çeşitli proteinler korneanın optik özelliklerinin kontrol edilmesinde rol oynar. Ekstrasellüler matrikse gömülü kollajen fibrillerin kafes şeklindeki dizilimi ve stromanın % 78 oranındaki su içeriği kornea saydamlığını sağlayan faktörlerdir. Kollajen fibrillerin düzenli dizilimi yıkıcı interferans oluşturarak ışık saçılımını azaltır. Işık saçılımı önde daha fazladır, bu da epitelde 1.401 olan ve arkaya doğru giderek azalan yüksek refraktif indekse neden olur. Bu refraktif indeks stromada 1.380, daha arkada ise 1.373'tür. Kafes şeklindeki elemanların boyutları görülebilen ışığın dalga boyundan küçük olduğu için kornea saydamdır (9,13).

2.1.1.4. Descemet Membranı

Kornea endotelinin bazal laminası olan Descemet membranı histolojik incelemelerde periodic-acid-shiff (PAS) boyası ile boyanır. Gerçek bir bazal membrandır ve kalınlığı yaşla artar. Doğumda 3-4 µm kalınlıkta iken erişkinde 10-12 µm kalınlığa ulaşır. Embriyonel hayatta gelişen ön bantlı bölge ile hayat boyu endotel tarafından sentezlenen arka bantsız bölgeden oluşur. Diğer bazal laminalar gibi Descemet membranı da tip 4 kollajenden zengindir. Descemet membranında görülen periferik birikimler Hassal-Henle cisimcikleri olarak bilinir ve özellikle yaşlılarda sıktır (10).

2.1.1.5. Endotel

Endotel, çoğunluğu hegzagonal şekilli olan, sıkı parmaklı uzantılara sahip hücrelerin tek sıra halinde mozaik paternde dizilmesi ile meydana gelir. Bu hücrelerin apikal yüzleri ön kamaraya bakarken bazal yüzleri Descemet membranına bitişiktir. Yaklaşık 3000 hücre/mm² yoğunluğu ile 500,000 hücreden oluşur ve sayıları yaşla birlikte azalır. İnsan endotel hücreleri *in vivo* olarak çoğalmaz fakat hücre kültürlerinde bölünebilirler. Özellikle travma veya cerrahiye bağlı olarak oluşan hücre kaybı, komşu hücrelerin defektif bölgeyi kapatmak için genişlemesine ve hücrelerin bu bölgeye doğru göçüne neden olur. Hücre sayısı endotel yüzeyi boyunca da değişiklik gösterir, normalde sayı kornea periferinde en fazladır. Tipik olarak genç endotel hücreleri geniş nükleusa ve bol mitokondriye sahiptir. Bu hücrelerce iyonların aktif transportu, stromadan suyun geçişini ve normal stromal kalınlığın ve saydamlığın devamını sağlar (14,15).

2.1.2. Korneanın Fonksiyonları

2.1.2.1. Refraksiyon

Kornea göze gelen ışığın kırılmasından sorumlu esas yapıdır. Gözün toplam kırıcılığının % 74'ünü kornea sağlar. Korneanın optik özelliklerini belirleyen ana faktörler korneanın şekli ve refraktif indeksi, kornea saydamlığı ve yüzey düzgünlüğüdür.

a) Korneanın şekli ve refraktif indeksi: Korneanın refraktif indeksi 1.376'dır. Kırma gücü, eğrilik yarıçapına, hava ve aköz hümör ile arasındaki refraktif indeks farkına bağlıdır. Korneanın kırma gücü ön yüzeyde +48.0 D, arka yüzeyde -5.0 D olmak üzere toplam +43.0 D'dir. Kornea ön yüzü periferde doğru gittikçe düzleşir, santral korneada 3-4 mm'lik bölge sferiktir. Yetişkinlerde santralde kornea ön yüzeyinin eğrilik yarıçapı 6.8-7.8 mm, arka yüzeyinin eğrilik yarıçapı 6.5-7.0 mm'dir (16).

b) Kornea saydamlığı: Kornea saydamlığını belirleyen esas faktör stromal kollajen fibrillerin düzenidir. Fibrozis ya da ödem gibi kollajen fibrillerin yerleşim düzenini değiştiren durumlar hem kornea saydamlığını bozar hem de gelen ışığın rastgele saçılmasına yol açar. Kornea, dalga boyları 310-2500 nm arasında olan ışınları geçirir (16,17).

c) Yüzey düzgünlüğü: Kornea epiteli ve gözyaşı film tabakası kornea yüzeyinin düzgünlüğünü sağlar. Kuru göz, skar dokusu, geçirilmiş refraktif cerrahi ve keratokonus gibi durumlar kornea yüzeyini değiştirerek optik düzensizliklere yol açar (16,18).

2.1.2.2. Dehidratasyon

Korneanın su içeriği % 75-80 oranındadır. Korneanın hidrasyonu büyük oranda sağlam bir epitel, sağlam endotelyal bariyerler ve endotelin pompa fonksiyonu tarafından kontrol edilir. Endoteldeki pompa fonksiyonu ısıya bağımlı $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPaz enzimi ile kontrol edilen iyon transport sistemine bağlıdır. Endotel bütünlüğü ya da pompa fonksiyonu bozulduğunda stromadaki su içeriği artmaya başlar (13).

2.1.2.3. Bariyer Fonksiyonu

Kornea epiteli ve endoteli lipofilik yapıda olduğu için hidrofilik yapıdaki maddelere karşı bariyer görevi görürler. Stroma ise içerdiği proteoglikanlar nedeniyle hidrofilik yapıdadır ve lipofilik maddelerin geçişini zorlaştırır (19).

2.1.2.4. Prekorneal Gözyaşı Film Tabakası

Korneanın dış yüzeyi 3 tabakadan oluşan 7 μm kalınlığındaki prekorneal gözyaşı film tabakası ile kaplanmıştır. En dışta yer alan lipid tabaka Meibomian ve Zeiss bezlerinden salgılanır, gözyaşının aköz tabakasının buharlaşmasını geciktirir ve kornea yüzeyinin kayganlığını arttırarak göz küresi üzerinde hareket eden kapakların sürtünmesinden kaynaklanabilecek tahrişi önler. Ortadaki aköz tabaka lakrimal bez, Wolfring ve Krause bezlerinden salgılanır ve gözyaşı kalınlığının en büyük kısmını oluşturur. İçerdiği sodyum, potasyum ve klor iyonlarının sağladığı osmotik basınç kornea epiteli ile gözyaşı arasındaki sıvı alışverişini düzenler. Bikarbonat iyonları gözyaşı pH'sının ayarlanmasında etkilidir. Gözyaşındaki immünglobülinler, lizozim ve laktoferrinin önemli antimikrobiyal etkileri vardır. En içte yer alan müsin tabakası ise Goblet hücreleri tarafından salgılanır, aköz ve lipid tabakaların kornea yüzeyindeki stabilizasyonunu sağlar (20).

2.2. Keratokonus

2.2.1. Tanım

Keratokonus terimi, Yunanca *kerato* (kornea) ve *konos* (koni) kelimelerinden türemiştir ve hastalığın detaylı olarak tanımı ilk defa 1854'te Nottingham tarafından yapılmıştır (21). Keratokonus, korneanın en sık görülen primer ektazik hastalığıdır. Lokalize korneal incelme ve incelmış korneanın protrüzyonu ile karakterize olup, sıklıkla bilateral ve asimetrik seyir gösterir (22,23). Korneal incelme genellikle korneanın alt yarısında veya merkezinde görülmekle birlikte üst yarıda yerleşimli olgular da tanımlanmıştır (24-26). Kornea protrüzyonu yüksek miyopi ve irregüler astigmatizmaya yol açar. Hastalık sıklıkla yaşamın ikinci dekadında ortaya çıkar, dördüncü dekada kadar progresyon gösterir ve daha sonra stabil hale gelir (4). Puberteden önce veya yaşamın daha geç dönemlerinde ortaya çıkan olgular da bildirilmiştir (1,27). Tek taraflı keratokonus olgularında normal olan diğer gözlerin % 50'sinde 16 yıl içinde keratokonus gelişir ve diğer gözde keratokonus gelişim riski ilk 6 yılda en fazladır (28).

2.2.2. Epidemiyoloji

Genel populasyonda keratokonus hastalığının insidansı 5-23/10,000 ve prevalansı 5.4/10,000 olarak tahmin edilmektedir (1,4,29).

Hastalık her iki cinsiyeti de etkilemektedir ancak kadın ve erkek cinsiyet arasında anlamlı fark olup olmadığı açık değildir. Her iki cinsiyet arasında prevalans farkı olmadığını belirten çalışmaların (4,28) yanısıra; kadınlarda prevalansın daha yüksek olduğunu belirten (29) ve erkeklerde prevalansın daha yüksek olduğunu belirten çalışmalar da vardır (30,31).

Keratokonus hastalığının tüm ırkları etkileyebildiği bilinmektedir (1,31). Bir çalışmada sarı ırkta beyaz ırka kıyasla prevalansın 4:1, insidansın 4.4:1 oranında olduğu bildirilmiştir (32). Başka bir çalışmada insidansın sarı ırkta beyaz ırka kıyasla 7.5 kat daha fazla olduğu bildirilmiş ve bu farklılık sarı ırkta akraba evliliğinin daha yaygın olmasına bağlanmıştır (33).

2.2.3. Etiyoloji ve Patogenez

Keratokonusun etiyoloji ve patogenezini, son yıllarda giderek yoğunlaşan araştırmalara rağmen halen tam aydınlatılabilmemiş değildir. Genetik ve biyokimyasal mekanizmalara yönelik çeşitli hipotezler ileri sürülmüştür. Ayrıca diğer hastalıkların keratokonusla ilişkileri de araştırılmaktadır.

2.2.3.1. Genetik

Korneal topografi tekniklerinin yaygınlaşmasından önce yapılan çalışmalarda keratokonus olgularının % 6-8'inin yakın akrabalarında da keratokonus olduğu belirtilmiştir (34). Ancak korneal topografi ile yapılan çalışmalarda keratokonuslu olgularda % 50'ye varan oranlarda en az bir yakın akrabanın etkilenmiş olduğu gösterilmiştir (35). Bir çalışmada keratokonuslu olguların akrabalarında keratokonus riskinin normal popülasyona göre 15-67 kat arttığı bildirilmektedir (36). Kalıtım şeklinin inkomplet penetrans ile otozomal dominant olduğu öne sürülmektedir (35,37).

Keratokonuslu ailelerde etkilenmiş gen lokusunu belirlemeye yönelik yapılan kromozom analizlerinde hastalığa karşı genetik yatkınlık olduğu bulunmuş ve farklı çalışmalarda çok sayıda gen lokusu tanımlanmıştır (Tablo 1), (38-45).

Tablo 1. Keratokonus hastalığında etkilenmiş gen lokusları.

Araştırmacı	Gen lokusu
Fullerton J ve ark. (38)	20q-12
Tyynismaa H ve ark. (39)	16q22.3-q23.1
Hughes AE ve ark. (40)	15q22.33-24.2
Brancati F ve ark. (41)	3p14-q13
Hutchings H ve ark. (42)	2p24
Tang YG ve ark. (43)	5q14.3-q21.1
Li X ve ark. (44)	9q
Bisceglia L ve ark. (45)	5q21.2

2.2.3.2. Biyokimyasal Faktörler

Korneanın yapısal komponentlerinin kaybı sonucunda korneal incelme geliştiği hipotezini destekleyen çeşitli biyokimyasal teoriler öne sürülmüştür. Proteazların ve diğer katabolik enzim düzeylerinin artışına, ya da α -2 makroglobülin ve α -1 antiproteaz gibi proteinaz inhibitör düzeylerinin azalmasına bağlı gelişen artmış proteolitik enzim aktivitesinin kornea stromasında dejenerasyona yol açtığı bildirilmiştir (46,47).

Keratokonuslu korneaların keratositlerinde normal olgulara kıyasla interlökin-1 reseptör sayısının 4 kat arttığı gösterilmiştir (48). İnterlökin-1'in, keratosit çoğalması, farklılaşması ve ölümünde düzenleyici rolü olması nedeniyle keratokonusta stromal keratosit kaybının artmış apoptotik hücre ölümüne bağlı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca epitelyal mikrotravma ile interlökin-1 salınımının artması ve dolayısıyla keratokonusun göz kaşıma,

kontakt lens ve atopi ile olan ilişkisi bu teoriyi desteklemektedir (49). Kontakt lens kullanan keratokonus olgularında normal miyopik olgulara kıyasla proinflamatuvar ajanların (interlökin-6, ICAM-1 ve VCAM-1) ekspresyonu 2-40 kat artmışken, antiinflamatuvar ajan olan interlökin-10'un ekspresyonu 8 kat azalmıştır (50). Bu durum, kontakt lens kullanımının ektazi gelişiminde prekürsör olabileceği teorisini desteklemektedir. Keratokonusun erken dönemlerinde interlökin-6 ekspresyonunda artış olduğunun gösterilmesi, hastalığın patogenezinde kronik inflamatuvar olayların rol aldığını düşündürmektedir.

2.2.3.3. Biyomekanik Faktörler

Keratokonusta stromal lamellaların sayısının azalması ve dağılımının farklı olması, korneal rijiditenin azalmasına ve korneanın incelmeye yol açmaktadır (51). Keratokonuslu kornealarda aldehid dehidrogenaz ve süperoksit dismutaz enzim seviyeleri azalmıştır. Bu iki enzimin de reaktif oksijen türlerinin hasarına karşı önemli koruyucu etkileri bulunmaktadır. Reaktif oksijen türlerinin artışı malondialdehit ve peroksinitrit gibi sitotoksik ajanların birikimine yol açmakta ve korneal dokularda hasar oluşturmaktadır. Oksidatif hasarı arttıran en önemli faktörler ultraviyole radyasyon, atopi ve kronik göz ovalama veya kontakt lens kullanımına bağlı mekanik travmadır (52). Atopisi olan keratokonus olgularında progresyonun daha hızlı olduğu ve refraktif ve immünolojik komplikasyonlara bağlı keratoplasti ihtiyacının daha erken dönemde ortaya çıktığı gösterilmiştir (53).

2.2.3.4. İlişkili Hastalıklar

Keratokonüs sıklıkla izole bir hastalık olarak gelişir ancak ilişkili olduğu çok sayıda sendrom ve hastalık bildirilmiştir (1). Down sendromu, Turner sendromu, Leber'in konjenital amorozis, Ehlers-Danlos sendromu, osteogenezis imperfekta, mitral valv prolapsusu, mental retardasyon, vernal keratokonjonktivit, aniridi, ektopia lentis ve retinitis pigmentosa keratokonusla birlikteliği bildirilmiş hastalıklardır (54).

2.2.4. Histopatoloji

Keratokonusta görülen karakteristik histopatolojik değişiklikler stromal incelme, Bowman tabakasında fragmantasyon ve epitel bazal tabakasında demir birikimidir (1). Kornea epitelinin bazal hücreleri dejenere olur ve Bowman tabakasına doğru ilerler. Bazal epitel hücre dansitesi de normal kornelara kıyasla azalmıştır (55). Stromada lamella ve keratosit sayılarında azalma, fibroblast yapılarında bozulma, lamellaların diziliminde değişiklikler ortaya çıkar. Konfokal mikroskopi ile yapılan çalışmalarda hastalığın şiddeti ile korele olacak şekilde keratosit sayılarında azalma gösterilmiştir. Descemet membranı, rüptür gelişen olgular haricinde genellikle etkilenmez. Endotel hücrelerinde pleomorfizm ve koninin

apeksi yönünde elongasyon bildirilmiştir. Kornea sinir liflerinde kalınlaşma ve sinir lifi dansitesinde azalma da gösterilmiştir (56,57).

2.2.5. Klinik Özellikler

Keratokonusun oküler semptom ve bulguları hastalığın şiddetine göre değişkenlik gösterir. Subklinik ya da *fruste form* keratokonus olarak adlandırılan erken evrelerde hiçbir semptom olmadığı için spesifik testler yapılmadıkça tanı konulamaz. Hastalık ilerledikçe görme keskinliğinde gözlükle düzeltilemeyen azalma ortaya çıkar. Retinoskopi yapılırken alınan düzensiz “makaslama” refleksi keratokonusun erken dönem bulgusudur. Rizutti işareti temporalden yansıtılan ışık altında nazal korneada konik refle alınmasıdır ve diğer bir erken dönem bulgusudur. İndirekt oftalmoskopide “yağ damlacığı” refleksi (“Charleaux oil droplet” belirtisi) görülür. Munson işareti hasta aşağıya doğru bakarken alt göz kapağının “V” şeklinde deformasyon göstermesidir. Epitelyal hemosiderin depozitleri koninin tabanını çevreler ve Fleischer halkasını oluşturur. Bu halka kahverengi renktedir ve kobalt mavi filtrenin kullanıldığı, oblik ve geniş ışıkta en iyi şekilde görülmektedir. Arka stromada globa basınç uygulandığında kaybolan, çok ince, vertikal stres çizgileri (Vogt striaları) görülür. Bowman tabakasında fokal yırtılmalar ve noktasal skar gelişimi olabilir (3).

Spontan perforasyon oldukça nadirdir. Descemet membranında yırtılma her zaman olabilir ve akut hidrops adı verilen korneada ani gelişen ödeme sebep olur. Allerji ve göz ovuşturma hidrops gelişiminde risk faktörüdür. Descemet membranındaki çatlak, genellikle 6-12 haftada kendiliğinden kapanır ve korneal ödem kaybolur ancak stromal skar kalıcı olabilir. Bazı hastaların görme keskinlikleri, gelişen skarın boyutuna ve lokalizasyonuna bağlı olarak hidropsun gerilemesinin ardından artar (3).

2.2.6. Sınıflandırma

Keratokonus morfolojiye, keratometri değerlerine, oküler bulgular ve topografi parametrelerine göre çeşitli yöntemlerle sınıflandırılabilir.

2.2.6.1. Morfolojiye Göre Sınıflandırma

a) Sivri koni (nipple): Koninin çapı 5 mm ya da daha küçüktür, yuvarlak şekillidir ve apikal merkezi santral veya inferior-nazal kadrana doğru yer değiştirmiştir. Kontakt lenslerle refraktif hata düzeltilebilir.

b) Oval koni: Koninin çapı 5-6 mm'dir, eliptik şekillidir ve apikal merkezi inferior-temporal kadrana doğru yer değiştirmiştir. Kontakt lenslerle refraksiyonun düzeltilmesi daha zordur.

c) Küremsi koni (globus): Koninin çapı 6 mm'den büyüktür, korneanın %75'inden daha fazlasını kaplayabilir. Kontakt lensle düzeltme sınırlı sayıda olgu dışında çok zordur (58).

2.2.6.2. Keratometriye Göre Sınıflandırma

CLEK (Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus) çalışma grubu keratometri tabanlı bir sınıflandırma metodu geliştirmiştir (59).

a) Hafif Keratokonus: Dik keratometri değeri < 45.0 D.

b) Orta Keratokonus: Dik keratometri değeri 45.0-52.0 D.

c) İleri Keratokonus: Dik keratometri değeri > 52.0 D.

2.2.6.3. Oküler Bulgular ve Topografi Verilerine Göre Sınıflandırma

İlk defa Amsler tarafından geliştirilen sınıflandırmada hastalık dört evrede incelenmiştir (60).

Evre 1: Subklinik ya da *fruste form*; korneal topografi ile tanı konur, gözlük düzeltmesi ile 6/6 görme keskinliği (GK) elde edilebilir.

Evre 2: Erken evre; hafif korneal incelme var ancak skar yoktur.

Evre 3: Orta evre; korneal skar ve opasite yoktur, Vogt striaları ve Fleischer halkası görülebilir. 2.00-8.00 D arasında irregüler astigmatizma mevcuttur. Gözlük düzeltmesi ile GK 6/6'ya ulaşmaz ancak kontakt lens düzeltmesi ile ulaşabilir.

Evre 4: İleri evre; topografide korneal dikleşme 55.0 D'nin üzerindedir, Munson belirtisi, korneal skar ve ileri derecede korneal incelme görülür. Kontakt lens düzeltmesi ile GK 6/7.5'in altında kalır.

McMahon ve ark.'nın (61) geliştirdiği evreleme sistemine göre keratokonus şu şekilde sınıflandırılabilir:

Normal:

- Düzenli topografi paterni
- Normal biyomikroskopik muayene
- Gözlükle düzeltilmiş GK \geq 55 harf (LogMar eşeli ile 4 metreden)

Atipik Normal:

- Muayene veya anamnez ile açıklanabilen olağandışı topografi bulguları (kontakt lens warpage sendromu, keratokonusa tipik olmayan korneal skar, refraktif cerrahi öyküsü)
- Gözlükle düzeltilmiş GK normal veya azalmış

Keratokonus Şüphesi:

- Keratokonus için şüpheli topografi (izole dikleşme alanı, santral dikleşme > 48.0 D)
- Normal biyomikroskopik muayene
- Gözlükle düzeltilmiş GK ≥ 55 harf (LogMar eşeli ile 4 metreden)

Hafif Keratokonus:

- Keratokonus ile uyumlu topografi
- Düz keratometri değeri < 51.0 D
- Fleischer halkası veya Vogt striaları var, skar yok
- Gözlükle düzeltilmiş görme keskinliğinde azalma (LogMar eşeli ile 4 metreden < 55 harf)

Orta Keratokonus:

- Keratokonus ile uyumlu topografi
- Düz keratometri değeri $51.25-56.0$ D arasında veya ≥ 8.0 D astigmatizma
- Fleischer halkası veya Vogt striaları var
- Keratokonus ile uyumlu, düzgün sınırlı stromal skar
- Gözlükle düzeltilmiş görme keskinliğinde azalma (LogMar eşeli ile 4 metreden ≤ 45 harf)

İleri Keratokonus:

- Belirgin dikleşme alanları gösteren keratokonus ile uyumlu topografi
- Düz keratometri değeri > 56.01 D
- Fleischer halkası veya Vogt striaları var
- Keratokonus ile uyumlu opak skar
- Gözlükle düzeltilmiş görme keskinliğinde azalma (LogMar eşeli ile 4 metreden < 30 harf)

2.2.7. Ayırıcı Tanı

2.2.7.1. Pellusid Marjinal Dejenerasyon

Pellusid marjinal dejenerasyon nadir görülen, bilateral, ailesel geçişi olmayan bir klinik tablodur. Enflamasyon olmadan pellusid (saydam), alt kadranda, periferik korneal incelmeye görülür. Etiyolojisi bilinmemektedir (3).

İnferiorda korneanın incelendiği bölgedeki bant üzerinden korneal dikleşme gelişir. Keratokonusta korneal dikleşme tam olarak korneanın en incelmış noktasında olurken, pellusid marjinal dejenerasyonda korneal dikleşme en ince noktanın üzerindeki bölgeden olur. Damarlanma ve lipid birikimi olmaz fakat arka stromada incelmış bölgede skar gelişimi bildirilmiştir. Hastalar 20-40 yaşlarında tanı alır, kadın erkek tutulumu eşittir. Görme azalması yüksek düzensiz astigmatizmaya bağlıdır. Pellusid marjinal dejenerasyonun ilerleyerek keratoglobusa dönüşebileceği literatürde bir olguda bildirilmiştir (62).

2.2.7.2. Keratoglobus

Keratoglobus nadir görülen, bilateral, non-inflamatuvar bir klinik tablodur ve doğumdan itibaren görülmesiyle keratokonus ve pellusid marjinal dejenerasyondan ayrılır. Genellikle ailesel geçiş yoktur. Görünüşü keratokonusa benzemekle birlikte korneada koni şeklinde deformasyondan daha çok globüler deformasyon görülür. Histopatolojik olarak Bowman tabakasının yokluğu ya da parçalı oluşu, normal lameller organizasyona sahip incelmış stroma ve ince Descemet membranı gözlenir. Keratokonusun aksine atopi, sert kontakt lens kullanımı ya da tapetoretinal dejenerasyonla ilişkili değildir (3).

Her iki kornea küre şekli alır ve ön kamara çok derinleşmiştir. Keratometri değerleri 50-60 D'ye kadar çıkar ve korneada yaygın incelmeye görülür. İncelme keratokonusun aksine özellikle midperiferdedir, keratokonusta ise en fazla incelmeye korneal dikleşmenin olduğu noktadadır. Spontan Descemet yırtılması ve korneal hidrops gelişebilir ancak demir birikimi, stres çizgileri ve ön stromal skarlaşma görülmez (63).

2.2.7.3. İyatrojenik Keratektazi

İyatrojenik keratektazi, korneal refraktif cerrahi sonrasında gelişen nadir bir korneal ektazik bozukluktur. Korneal dokunun fazla ablasyonundan ayrı olarak, tanı konmamış keratokonusu veya pellusid marjinal dejenerasyonu olan gözler iyatrojenik keratektazinin ana nedenidirler. Bu vakaların çoğunluğunda keratokonus klinik olarak belirgin değildir ancak korneal topografi ilerlemiş keratokonus olgularına benzer değişiklikler gösterir (64).

2.2.7.4. Posterior Keratokonus

Posterior keratokonus genellikle tek taraflı, kornea santralinde yerleşimli, non-inflamatuvar ve sporadik görülen bir klinik tablodur. Bununla birlikte aile vakaları ve binoküler vakalar bildirilmiştir. Sıklıkla tek başına olabildiği gibi glokom, aniridi, iris atrofisi, uvea ektopisi, lens ektopisi, lens opasiteleri, nöral krest anomalileri gibi çeşitli anomalilerle beraber olabilir. Klinik bulguları korneanın arka çöküntüsü ile birlikte lokal veya yaygın kornea incilmesi ile karakterizedir. Santral korneada endotelin önündeki stromada opasiteler eşlik edebilir (65).

2.2.7.5. Psödokeratokonus

Özellikle uzun süreli sert kontakt lens kullanan hastalarda tipik topografi paterni, lensin altında göreceli bir düzleşme ve lensin oturma yerinin dışındaki korneada göreceli bir dikleşmedir. Üstte duran lens kullanan hastalarda keratokonusu andıran bir topografik patern elde edilebilir. Keratokonusun diğer bulgularının olmadığı, kornea incelmesinin bulunmadığı kontakt lens kullanan hastalarda keratokonusu düşündüren topografik patern varsa, bu durum psödokeratokonus (korneal warpage sendromu) olarak adlandırılır (66).

2.2.8. Tedavi

Keratokonusun erken evrelerinde refraktif kusurun düzeltilmesi için gözlük veya yumuşak kontakt lensler genellikle yeterlidir. Rijid gaz geçirgen sert kontakt lensler, daha yüksek dereceli irregüler astigmatizmada düzenli bir kırıcı yüzey oluşturmak amacıyla gereklidir ve erken-orta evre keratokonusunda en sık kullanılan ve en başarılı tedavi seçeneğini oluşturmaktadır (5).

Penetran keratoplasti veya derin anterior lameller keratoplasti (DALK), çok ilerlemiş olgularda gerekli olabilir. Keratokonus hastalarının penetran keratoplasti gereksinimini arttıran risk faktörleri arasında korneal skarlaşma, kontakt lens ile düzeltilmiş görme keskinliğinin $< 6/12$ olması, keratometri değerinin > 55.0 D olması, korneal astigmatizmanın > 10 D olması, keratokonus başlangıç yaşının erken olması ve kontakt lens toleransının kötü olması sayılabilir (67). Geçirilmiş hidrops, Descemet membranı bütünlüğünün bozulduğunu gösterir ve DALK için bir kontrendikasyondur. Olguların % 90 kadarında saydam bir greft elde edilse de, rezidüel astigmatizma veya anizometri nedeniyle optik sonuçlar yetersiz olabilir ve en iyi görme keskinliğinin elde edilebilmesi için kontakt lens ile düzeltme gerekebilir (54).

Intrakorneal halka segmenti (Intacs) implantasyonu, başlangıçta düşük dereceli miyopinin tedavisi için geliştirilmiş daha sonra keratokonusa adapte edilmiş bir yöntemdir

(68). Mekanik olarak veya lazer yardımıyla stroma içerisinde bir veya iki adet kanal oluşturulur ve polimetil metakrilat (PMMA) halka segmentleri stroma içine implante edilerek korneanın anormal şeklinin düzeltilmesi amaçlanır. Görme keskinliğinde en azından orta dereceli bir artış sağlar ve ilerlemiş olgularda kontakt lens toleransını kolaylaştırır (69).

Korneal kollajen çapraz bağlama (cross linking), korneal rijiditenin ve biyomekanik stabilitenin artırılmasını amaçlayan bir tedavi yöntemidir. Korneanın riboflavin damla kullanılarak fotosensitize edilmesi sonrası ultraviyole ışığa maruz bırakılması ile gerçekleşir. Ultraviyole A (370 nm), riboflavini aktive ederek serbest oksijen radikalleri oluşumunu uyarır ve bu radikaller kollajen fibriller arasında kovalent bağ oluşumunu sağlar. Kornea kalınlığı 400 μm 'den düşük olan olgular bu işlem için uygun değildir. Korneal kollajen çapraz bağlama yapılmış hastalarla ilgili uzun dönem çalışmalarda en iyi düzeltilmiş görme keskinliğinin arttığı, keratometrik değerlerde düzleşme olduğu ve koni progresyonunda anlamlı gerileme kaydedildiği bildirilmiştir (70,71).

2.3. Konfokal Mikroskop

2.3.1. Genel Bilgiler

Kornea ve hastalıklarının değerlendirilmesinde son 20 yıl içinde konfokal mikroskopinin önemi giderek artmaktadır. Korneanın muayenesinde kullanılan ışıklı biyomikroskop 40x büyütme sağlamakta, ancak düşük bir çözünürlükte dokunun incelenmesine olanak vermektedir. Biyomikroskopik muayene ile hücresel düzeyde ayrıntılı bir muayene yapılamamasının temel nedeni muayene yapılan düzlemin üzerinde ve altında yer alan oluşumlardan yansıyan ışığa bağlı girişim (interferans) ve bunun sonucunda çözünürlüğün azalmasıdır (6,72).

Konvansiyonel biyomikroskopik muayenede çözünürlük ancak 20 μm 'dir. Bu durumda büyütmenin artırılması görüntünün daha da bulanık bir hal almasına yol açar. Ayrıca korneanın hemen tamamen saydam bir doku oluşu ve korneaya düşen ışığın ancak %1'inin yansıtılması da gözlemleri güçleştiren bir husustur (6).

Konfokal mikroskop konusunda en önemli gelişme 1988 yılında Minsky tarafından konfokal mikroskopinin ilkelerinin tanımlanmasıyla ortaya çıkmıştır (73). Bu tanımlamaya göre konfokal mikroskopide aydınlatma (kondansör) ve gözlem (objektif) sistemleri tek bir noktaya (konfokal) odaklanmaktadır. Bu şekilde odak dışı bilgi ortadan kaldırılarak mikroskopinin lateral (x-y) ve aksiyel (z) çözünürlüğü önemli derecede artırılmaktadır. Konvansiyonel konfokal mikroskopide lateral çözünürlük 1-2 μm , aksiyel çözünürlük 5-10 μm düzeyindedir, bu da 600 kata kadar büyütme sağlanması anlamına gelir. Başlangıçta gözün ön segment yapılarının incelenmesi için dönen bir Nipkow diskini veya ardışık (tandem)

yarıklı tarayıcı sistemleri kapsayan konfokal mikroskoplar kullanılmıştır. Bu konfokal tarama sistemleri çok sınırlı bir görüntüleme alanına sahiptir. Bu nedenle fokal noktayı incelenecek doku üzerinde süratle hareket ettirmek ve gerçek zamanlı bir görüntü elde etmek için görüntüyü yeniden oluşturmak gerekmektedir. Yarıklı tarayıcı konfokal mikroskoplarda saniyede 25 kare çeken bir video kamera senkronize edilerek hareketten etkilenmeyen net görüntüler elde edilmektedir. Ancak bu sistemlerde çözünürlük kaybı yine de önemli bir sorun olarak dikkati çekmektedir. Konvansiyonel konfokal mikroskopide karşılaşılan bu sorunlar hızlı lazer tarayıcı sistemleri kullanan konfokal mikroskoplarda (Rostock Cornea Module/Heidelberg Retina Tomograph 3[®]; RCM/HRT 3) ortadan kaldırılmıştır (6).

Ticari olarak kullanılan konfokal mikroskoplar içinde özellikle üç tanesi önem taşımaktadır: orijinaline benzeyen Tandem tarayıcı konfokal mikroskop (Advanced Scanning, New Orleans, LA, USA), Confoscan 4.0[®] (Nidek Technologies, Vigonza, Italy) ve RCM/HRT 3[®] (Heidelberg Engineering GmbH, Dossenheim, Germany).

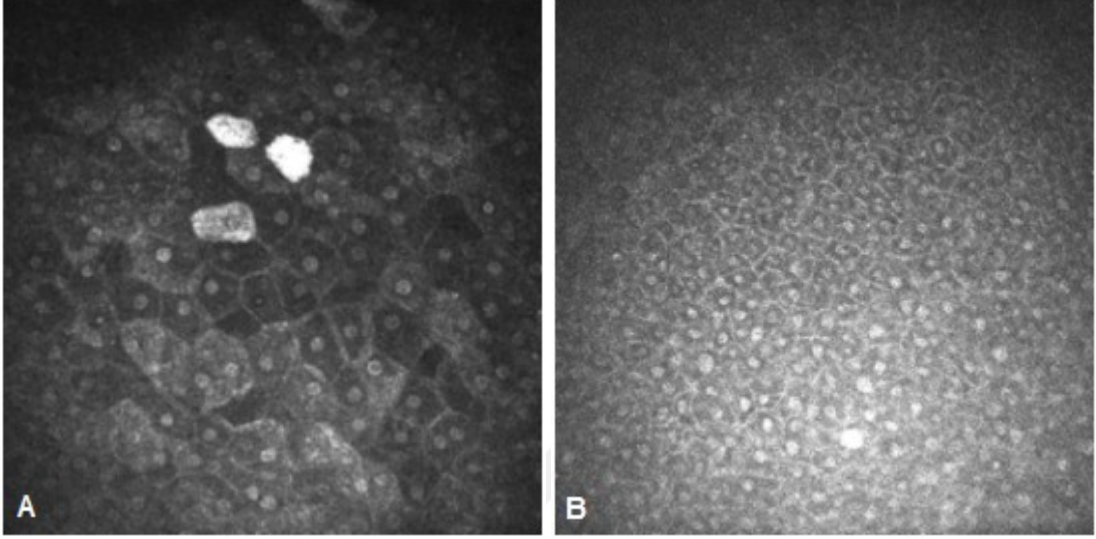
RCM/HRT 3, göz ve cihaz arasına yerleştirilen yüksek kaliteli bir mikroskop vasıtasıyla 1 μm 'den daha küçük çapta lazer odağı oluşturmaktadır. Böylece korneanın *in vivo* olarak yüksek çözünürlükte değerlendirilmesi mümkün olmaktadır. Korneadaki alt yapılar, epitel hücreleri, sinir lifleri, keratositler, endotel ve hatta dendritiform hücreler hızla ve güvenilir bir şekilde incelenebilmektedir (7).

Rostock kornea modülü Almanya'nın Rostock Üniversitesi'nde geliştirilmiştir. HRT 3-Rostock Kornea Modülü, 670 nm dalga boylu diod lazer ışığı kullanır. Sistemde klasik olarak 63x objektif lensi kullanılır ve 400 μm x 400 μm boyutlarında görüntü elde edilir. Optik rezolüsyon vertikalde 2 μm , horizontalde 4 μm olup dijital rezolüsyon vertikal ve horizontalde 1 $\mu\text{m}/\text{pixel}$ 'dir. Alınan görüntülerin düzenlenmesi cihaza bağlı bir CCD (charge-coupled device) kamera (640x480 pixel) ile sağlanır. Mükemmel görüntü çözünürlüğü ve kolay kullanımı ile HRT 3-Rostock Kornea Modülü sadece korneanın değil limbus, konjonktiva ve sklera gibi çevre dokuların da incelenmesine olanak sağlamaktadır (74).

2.3.2. Normal Korneanın Konfokal Mikroskopik Analizi

Konfokal mikroskopide kornea epitel tabakası yaklaşık olarak 50 μm çapta yüzeyel hücreler, 20 μm çapta ara hücreler (kanat hücreleri) ve 10 μm çapta bazal hücrelerden oluşmaktadır. Yüzeyel epitel hücreleri hiperreflektif nükleusa sahip, hücre sınırları parlak, poligonal şekilli olarak görülürler (Şekil 1 A). Yüzeyel epitel hücreleri arasında dökülmekte olan hücreler parlak sitoplazmalıdır, çekirdekleri piknotiktir ve parlaktır, çekirdeklerin etrafında koyu bir boşluk bulunmaktadır. Korneanın histolojik olarak ara hücrelerden oluşan tabakası, devamlılık gösteren poligonal, kanat şeklindeki hücreleriyle dikkat çeker. Konfokal

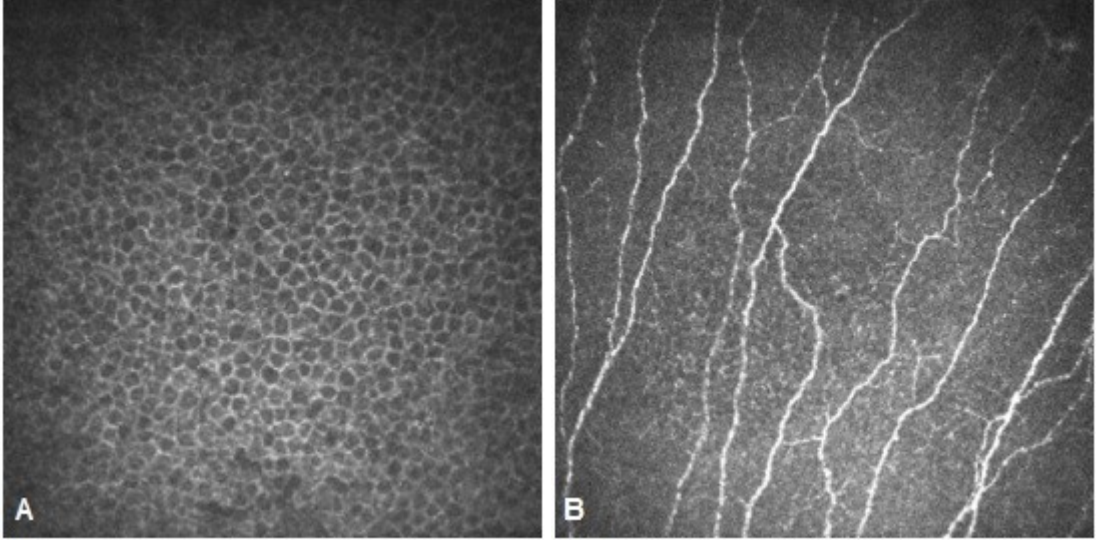
mikroskopide bu hücreler 20 μm çaptadır ve parlak hücre sınırları ve koyu hücre sitoplazmaları ile ayırdedilir (Şekil 1 B). Sağlıklı bireylerde kanat hücreleri büyüklükleri ve görünüşleri açısından önemli değişiklik göstermez (7).



Şekil 1 A. Yüzeyel epitel hücreleri. **B.** Kanat hücreleri.

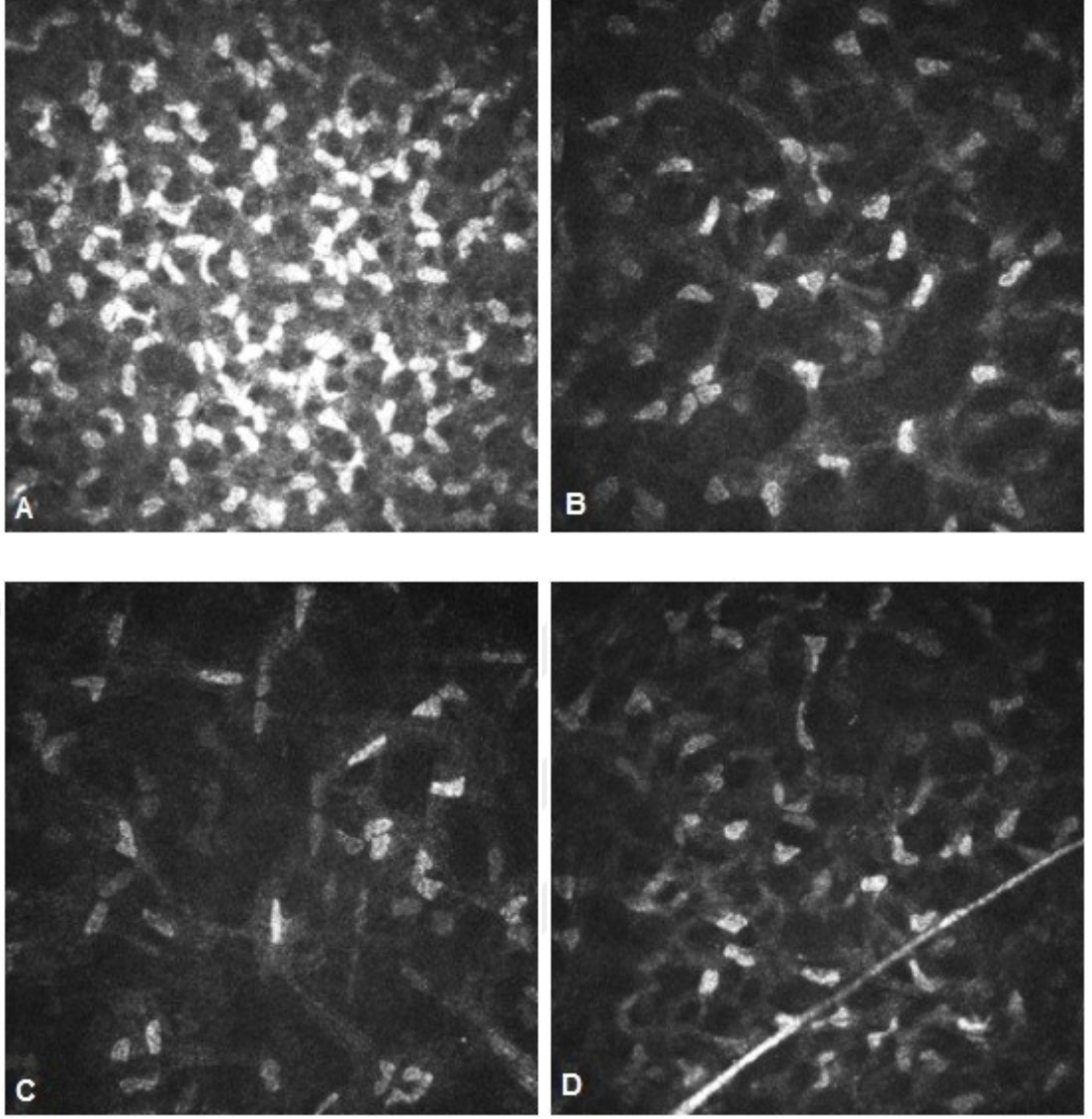
Histolojik olarak bazal membran üzerine oturan tek tabakalı küboid hücrelerden oluşan bazal epitel tabakası konfokal mikroskopide Bowman tabakasının hemen üzerinde yer almaktadır. Bazal epitel hücrelerinin sınırları parlak olup nükleus reflektivitesi görülmez (Şekil 2 A). Harrison ve ark. (75), çalışmalarında ortalama bazal epitel hücre dansitesini 5274 ± 575 hücre/ mm^2 , ortalama hücre alanını 192 ± 19.6 μm^2 olarak bildirmişlerdir. Bazal epitel hücreleri hem şekilleri hem de büyüklükleri bakımından minimal değişkenlik gösterir. Konfokal mikroskopide bazal membranı ancak epitelyal bazal membran distrofisinde olduğu gibi aşırı derecede kalınlaştığı takdirde görmek mümkün olur (76).

Bowman tabakası asellüler, hiperreflektif bir yapıdadır ve içerisinde subepitelyal sinir pleksusu görüntülenebilir (Şekil 2 B). Normal korneada epitel ya da Bowman tabakasında damarlar yoktur (72).



Şekil 2 A. Bazal epitel hücreleri. **B.** Bowman tabakası ve sinir lifleri.

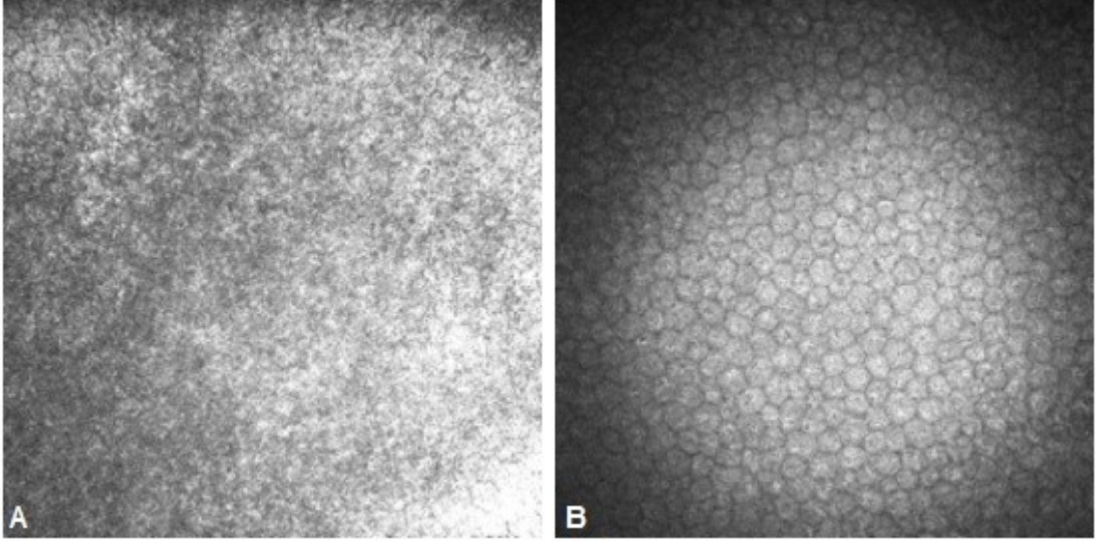
Konfokal mikroskopide normal kornea stromasında hiperreflektif keratosit çekirdekleri karanlık bir zemin üzerinde dağınık olarak görülür. Keratositlerin sitoplazmaları ve yaptıkları kollajen lifleri kolaylıkla ayırmak mümkün olmamaktadır. Keratositler yıldız şeklindedir ve morfolojik ve fonksiyonel birleştirmeyi oluşturmak için biri diğerine uzun sitoplazmik uzantılarla temas halindedir. Keratositler Bowman tabakasının hemen altında sayıca yoğun olduğu halde merkezi kornea ve arka stromada sayıca önemli derecede azalmaktadır (Şekil 3 A-C). Keratosit yoğunluğu stromanın ön % 10'unda en yüksek düzeydedir. Ortalama ön stromal keratosit dansitesi 1058 ± 217 hücre/ mm^2 , arka stromal keratosit dansitesi 771 ± 135 hücre/ mm^2 'dir. Sinir lifleri ön stromada görülebilir ve subepitelyal düzeydekenden daha kalındırlar (Şekil 3 D). Normal korneada stromada damarlar yoktur (77,78).



Şekil 3 A. Ön stromal keratositler. **B.** Mid-stromal keratositler. **C.** Arka stromal keratositler. **D.** Stromal sinir lifi.

Descemet membranı da Bowman tabakası gibi asellülerdir ve orta düzeyde reflektivite gösterir (Şekil 4 A). Bowman tabakasından farklı olarak, sinir lifi içermez. Normal kornealarda net olarak görüntülenmesi kolay değildir (72).

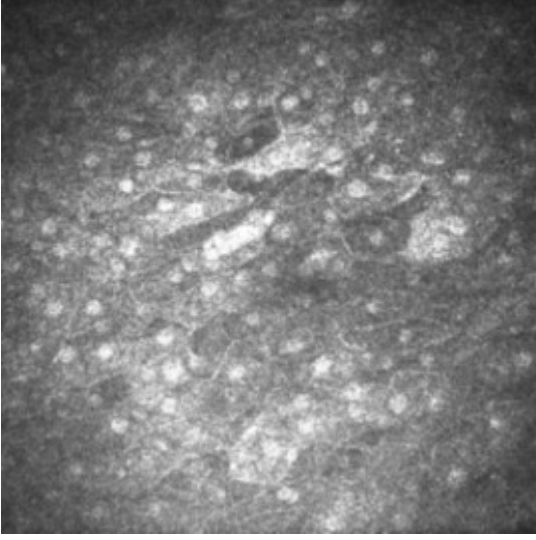
Descemet membranının hemen arkasında düzenli hegzagonal, hiporeflektif sınırlarla çevrili hiperreflektif hücreler şeklinde endotel hücreleri görülür (Şekil 4 B). Nükleus reflektivitesi göstermezler. Bu tabakada damar ya da sinir yapısı izlenmez (79). Yaş ile endotel hücre sayısı arasında negatif korelasyon bulunur. Yaş ortalamaları 41 yıl olan 120 sağlıklı olgunun araştırıldığı bir çalışmada ortalama endotel sayısı 3061 ± 382 hücre/mm² olarak bildirilmiş ve her iki cinsiyet arasında anlamlı fark izlenmediği belirtilmiştir (80).



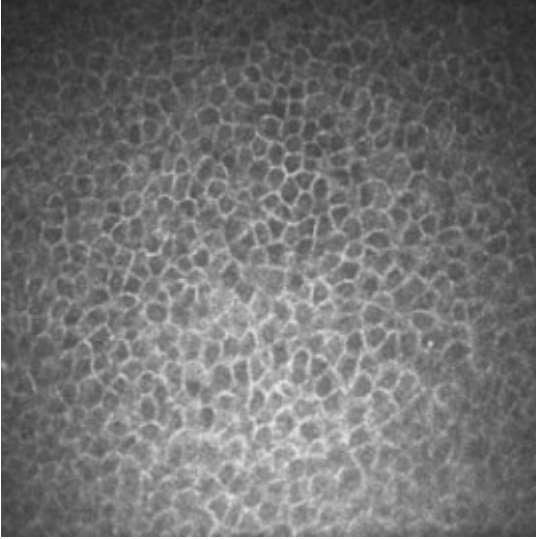
Şekil 4 A. Descemet membranı. **B.** Endotel hücreleri.

2.3.3. Keratokonusta Konfokal Mikroskopik Bulgular

Keratokonusta morfolojik değişiklikler genellikle koninin apeks bölgesinde oluşur. Uzamış yüzeysel epitel hücreleri, hiperreflektif depozitler, Bowman membranı kenarında fold benzeri yapılar, ön stromada hiperreflektivite ve Vogt strialarının görünümü tipiktir. Korneanın tutulmamış zonu incelendiğinde tüm kornea tabakalarının morfolojik görünümü normal olabilir. Ama ektazik kornea bölgesinde tipik mikroskopik değişiklikler görülür. Epitelyal tabaka farklı anomaliler gösterir. Düzenli poligonol yüzey epiteli yerine yüzeysel epitel hücreleri distorsiyona uğramış ve oblik yönde uzanmışlardır (Şekil 5). Hücre kenarları normal epiteldeki gibi tam olarak belirgin değildir (81). Bazal epitel hücreleri düzensizlik ve distorsiyonlar gösterir. Ortalama bazal epitel hücre çapı artmış, hücre sayısı azalmıştır (82), (Şekil 6). Bir çalışmada ise ortalama bazal epitel hücre çapının normal kornealara kıyasla daha az, hücre sayısının daha fazla olduğu bildirilmiştir (83).

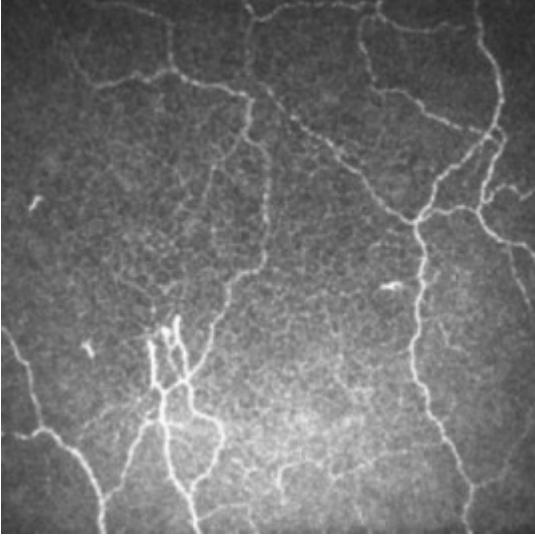


Şekil 5. Keratokonusta düzensiz yerleşimli ve elongasyona uğramış yüzey epitel hücreleri.



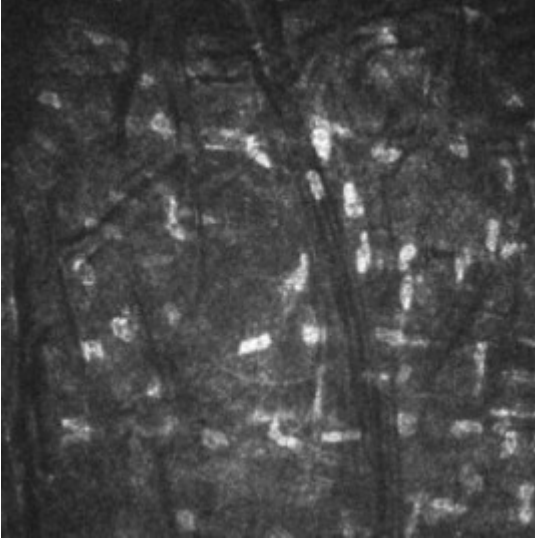
Şekil 6. Keratokonusta koninin apeksine doğru morfolojisi bozulan bazal epitel hücreleri (sağ alt köşeye dikkat ediniz).

Bowman membranının fokal yırtıkları hiperreflektif subepitelyal skarlar veya yüzeyel stromal opasiteler olarak görülebilir. Skar dokusu bazal membrandan doğrudan doğruya altındaki stromaya uzanır. Subepitelyal sinir dansitesi normal kornealara kıyasla azalmış, sinir kıvrımlanması artmıştır. Aniden sonlanan ya da kapalı halkalar oluşturan sinir lifleri izlenebilir (84), (Şekil 7).

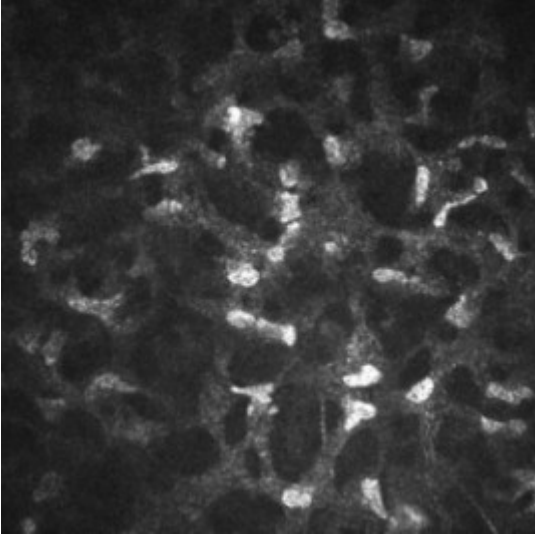


Şekil 7. Keratokonusta bozulmuş sinir morfolojisini gösteren kesit.

Ön stromanın reflektivitesi artmıştır. Arka stromada Vogt çizgileri ile uyumlu mikrostrialar görülür. Bunlar stromanın artmış reflektivitesine karşın çok sayıda, ince, hiporeflektif çizgilerdir (Şekil 8). Keratokonusta bulunan bir diğer mikroskopik özellik ön ve orta stromada küçük lakünaların varlığıdır. Bunlar ekstrasellüler konnektif doku içinde hiporeflektif, kistik yapılardır (Şekil 9). İleri evre keratokonuslu olgularda keratositlerde anormal morfoloji, nükleus şeklinde değişiklikler ve ön ve arka stroma keratosit dansitelerinde belirgin azalma saptanmıştır (81).

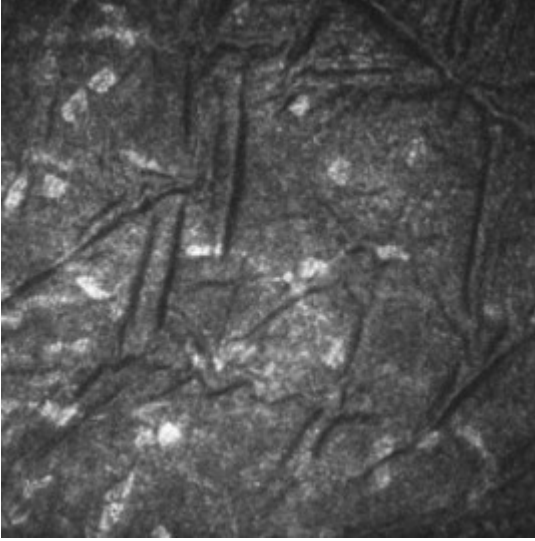


Şekil 8. Keratokonusta arka stromada hiporeflektif strialar.



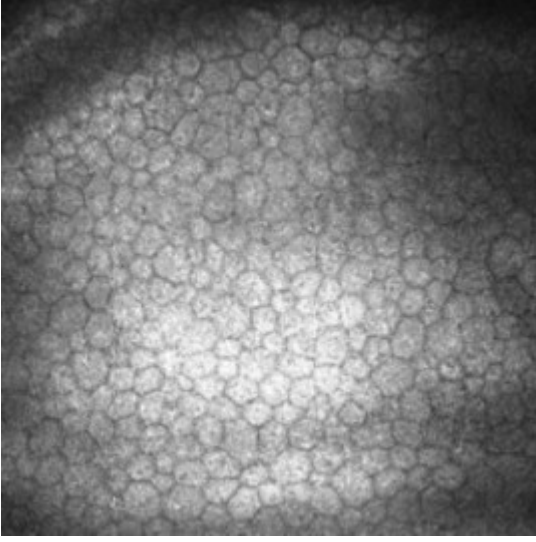
Şekil 9. Keratokonusta anormal keratosit morfolojisi ile birlikte stromada lakunaları gösteren kesit.

Descemet membranında belirgin değişiklik olmayabileceği gibi, ileri keratokonusta santralde Descemet membranı dekolmanı ve Descemet foldları bildirilmiştir (82), (Şekil 10).



Şekil 10. Keratokonusta Descemet membranında foldlar.

Endotel hücrelerinde elongasyon, pleomorfizm ve polimegatizm izlenebilir (Şekil 11). Literatürde endotel hücre sayısının arttığını (85), azaldığını (83) ve değişmediğini (55) bildiren çalışmalar bulunmaktadır.



Şekil 11. Keratokonusta endotel hücrelerinde pleomorfizm ve polimegatism.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada keratokonuslu kornealarda oluşan morfolojik değişiklikleri saptamak amacıyla Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Kornea Birimi'nde keratokonus tanısı almış 78 olgu incelemeye alındı. Çalışmaya başlamadan önce her olgudan bilgilendirilmiş onam formu alındı ve Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'ndan (24.02.2011 tarih, 2011/058 sayı) etik kurul onamı alındı. Oküler travma ve geçirilmiş cerrahi öyküsü olan, eşlik eden kornea patolojisi ya da korneal skar bulunan ve kontakt lens kullanan olgular çalışma dışı bırakıldı.

Olgulara retinoskopi, biyomikroskopi, ve bilgisayarlı kornea topografisi ölçümlerini de içeren tam oftalmolojik muayene yapıldı. Retinoskopide makaslama refleksi varlığı, biyomikroskopi muayenesinde santral veya parasantral incelleme, apikal protrüzyon, Fleischer halkası, Vogt striaları ile birlikte bilgisayarlı kornea topografisinde santral veya parasantral dikleşmenin varlığı ile keratokonuslu gözlerin teşhisi yapıldı. Bilateral keratokonus olgularında rastgele seçilen bir göz değerlendirmeye alındı. Bilgisayarlı kornea topografisi ölçümleri Pentacam® (Oculus Optikgerate GmbH, Wetzlar, Germany) cihazı kullanılarak yapıldı. Keratometri değerlerine göre sınıflandırma Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus (CLEK) çalışma grubunun tanımladığı sisteme göre yapıldı (59). Bu sistemde keratokonus şiddeti dik olan kornea meridyeninin kurvatürüne göre şu şekilde sınıflandırılmaktadır: hafif: <45.0 D; orta: 45.0-52.0 D; ileri: >52.0 D.

Kontrol grubu herhangi bir göz hastalığı öyküsü olmayan, kontakt lens kullanmayan, görme keskinliği tam ve oftalmolojik muayene bulguları normal olan 36 sağlıklı olgu ile oluşturuldu.

İn vivo konfokal mikroskopi Rostock Kornea Modülü/Heidelberg Retina Tomografisi 3 (Heidelberg Engineering GmbH, Dossenheim, Germany) cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Bu cihaz 670 nm dalga boylu diod lazer (1. sınıf lazer) ışığı kullanır, oküler dokulara herhangi bir zarar verici etkisi yoktur. Ancak yine de üreticiler her bir muayeneyi maksimum 3000 sn (50 dk) maruziyet süresi ile sınırlandırmışlardır. Sistemde klasik olarak 63x/0.95 NA objektif lensi (Zeiss, Oberkochen, Germany) kullanılır ve 400 µm x 400 µm boyutlarında görüntü elde edilir. Optik rezolüsyon vertikalde 2 µm, horizontalde 4 µm olup dijital rezolüsyon vertikal ve horizontalde 1 µm/pixel'dir. Alınan görüntülerin düzenlenmesi cihaza bağlı bir CCD (charge-coupled device) kamera (640x480 pixel) ile sağlanır.

Ölçüm öncesi göze bir damla topikal anestezik (%0.5 proparacaine HCl; Alcaine®; Alcon Laboratories, Fort Worth, TX, USA) damlatıldı. Konfokal mikroskopun objektifi göze

temas edeceği için olgu önceden uyarıldı. Objektif lensinin üzerine her olguda değiştirilen steril PMMA başlık (Tomocap®; Heidelberg Engineering GmbH, Dossenheim, Germany) takıldı. Başlığın üzeri geniş bir tabaka halinde jel (Viscotears®; Carbomer 980, 0.2%; Novartis, North Ryde, Australia) ile kaplandı. Olgunun başı cihaza yerleştirildikten sonra objektif joystick yardımıyla santral korneaya yaklaştırıldı. Korneanın ve objektifin pozisyonu CCD kamera monitöründen izlenerek çekime başlandı. Yüzey epiteli monitörde görüldükten sonra objektif lensi manüel olarak odaklanarak endotele kadar ulaşıldı ve korneanın tüm tabakalarına ait görüntüler kaydedildi.

Görüntü analizi için her bir tabakada netliği en iyi olan iki görüntü seçildi. Her bir görüntünün merkezinde sabit bir alan (bazal epitel hücreleri ve endotel için 200x200 µm, keratositler için 300x300 µm) işaretlenerek bu alan içindeki bazal epitel hücreleri, keratositler ve endotel hücrelerinin sayımı gerçekleştirildi. Keratosit sayımı için Bowman tabakasından hemen sonraki kesit (ön stroma) ve Descemet membranı ve endotelden hemen önceki kesit (arka stroma) seçildi. İşaretlenen alan tarafından bölünmüş olan hücrelerden sadece üst ve sol yarıdakiler sayıldı. Hata payını en aza indirmek için aynı plandaki iki ayrı görüntü alanında sayım yapıldı ve ortalaması alındı. Cihazda hazır bulunan program kullanılarak hücre dansitelerine ulaşıldı. Sinir liflerinin analizi için Automatic CCMetrics software, v 1.0 programı (University of Manchester, UK) kullanıldı (86). Bu programda her bir olgu için görüntü netliği en iyi olan ve en fazla sinir lifi kesiti içeren görüntü tam boyutta (400x400 µm) analiz edilerek sinir lifi dansitesi (major sinir liflerinin sayısı/mm²), sinir lifi uzunluğu (tüm sinir liflerinin ve dallarının uzunluğu toplamı-mm/mm²) ve sinir dalı dansitesi (major sinir liflerinden köken alan dalların sayısı/mm²) parametrelerine ulaşıldı. Tüm görüntü analizleri aynı araştırmacı (GB) tarafından yapıldı.

Verilerin istatistiksel analizi, elektronik ortamda SPSS paket programı (SPSS for Windows, version 17.0, SPSS, Chicago, IL, USA) kullanılarak gerçekleştirildi. Verilerin özetlenmesinde Frekans (Sayı), Yüzde (%), Aritmetik Ortalama±Standart Sapma, Medyan kullanıldı. Kategorik verilerin dağılımının karşılaştırılması Ki-kare (χ^2) testi ile yapıldı. Sürekli sayısal verilerin normal dağılım uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ve Değişim Katsayısı birlikte değerlendirilerek saptandı. Verilerin hasta-kontrol grupları yönünden karşılaştırılmasında normal dağılıma uyan verilerde Bağımsız Gruplarda Student-t testi, normal dağılıma uymayan verilerde ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. Hastaların evrelerine göre gruplandırılması ile elde edilen üç grubun karşılaştırılmasında, normal dağılıma uyan verilerde Tek-Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ve bu testin ikincil testi olarak Tukey-HSD testi, normal dağılıma uymayan verilerde ise Kruskal-Wallis testi ve bu testin ikincil testi olarak Bonferroni-düzeltilmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı. Tüm analizlerde,

$p < 0.05$ (Bonferroni düzeltmesinde $p < 0.017$) olduğunda aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu kabul edildi.



4. BULGULAR

Keratokonus olgularının yaş ortalaması 25.7 ± 5.4 yıl (18-41 yıl), sağlıklı olgulardan oluşan kontrol grubunun yaş ortalaması 27.3 ± 4.3 yıl (18-37 yıl) olup her iki grubun yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ($p > 0.05$). Keratokonus grubundaki 78 olgu (46 K, 32 E) ile kontrol grubundaki 36 olgu (17 K, 19 E) cinsiyet açısından karşılaştırıldığında da anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0.05$).

Keratokonus grubundaki olgulardan 46'sında (% 58.9) allerjik hastalık öyküsü bulunmaktaydı. Biyomikroskopik muayenede 15 olguda (% 19.2) Vogt striaları, 28 olguda (% 35.9) Fleischer halkası tespit edildi. Santral kornea kalınlığı (SKK) ve konfokal mikroskopik analizde kantitatif değerlendirilen tüm parametreler göz önüne alındığında allerji öyküsü bulunan ve bulunmayan olgular arasında hiçbir parametrenin anlamlı farklılık göstermediği tespit edildi. Vogt striaları bulunan ve bulunmayan olgular arasında da parametrelerin hiçbirinde anlamlı farklılık saptanmadı. Fleischer halkası tespit edilen gözlerde ise SKK ve arka stromal keratosit dansitesinin Fleischer halkası olmayan olgulara kıyasla anlamlı olarak azalmış olduğu görüldü ($p < 0.05$).

Topografik inceleme sonucunda CLEK çalışma grubunun tanımladığı sisteme göre keratokonus grubundaki olgulardan 9'u (% 11.6) hafif, 37'si (% 47.4) orta, 32'si (% 41.0) ileri keratokonus olarak sınıflandırıldı. Ortalama SKK, keratokonus grubunda 456 ± 49 μm (330-591 μm), kontrol grubunda 548 ± 38 μm (477-659 μm) olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.001$). Keratokonus olguları kendi içinde incelendiğinde ortalama SKK hafif keratokonus grubunda 522 ± 33 μm (484-591 μm), orta keratokonus grubunda 469 ± 34 μm (382-540 μm) ve ileri keratokonus grubunda 423 ± 44 μm (330-515 μm) olup alt gruplardaki farklılıklar da istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$). Kornea apeksinin ortalama keratometri değeri (Km) keratokonus grubunda 49.5 ± 4.9 D (42.7-64.2 D), kontrol grubunda 42.6 ± 1.5 D (38.8-45.9 D) olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.001$). Keratokonus olguları incelendiğinde ortalama Km hafif keratokonus grubunda 43.2 ± 0.4 D (42.7-44.1 D), orta keratokonus grubunda 47.1 ± 1.6 D (44.0-50.4 D) ve ileri keratokonus grubunda 53.9 ± 4.1 D (48.5-64.2 D) olup alt gruplardaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$). Topografi ile ölçülen korneal astigmatizma değerleri keratokonus grubunda 0.7-14.2 D arasında değişmekte (medyan 4.0 D) ve kontrol grubunda 0.4-2.9 D arasında değişmekte (medyan 0.9 D) olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.001$). Keratokonus olguları incelendiğinde medyan korneal astigmatizma değerleri hafif keratokonus grubunda 2.0 D, orta keratokonus grubunda 4.0 D ve ileri keratokonus grubunda 4.9 D olup alt gruplardaki farklılıklar orta-ileri keratokonus alt grupları arasındaki fark ($p = 0.023$) haricinde istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.017$), (Tablo 2).

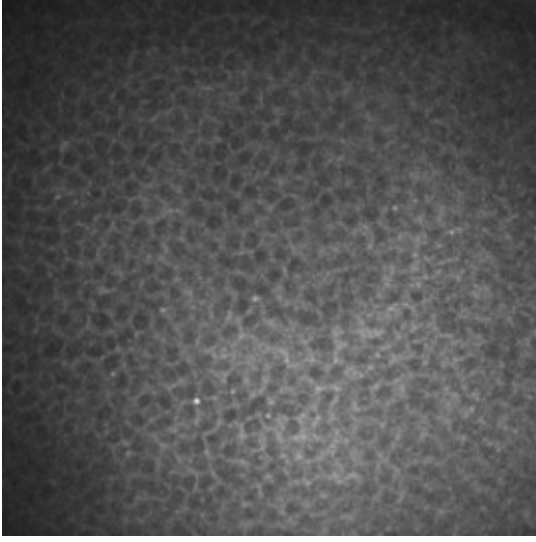
Snellen eşeli ile en iyi düzeltilmiş görme keskinliği medyan değerleri 1. grupta 0.5, 2. grupta 1.0 iken; 1. grubun alt grupları incelendiğinde hafif keratokonus grubunda 0.9, orta keratokonus grubunda 0.6, ileri keratokonus grubunda 0.4 olarak saptandı. Tüm gruplar ve alt gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0.017$).

Tablo 2. Keratokonus alt grupları ve kontrol grubu arasında topografik verilerin karşılaştırılması.

Parametre	Keratokonus (n=78)			Kontrol (n=36)	p değeri*
	Hafif (n=9)	Orta (n=37)	İleri (n=32)		
SKK (μm) ort. \pm SD	522 \pm 33	469 \pm 34	423 \pm 44	548 \pm 38	<0.001
Km (D) ort. \pm SD	43.2 \pm 0.4	47.1 \pm 1.6	53.9 \pm 4.1	42.6 \pm 1.5	<0.001
Korneal astigm. (D) medyan (1.-3. çeyreklik)	2.0 (1.4-3.6)	4.0 (2.6-4.9)	4.9 (3.3-6.6)	0.9 (0.7-1.1)	<0.001

SKK: Santral kornea kalınlığı, Km: Ortalama keratometri değeri, SD: Standart deviasyon *Keratokonus ve kontrol grupları arasındaki karşılaştırmayı göstermektedir.

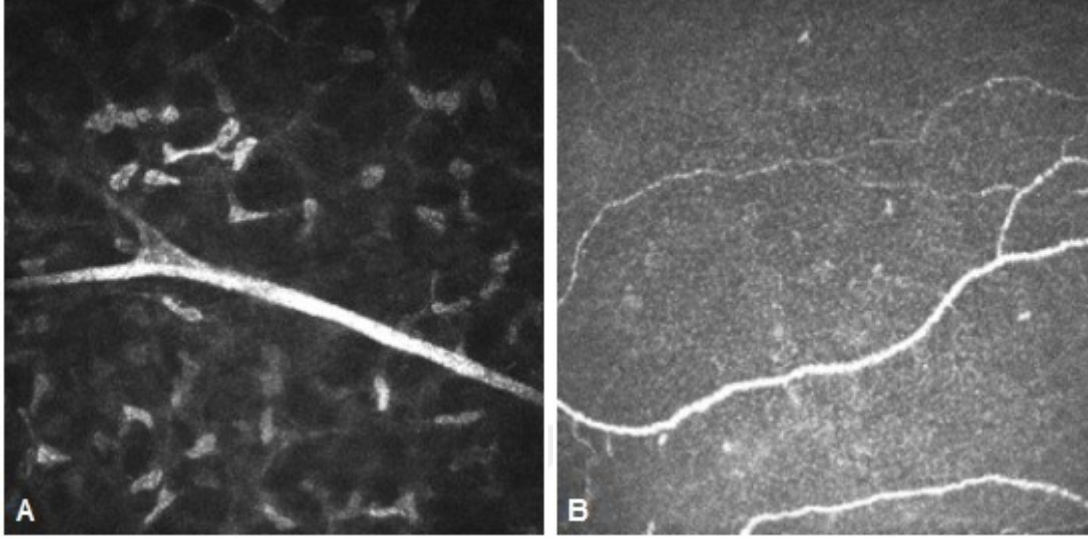
Bazal epitel hücreleri nükleus reflektivitesi göstermeyen, parlak sınırlara sahip, hiporeflektif hücreler olarak izlendi. Keratokonus olgularında şekil ve büyüklük yönünden kontrol grubuna kıyasla daha fazla değişkenlik gösterdikleri görüldü. Keratokonus grubunda ortalama bazal epitel hücre dansitesi 4802 \pm 508 hücre/mm², kontrol grubunda ise 5817 \pm 306 hücre/mm² olarak hesaplandı. Bazal epitel hücre dansitesinin keratokonus olgularında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmış olduğu görüldü ($p<0.001$). Keratokonus grubunda alt grup analizi yapıldığında ortalama bazal epitel hücre dansitesi hafif keratokonus grubunda 5399 \pm 541 hücre/mm², orta keratokonus grubunda 4862 \pm 460 hücre/mm² ve ileri keratokonus grubunda 4563 \pm 391 hücre/mm² olduğu görüldü ve alt gruplar birbirleri ile karşılaştırıldığında keratokonusun evresi ile korele olarak bazal epitel hücre dansitesinin azaldığı görüldü. Biyomikroskopik muayenede Fleischer halkası tespit edilen 28 olgunun 5'inde (%17.9) konfokal mikroskopide bazal epitel hücreleri arasında parlak reflektif materyal birikimi gözlemlendi (Şekil 12). Bu materyalin Fleischer halkası ile uyumlu hemosiderin depozitleri olduğu düşünüldü.



Şekil 12. Bazal epitel hücreleri arasında hiperreflektif depozitler.

Bowman tabakası asellüler, amorf bir membran olarak izlendi ve bu seviyede subepitelyal sinir pleksusları görüntülendi. Kalitatif incelemede keratokonus grubunda stromal sinir liflerinin kalınlıkları artmış, subepitelyal sinir liflerinin kalınlıkları ve tortuositeleri artmış ve dansiteleri azalmış olarak izlendi (Şekil 13 A ve B). Ayrıca keratokonus olgularında oblik seyirli, aniden sonlanan veya kapalı halkalar oluşturan sinir lifleri olduğu görüldü. Ortalama sinir lifi dansitesi (sinir lifi sayısı/mm²) keratokonus ve kontrol grubunda sırasıyla 18.1±9.2 ve 31.2±8.4 olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p<0.001). Keratokonus olguları evrelerine göre değerlendirildiğinde ortalama sinir lifi dansitesi hafif keratokonus grubunda 27.8±7.7, orta keratokonus grubunda 19.8±8.5, ileri keratokonus grubunda 13.5±7.6 olup alt grupların birbirleri ile karşılaştırılmasında tüm alt gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (p<0.05). Ortalama sinir lifi uzunluğu (mm/mm²) keratokonus ve kontrol grubunda sırasıyla 16.1±5.1 ve 21.4±3.4 olarak hesaplandı ve istatistiksel analizde aradaki farkın anlamlı olduğu görüldü (p<0.001). Alt grup analizinde ortalama sinir lifi uzunluğu hafif keratokonus grubunda 19.7±4.9, orta keratokonus grubunda 17.2±4.5, ileri keratokonus grubunda 13.9±4.8 olarak hesaplandı ve istatistiksel analizde hafif ve orta evreler arasında anlamlı fark saptanmazken (p=0.326), orta ve ileri evreler arasındaki farkın anlamlı olduğu görüldü (p<0.05). Sinir dalı dansitesi (sinir dalı sayısı/mm²) medyan değeri keratokonus ve kontrol grubunda sırasıyla 25.0 (6.2-45.3) ve 50.0 (31.2-68.7) olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p<0.001). Keratokonus olgularının alt grup analizinde ise medyan değerler hafif keratokonus grubunda 31.2 (15.6-50.0), orta keratokonus grubunda 31.3 (12.5-56.3) ve ileri keratokonus grubunda 18.8 (0-31.2) olup alt gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0.094), (Tablo 3). Sinir lifi analizi yapan bilgisayar programının verdiği parametrelerden sinir dalı dansitesi, sinir lifi dansitesi değerine bölünerek major sinir liflerinin dallanma oranı (sinir dalı sayısı/sinir lifi sayısı) manuel olarak

hesaplandı. Keratokonus grubunda sinir dallanma oranı medyan değerinin (1.50 (0.65-2.37)) kontrol grubuna kıyasla (1.33 (1.17-2.00)) daha yüksek olduğu ancak aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p=0.269$).



Şekil 13 A. Keratokonusunda stromal sinir lifinde kalınlaşma. **B.** Subepitelyal sinir lifi dansitesinde azalma ve sinir lifinde kalınlaşma.

Tablo 3. Keratokonus ve kontrol grubunda subepitelyal sinir lifi parametrelerinin karşılaştırılması.

Parametre	Keratokonus (n=78)			Kontrol (n=36)	p değeri*
	Hafif (n=9)	Orta (n=37)	İleri (n=32)		
Sinir lifi dansitesi					
sinir lifi sayısı/mm ² ort.±SD	27.8±7.7	19.8±8.5	13.5±7.6	31.2±8.4	<0.001
Sinir lifi uzunluğu					
mm/mm ² ort.±SD	19.7±4.9	17.2±4.5	13.9±4.8	21.4±3.4	<0.001
Sinir dalı dansitesi					
sinir dalı sayısı/mm ² medyan (1.-3. çeyreklik)	31.2 (15.6-50.0)	31.3 (12.5-56.3)	18.8 (0-31.2)	50.0 (31.2-68.7)	<0.001

*Keratokonus ve kontrol grupları arasındaki karşılaştırmayı göstermektedir.

Kontrol grubunda stromada hiperreflektif keratosit nükleusları ve yer yer ön stromal sinir lifleri izlendi. Keratosit hücre sınırları ve kollajen lamellalar ayırt edilemedi. Ön stromada keratosit yoğunluğunun arka stromaya kıyasla daha fazla olduğu görüldü. Keratokonus grubunda keratosit nükleuslarında düzensizlikler ve olguların 19'unda (% 24.4) arka stromada Vogt striaları ile uyumlu olduğu düşünülen hiporeflektif bantlar görüldü. Descemet foldları ise 2 olguda (% 2.6) gözlemlendi. Ortalama ön stromal keratosit dansitesi keratokonus grubunda 555 ± 115 hücre/mm², kontrol grubunda ise 800 ± 111 hücre/mm² olarak hesaplandı. Ön stromal keratosit dansitesinin keratokonus olgularında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmış olduğu görüldü ($p<0.001$). Keratokonus grubunda alt grup analizi yapıldığında ortalama ön stromal keratosit dansitesi hafif keratokonus grubunda 751 ± 64 hücre/mm², orta keratokonus grubunda 542 ± 95 hücre/mm² ve ileri keratokonus grubunda 516 ± 92 hücre/mm² olduğu görüldü ve alt gruplar birbirleri ile karşılaştırıldığında hafif ve orta evre keratokonus arasında anlamlı fark bulunurken ($p<0.001$), orta ve ileri evre keratokonus grubunda ön stromal keratosit dansitesi açısından anlamlı fark olmadığı görüldü ($p=0.468$). Ortalama arka stromal keratosit dansitesi keratokonus grubunda 270 ± 47 hücre/mm², kontrol grubunda ise 333 ± 34 hücre/mm² olarak hesaplandı. Keratokonus olgularında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arka stromal keratosit dansitesinin azalmış olduğu görüldü ($p<0.001$). Keratokonus grubunda alt grup analizi yapıldığında ortalama arka stromal keratosit dansitesi hafif keratokonus grubunda 338 ± 51 hücre/mm², orta keratokonus grubunda 269 ± 34 hücre/mm² ve ileri keratokonus grubunda 252 ± 42 hücre/mm² olduğu görüldü ve alt grup analizinde hafif ve orta evreler arasında anlamlı fark bulunurken ($p<0.001$), orta ve ileri evrelerde arka stromal keratosit dansitesindeki azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p=0.198$).

Endotel hücreleri her iki grupta da hiporeflektif sınırlarla çevrili parlak hücre gövdeleri şeklinde izlendi. İleri keratokonus olgularında endotelde pleomorfizm ve polimegatizm tespit edildi. Ortalama endotel hücre dansitesi keratokonus olgularında (2686 ± 265 hücre/mm²) kontrol grubuna (2875 ± 223 hücre/mm²) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalmış bulundu ($p<0.001$). Keratokonus olgularında yapılan alt grup analizinde, ortalama endotel hücre dansitesi hafif keratokonus grubunda 2965 ± 94 hücre/mm², orta keratokonus grubunda 2747 ± 220 hücre/mm² ve ileri keratokonus grubunda 2537 ± 256 hücre/mm² olduğu görüldü ve alt gruplar birbirleri ile karşılaştırıldığında keratokonusun evresi ile korele olarak endotel hücre dansitesinde anlamlı azalma olduğu görüldü ($p<0.05$).

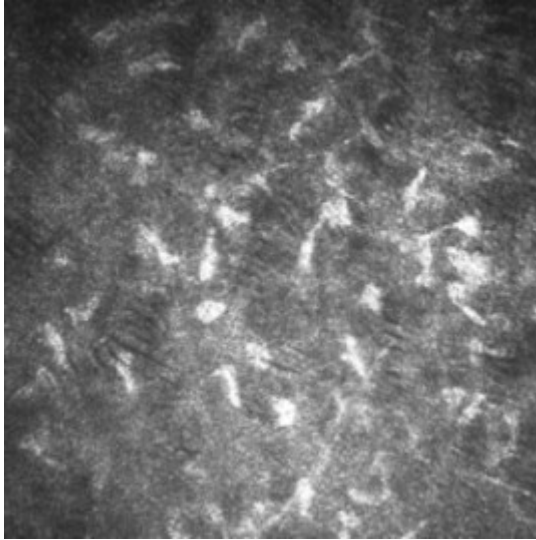
Keratokonus ve kontrol grubunda konfokal mikroskopik incelemede elde edilen hücre dansiteleri Tablo 4'te özetlendi.

Kontrol grubunda kadın ve erkek cinsiyet arasında SKK, Km, bazal epitel hücre dansitesi, ön ve arka stromal keratosit dansiteleri, endotel hücre dansitesi, sinir lifi dansitesi ve toplam uzunluğu, sinir dalı dansitesi, sinir lifi dallanma oranı parametreleri karşılaştırıldığında bu parametrelerin hiçbirinde cinsiyetler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0.05$). Keratokonus grubunda ise olgular farklı evrelerde olduğu için bu karşılaştırma yapılmadı.

Tablo 4. Keratokonus ve kontrol grubunda *in vivo* konfokal mikroskopi ile elde edilen kantitatif parametreler.

Parametre (hücre/mm ²)	Keratokonus (n=78)	Kontrol (n=36)	p değeri
Bazal epitel dansitesi	4802±508	5817±306	<0.001
Ön stromal keratosit dansitesi	555±115	800±111	<0.001
Arka stromal keratosit dansitesi	270±47	333±34	<0.001
Endotel hücre dansitesi	2686±265	2875±223	<0.001

Keratokonus olgularının 7'sinde (% 8.9) stromada arkaplan reflektivitesinde artış tespit edildi (Şekil 14). Bu reflektivite artışı Hollingsworth ve ark.'nın (85) tarif ettiği skalaya göre (Tablo 5), evre 1 ve 2 düzeyindeydi.



Şekil 14. Keratokonusta stromada arka plan reflektivitesinde artış ve keratosit nükleuslarında düzensizlikler.

Tablo 5. Kornea stromasında bulanıklık ve reflektivite artışı düzeylerinin evrelendirilmesi (85).

Evre	Şiddet	Tanım
0	Normal	Keratosit nükleusları açıkça seçilebilir Tüm görüntülerde kesin analiz yapılabilir
1	Eşik	Keratosit nükleusları görülebilir; hafif arka plan bulanıklığı mevcut Görüntülerin çoğunda kesin analiz yapılabilir
2	Hafif	Keratosit nükleuslarından bazıları görülebilir; keratositlerin çoğu belirsiz Bazı görüntülerde kesin analiz yapılabilir
3	Orta	Keratositlerin neredeyse tamamı belirsiz Görüntülerin çok az bir kısmında kesin analiz mümkün
4	İleri	Keratositler tamamen belirsiz; aşırı düzeyde reflektivite artışı mevcut Kesin analiz mümkün değil

5. TARTIŞMA

Keratokonüs tanısı ve takibinde son yıllarda önemli gelişmeler kaydedilmesine rağmen hastalığın etiopatogenezi halen tam aydınlatılabilmemiş değildir. Teng (87), keratokonustaki en erken yapısal değişikliğin epitel bazal membranında başladığını ileri sürmüştür. Hasarlı epitelden salınan IL-1 ve Fas-ligand gibi sitokinlerin ön stroma keratositlerinde apoptozisi tetikleyerek keratosit kaybına yol açtığı düşünülmektedir (88). Keratokonuslu kornealardaki keratositlerde IL-1 reseptörlerinin 4 kat artmış olduğu ve bu sitokine daha duyarlı hale geldikleri de bildirilmiştir (89). Keratosit kaybı korneal incelleme ve normal kornea mimarisinin bozulmasıyla yakından ilişkilidir (85). Ek olarak, keratokonusta epitel ve endotel hücre tabakalarının da etkilendiği gösterilmiştir (85,88). Keratokonüs hastalarının çoğu kontakt lens kullanmakta ve bu durum başlı başına epitel, keratosit ve endotel hücrelerinde yapısal değişikliklere neden olmaktadır (90,91). Bu çalışmada korneal skarı olan ya da kontakt lens kullanan olguların çalışma kapsamına alınmaması, elde edilen görüntülerin net olmasını ve bulguların yorumlanmasında karışıklığa yol açabilecek etkenlerin azaltılmasını sağlamıştır. Böylelikle keratokonusta canlı korneada meydana gelen hücresel düzeydeki değişikliklerin daha net olarak açığa kavuşturulması amaçlanmıştır.

Bu çalışmada keratokonusta keratosit sayılarının hem ön hem de arka stromada anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda da ön ve arka stromal keratosit sayılarının azaldığı ortaya konmuştur (83-85,92). Erie ve ark. (93), çalışmalarında keratosit kaybının kontakt lens kullanan keratokonüs hastalarında daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Keratokonuslu kornealarda konfokal mikroskopi bulgularını tanımlayan başka bir çalışmada arka stromal keratosit dansitesi kontakt lens kullanan ve kullanmayan olgularda azalmış olarak bulunurken, ön stromal keratosit dansitesi yalnızca kontakt lens kullanan olgularda azalmış olarak bulunmuştur (56). Önceki çalışmalarda (83,84,92) bildirildiği gibi, bu çalışmanın sonuçlarına göre de keratosit kaybı kontakt lens kullanım öyküsü olmadan da görülebilmektedir.

Hollingsworth ve ark. (85), çalışmalarında ön stroma keratositlerindeki azalmanın, arka stroma keratositlerindeki azalmadan daha fazla olduğunu (sırasıyla % 19 ve % 10) bildirmişlerdir. Teng (87), elektron mikroskopi ile yaptığı çalışmada en fazla dejeneratif değişiklik gösteren keratositlerin Bowman tabakasındaki ayrılma alanlarına komşu bölgede olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada ön stroma keratositlerinde % 30.6, arka stroma keratositlerinde % 18.9 azalma tespit edilmiş olup ön stroma keratositlerinin daha fazla etkilendiği görülmektedir. Ön stromal keratosit dansitesinde azalma, Wilson ve ark.'nın (88) öne sürdüğü gibi epitel hasarına sekonder gelişen apoptozis yoluyla olabileceği gibi, Hollingsworth ve ark.'nın (85) belirttiği gibi göz ovuşturma ve atopi sonucunda da gelişebilir.

Keratokonumlu kornealarda ölçülen keratosit dansiteleri birçok çalışmada (55-57,83-85,92,93) farklılık göstermektedir (Tablo 6), ancak normal kornealarda bile keratosit sayılarının geniş dalgalanmalar gösterdiği akıldan tutulmalıdır (80). Ek olarak, ölçüm yapılan cihazın türü ve hücre sayım yöntemindeki küçük değişiklikler de hücre dansitelerinde çalışmalar arası farklılıklara yol açıyor olabilir. Bu nedenle farklı çalışmalarda bildirilen hücre dansitelerinin doğrudan karşılaştırılması uygun olmayabilir.

Keratokonusun en belirgin özelliklerinden biri korneal incelmedir; santral kornea kalınlığı şiddetli olgularda % 60'a kadar incelme gösterebilmektedir (94). Keratosit dansitesindeki azalma korneal incelme ile ilişkili olabilir. Keratositlerin ekstrasellüler matriks üretiminden sorumlu oldukları bilinmektedir. Keratosit sayısındaki azalma, ekstrasellüler matriks miktarında azalma ve sonuçta korneal incelmeye yol açıyor olabilir. Başka bir açıdan bakılırsa, keratositlerdeki azalma korneal incelmeye sekonder gelişiyor da olabilir. Keratosit dansitesi ve kornea kalınlığını inceleyen uzun erimli çalışmalar bu konuya açıklık getirilebilir.

Bu çalışmada keratokonumlu olguların bazal epitel tabakasında normal balpeteği görünümünü kaybetmiş ve genişlemiş hücreler olduğu ve hücre dansitesinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak azaldığı görüldü. Bu sonuç, daha önceden yapılmış ve keratokonusta bazal epitel dansitesinin azaldığını gösteren çalışmalarla uyumlu bulundu (55,57,92). Hollingsworth ve ark. (85), bazal epitel hücrelerinin düzensiz görünümde olduğunu ve ortalama hücre çaplarının kontrol grubuna göre artmış olduğunu bildirmişlerdir. Uçakhan ve ark. (83) ise keratokonusta olgularında bazal epitel dansitesinin anlamlı olarak artmış olduğunu ve bazal epitel hücre alanının anlamlı olarak azalmış olduğunu bildirmiş ve bu sonucun keratokonusta epitelyal döngüdeki artışa bağlı olabileceğini belirtmişlerdir.

Uçakhan ve ark. (83), çalışmalarında bazal epitel hücrelerindeki hemosiderin birikimi (Fleischer halkası) ile uyumlu hiperreflektif noktaları biyomikroskopik muayenede Fleischer halkası tespit edilen gözlerin % 70'inde görebilmişlerdir. Kalan % 30'unda görememe nedenlerini ise Fleischer halkasının periferik yerleşimli olmasına bağlamışlardır. Bu çalışmada ise aynı nedene bağlı olduğu düşünülerek, biyomikroskopik muayenede Fleischer halkası görülen korneaların sadece % 17.9'unda bazal epitel hücrelerinde hemosiderinle uyumlu depozitler izlenebildi.

Keratokonusta anormal korneal sinir morfolojisi hem histolojik çalışmalarda (87, 95) hem de önceki konfokal mikroskopik çalışmalarda (83,92,96,97) tanımlanmıştır. Bu çalışmalarda anormal subbazal sinir dallanma paternleri, azalmış subbazal sinir dansitesi, artmış sinir tortuositesi, artmış sinir dallanma oranı, kalınlaşmış subbazal ve stromal sinir lifleri bildirilmiştir. Bu çalışmada da kalitatif değerlendirme sonucunda keratokonusta olgularında sinir liflerinin kalınlıkları ve tortuositelerinin artmış olduğu ve dansitelerinin

azalmış olduğu görüldü. Kantitatif analizlerde ise sinir lifi dansitesi, sinir lifi uzunluğu ve sinir dalı dansitesinin keratokonus olgularında kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak azalmış olduğu, sinir dallanma oranında ise istatistiksel olarak anlamlılık göstermeyen bir artış olduğu tespit edildi. Kontakt lens kullanmayan hastalarda bile sinir lifi morfolojisinin değiştiğini gösteren bu ve önceki çalışmalar (92,97), keratokonus patogenezinde doğrudan sinir liflerinin etkilendiğini düşündürmektedir.

CLEK çalışma grubunun bulgularına göre biyomikroskopik muayenede keratokonus olgularının neredeyse yarısında Vogt striaları mevcuttur (31). Konfokal mikroskopik çalışmalarda arka stromada Vogt striaları ile uyumlu olduğu düşünülen ince vertikal çizgilenmeler tarif edilmiştir (98, 99). Bu çalışmada biyomikroskopik muayenede Vogt striaları görülen 15 olgu olmasına rağmen konfokal mikroskopide Vogt striaları ile uyumlu stromal bantlar, olguların 19'unda (% 24.4) görülmüştür. Mocan ve ark.'nın (100) çalışmasında, biyomikroskopide Vogt striaları görülmeyen olguların % 52'sinde konfokal mikroskopide stromada koyu bantlar izlenmiş ve bu sonuç striaların klinik muayenede görülebilir hale gelmesinden daha önce mikroskopik olarak tespit edilebilmesine bağlanmıştır. Yapılan diğer çalışmalarda bu bantların tarif edildiği gibi yalnızca arka stromada değil, ön ve orta stromada da görüldüğü bildirilmiştir (83,100). Stromal striaların yerleşim yerini açıklığa kavuşturmak ve belki de Descemet membranı rüptürünün habercisi olabileceğini gösterebilmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmada keratokonus olgularında konfokal mikroskopide tespit edilen stromal haze ile uyumlu arka plan reflektivitesinde artış yalnızca 7 olguda (% 8.9) görüldü ve hafif düzeyde idi. Bu bulgu, korneada skar bulunan olguların çalışma dışı bırakılması ile ilişkili olabilir. Hollingsworth ve ark. (85), çalışmalarına korneal skarı bulunan olguları da dahil etmişler ve skar bulguları ile konfokal mikroskopide görülen reflektivite artışı arasında korelasyon olduğunu göstermişlerdir.

Keratokonus olgularında endotel hücrelerinde de apoptozisin arttığı gösterilmiştir (101). Bu çalışmada endotel hücre sayılarının keratokonus olgularında kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak azaldığı görüldü. Literatürde bu konuda çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Hollingsworth ve ark. (85), endotel hücre dansitesini kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek bulmuşlar ve bu sonucu endotel hücrelerindeki düzensiz yapılanmaya ve eşlik eden miyopi varlığına bağlamışlardır. Weed ve ark. (55), keratokonus ve kontrol grubunda endotel hücre dansitesi yönünden fark olmadığını bildirmişlerdir. Uçakhan ve ark.'nın (83) çalışmasında ise keratokonus olgularında endotel hücre dansitesinin azaldığı ancak aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirtilmiştir. Mocan ve ark.'nın çalışmasında kontakt lens kullanmayan keratokonus olgularında dahi endotel dansitesinin anlamlı olarak

azaldığı gösterilmiştir (92). Keratokonusunda kornea şeklinin bozulması ve kornea arka yüzey alanının artması, endotel dansitesindeki göreceli azalmayı açıklayabilir. Çalışmalar arasındaki farklı sonuçların ise ölçüm yapılan cihazların farklı olmasına ve ölçüm alınan küçük bir alana tekabül eden koni bölgesinin kişiler arasında farklılık göstermesine bağlı olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada ileri keratokonus olgularında endotel hücrelerinin büyüklük ve şekillerinde değişiklikler gözlemlendi. Hücreler kontrol grubuna kıyasla daha büyük ve pleomorfik görünümde idi. Literatürdeki çalışmalarda endotel hücrelerinde koninin apeksine doğru uzama olduğu bildirilmiş ve bu durum koni apeksindeki muhtemel endotel hücre kaybı veya mekanik gerilme mekanizması ile açıklanmıştır (83,102,103). Bu çalışmada olguların kontakt lens kullanım öyküsü olmamasına rağmen endotel hücre sayılarının azalması ve morfolojik değişikliklerin gösterilmesi, keratokonuslu kornealarda endotel hücrelerinin stabilitesini kaybettiğini ve hasara açık olduğunu düşündürmektedir.

Tablo 6. Keratokonuslu kornealarda konfokal mikroskopi ile yapılmış çalışma sonuçlarının karşılaştırılması.

Parametre (hücre/mm ²)	Artmış	Azalmış	Değişmemiş
Bazal epitel hücre dansitesi	Uçakhan ve ark. (83), n=24	Weed ve ark. (55), n=19 Patel ve ark. (57), n=27 Niederer ve ark. (84), n=52 Mocan ve ark. (92), n=68	
Ön stromal keratosit dansitesi	Weed ve ark. (55), n=19	Hollingsworth ve ark. (85), n=29 Uçakhan ve ark. (83), n=24 Niederer ve ark. (84), n=52 Mocan ve ark. (92), n=68	Ku ve ark. (56), n=26
Arka stromal keratosit dansitesi	Weed ve ark. (55), n=19	Hollingsworth ve ark. (85), n=29 Uçakhan ve ark. (83), n=24 Niederer ve ark. (84), n=52 Mocan ve ark. (92), n=68 Ku ve ark. (56), n=26	
Endotel hücre dansitesi	Hollingsworth ve ark. (85), n=29	Niederer ve ark. (84), n=52 Mocan ve ark. (92), n=68 Uçakhan ve ark. (83), n=24	Weed ve ark. (55), n=19

6. SONUÇ

İn vivo konfokal mikroskopi, keratokonusun patofizyolojisinin anlaşılmasında önemli bir role sahiptir. Bu çalışmada keratokonuslu olgularda santral korneanın tüm tabakalarında yapısal değişiklikler izlendi. Bazal epitel hücreleri, ön ve arka stromadaki keratosit dansitesi, endotel hücreleri ve sinir liflerindeki değişiklikler incelendiğinde literatürdeki diğer yayınlarla benzer sonuçlar elde edildiği görüldü. Günümüze kadar yapılan çok sayıda klinik ve laboratuvar çalışmalarına rağmen keratokonusun patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Konfokal mikroskopi canlı dokuda hücresel seviyede verdiği kesin bilgiler ile hastalığın erken dönemlerden itibaren takibine ve progresyonun tespitine imkan sağlamaktadır. Bu çalışmanın kısıtlı yönlerinden olan az sayıdaki 'hafif keratokonus' olgularının sayıca arttırılması ve konfokal mikroskopi ölçümlerinin yalnızca kornea santralinden değil periferinden de alınabilmesi durumunda patogenezdaki mekanizmaları anlayabilmek adına daha değerli sonuçlar elde edilecektir.

KAYNAKLAR

1. Rabinowitz YS. Keratoconus. *Surv Ophthalmol* 1998;42:297-319.
2. Buxton JN, Buxton DF, Dias AKG, Scorsetti DH. Keratoconus basic and clinical features. In: Kastl PR, ed. *Contact Lenses. The CLAO Guide to Basic Science and Clinical Practice*, 2nd ed. Iowa: Kendall/Hunt Publishing, 1995:101-122.
3. American Academy of Ophthalmology: Yüzey Hastalıkları ve Kornea, Temel ve Klinik Bilimler Kursu. Çev: Aydın O'Dwyer P. Güneş Kitabevi, Ankara. 2012;296-303.
4. Kennedy RH, Bourne WM, Dyer JA. A 48-year clinical and epidemiologic study of keratoconus. *Am J Ophthalmol* 1986;101:267-273.
5. Bilgin LK, Yılmaz S, Araz B, Yüksel SB, Sezen T. 30 years of contact lens prescribing for keratoconic patients in Turkey. *Contact Lens Anterior Eye* 2009;32:16-21.
6. Jalbert I, Stapleton F, Papas E, Sweeney DF, Coroneo M. In vivo confocal microscopy of the human cornea. *Br J Ophthalmol* 2003;87:225-236.
7. İrkeç M, Bozkurt B. Kornea hastalıklarının tanı ve takibinde konfokal mikroskopinin yeri. *Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci* 2007;3:15-24.
8. Apaydın C.: Anatomi. İçinde: Aydın P, Akova Y: Temel Göz Hastalıkları. Güneş Kitabevi, Ankara. 2001;3-29.
9. American Academy of Ophthalmology: Yüzey Hastalıkları ve Kornea, Temel ve Klinik Bilimler Kursu. Çev: Aydın O'Dwyer P. Güneş Kitabevi, Ankara. 2012;6-9.
10. American Academy of Ophthalmology: Oftalmolojinin Esas ve İlkeleri, Temel ve Klinik Bilimler Kursu. Çev: Aydın O'Dwyer P. Güneş Kitabevi, Ankara. 2009;45-49.
11. Fine BS, Yanoff M. *Ocular Histology: A Text and Atlas*. 2nd ed, Hagerstown, MD: Harper&Row; 1979:163-168.
12. Müller LJ, Pels L, Vrensen GF. Novel aspects of the ultrastructural organization of human corneal keratocytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36(13):2557-2567.
13. Jester JV, Moller-Pedersen T, Huang J, Sax CM, Kays WT, Cavangh HD, Petroll WM, Piatigorsky J. The cellular basis of corneal transparency: evidence for "corneal crystallins". *J Cell Sci* 1999;112:613-622.
14. Foster CS, Azar DT, Dohlman CH, eds. *Smolin and Thoft's The Cornea: Scientific Foundations and Clinical Practice*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2004;1-17.
15. Nishida T. Cornea. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, eds. *Cornea*. 2nd ed. Vol 1. Philadelphia: Elsevier/Mosby;2005:3-26.

16. Nishida T. Basic Science and Pathophysiologic Responses. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, eds. Cornea. Vol 1. St Louis, Mosby;1997:3-27.
17. Edelhauser H, Ubels J. The Cornea and the Sclera. In: Kaufman PL, Alm A, eds. Adler's Physiology of the Eye: Clinical Application. 10th ed. St Louis, Missouri, Mosby;2003:47-103.
18. Özkan Ş, Pazarlı H, Oğuz V, Akar S. Göz Hastalıkları Ders Kitabı. İstanbul Üniversitesi Basım ve Yayınevi, İstanbul. 2007;5-142.
19. American Academy of Ophthalmology: Oftalmolojinin Esas ve İlkeleri, Temel ve Klinik Bilimler Kursu. Çev: Aydın O'Dwyer P. Güneş Kitabevi, Ankara. 2009;297-303.
20. Ovalı T. Fizioloji. İçinde: Aydın P, Akova Y: Temel Göz Hastalıkları. Güneş Kitabevi, Ankara. 2001;39-55.
21. Nottingham J. Practical observations on conical cornea. London: Churchill, London. 1984;1-19.
22. Zadnik K, Barr JT, Gordon MO, Edrington TB, CLEK Study Group. Biomicroscopic signs and disease severity in keratoconus. Cornea 1996;15:139-146.
23. Zadnik K, Steger-May K, Fink BA, Joslin CE, Nichols JJ, Rosenstiel CE, et al. Between-eye asymmetry in keratoconus. Cornea 2002;21:671-679.
24. Auffarth GU, Wang L, Völcker HE. Keratoconus evaluation using the Orbscan topography system. J Cataract Refract Surg 2000;26:222-228.
25. Prisant O, Legeais JM, Renard G. Superior keratoconus. Cornea 1997;16:693-694.
26. Weed KH, McGhee CN, Mac Ewen CJ. Atypical unilateral superior keratoconus in young males. Contact Lens Anterior Eye 2005;28:177-179.
27. Rahmen W, Anwar S. An unusual case of keratoconus. J Pediatr Ophthalmol Strabismus 2006;43:373-375.
28. Li X, Rabinowitz YS, Rasheed K, Yang H. Longitudinal study of the normal eyes in unilateral keratoconus patients. Ophthalmology 2004;111:440-446.
29. Krachmer JH, Feder RS, Belin MW. Keratoconus and related non-inflammatory corneal thinning disorders. Surv Ophthalmol 1984;28:293-322.
30. Owens H, Gamble G. A profile of keratoconus in New Zealand. Cornea 2003;22:122-125.
31. Wagner H, Barr JT, Zadnik K. Collaborative longitudinal evaluation of keratoconus (CLEK) study: methods and findings to date. Contact Lens Anterior Eye 2007;30:223-232.
32. Pearson AR, Soneji B, Sarvananthan N, Sandford-Smith JH. Does ethnic origin influence the incidence or severity of keratoconus? Eye 2000;14:625-628.

33. Georgiou T, Funnell CL, Cassels-Brown A, O'Connor R. Influence of ethnic origin on the incidence of keratoconus and associated atopic disease in Asians and white patients. *Eye* 2004;18:379-383.
34. Hammerstein W. Genetics of conical cornea (author's transl). *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 1974;190:293-308.
35. Gonzalez V, McDonnell PJ. Computer-assisted corneal topography in parents of patients with keratoconus. *Arch Ophthalmol* 1992;110:1413-1414.
36. Wang Y, Rabinowitz YS, Rotter JI, Yang H. Genetic epidemiological study of keratoconus: evidence for major gene determination. *Am J Med Genet* 2000;93:403-409.
37. Parker J, Ko WW, Pavlopoulos G, Wolfe PJ, Rabinowitz YS, Feldman ST. Videokeratography of keratoconus in monozygotic twins. *J Refract Surg* 1996;12:180-183.
38. Fullerton J, Paprocki P, Foote S, Mackey DA, Williamson R, Forrest S. Identify-by-descent approach to gene localisation in eight individuals affected by keratoconus from north-west Tasmania, Australia. *Hum Genet* 2002;110:462-470.
39. Tynjismaa H, Sistonen P, Tuupanen S, Tervo T, Dammert A, Latvala T, et al. A locus for autosomal dominant keratoconus: linkage to 16q22.3-q23.1 in Finnish families. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:3160-3164.
40. Hughes AE, Dash DP, Jackson AJ, Frazer DG, Silvestri G. Familial keratoconus with cataract: linkage to the long arm of chromosome 15 and exclusion of candidate genes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:5063-5066.
41. Brancati F, Valente EM, Sarkozy A, Feher J, Castori M, Del Duca P, et al. A locus for autosomal dominant keratoconus maps to human chromosome 3p14-q13. *J Med Genet* 2004;41:188-192.
42. Hutchings H, Ginisty H, Le Gallo M, Levy D, Stoesser F, Rouland JF, et al. Identification of a new locus isolated familial keratoconus at 2p24. *J Med Genet* 2005;42:88-94.
43. Tang YG, Rabinowitz YS, Taylor KD, Li X, Hu M, Picornell Y, et al. Genomewide linkage scan in a multigeneration Caucasian pedigree identifies a novel locus for keratoconus on chromosome 5q14.3-q21.1. *Genet Med* 2005;7:397-405.
44. Li X, Rabinowitz YS, Tang YG, Picornell Y, Taylor KD, Hu M, et al. Two-stage genome-wide linkage scan in keratoconus sib pair families. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:3791-3795.
45. Bisceglia L, De Bonis P, Pizzicoli C, Fischetti L, Laborante A, Di Perna M, et al. Linkage analysis in keratoconus: replication of locus 5q21.2 identification of other suggestive loci. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:1081-1086.

46. Fukuchi T, Yue BY, Sugar J, Lam S. Lysosomal enzyme activities in conjunctival tissues of patients with keratoconus. *Arch Ophthalmol* 1994;112:1368-1374.
47. Sawaguchi S, Twining SS, Yue BY, Chang SH, Zhou X, Loushin G, et al. Alpha 2 macroglobulin levels in normal human and keratoconus corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35:4008-4014.
48. Bureau J, Fabre EJ, Hecquet C, Pouliquen Y, Lorans G. Modification of prostaglandin E2 and collagen synthesis in keratoconus fibroblasts associated with an increase of interleukin-1 alpha receptor number. *CR Acad Sci III* 1993;316:425-430.
49. Bron A, Rabinowitz YS. Corneal dystrophies and keratoconus. *Curr Opin Ophthalmol* 1996;7:71-82.
50. Lema I, Duran JA, Ruiz C, Diez-Feijoo E, Acera A, Merayo J. Inflammatory response to contact lenses in patients with keratoconus compared with myopic subjects. *Cornea* 2008;27:758-763.
51. Sherwin T, Brookes NH. Morphological changes in keratoconus: pathology or pathogenesis. *Clin Experiment Ophthalmol* 2004;32:211-217.
52. Kenney MC, Brown DJ. The cascade hypothesis of keratoconus. *Contact Lens Anterior Eye* 2003;26:139-146.
53. Hargrave S, Chu Y, Mendelblatt D, Mayhew E, Niederkorn J. Preliminary findings in corneal allograft rejection in patients with keratoconus. *Am J Ophthalmol* 2003;135:452-460.
54. Kanski JJ. Cornea. In: *Clinical Ophthalmology: A Systematic Approach - 7th ed.* Eds. Jack J Kanski, Brad Bowling, Ken Nischal, Andrew Pearson, Çeviri editörü: Yonca A Akova, Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, 2013.
55. Weed KH, MacEwen CJ, Cox A, McGhee CN. Quantitative analysis of corneal microstructure in keratoconus utilizing in vivo confocal microscopy. *Eye* 2007;21:614-623.
56. Ku JY, Niederer RL, Patel DV, Sherwin T, McGhee CN. Laser scanning in vivo confocal analysis of keratocyte density in keratoconus. *Ophthalmology* 2008;115:845-850.
57. Patel DV, Ku JY, Johnson R, McGhee CN. Laser scanning in vivo confocal microscopy and quantitative aesthesiometry reveal decreased corneal innervation and sensation in keratoconus. *Eye* 2009;23:586-592.
58. Kanski JJ. Kornea ve Sklera Hastalıkları. İçinde: *Klinik Oftalmoloji*. 4. Baskı. Çeviri editörü: Orağlı KM. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2001.

59. Zadnik K, Barr JT, Edrington TB, Everett DF, Jameson M, McMahon TT, et al. Baseline findings in the Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus (CLEK) Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:2537-2546.
60. Romero-Jimenez M, Santodomingo-Rubido J, Wolffsohn JS. Keratoconus: a review. *Contact Lens Anterior Eye* 2010;33:157-166.
61. McMahon TT, Szczotka-Flynn L, Barr JT, Anderson RJ, Slaughter ME, Lass JH, et al. A new method for grading the severity of keratoconus: the keratoconus severity score (KSS). *Cornea* 2006;25:794-799.
62. Karabatsas CH, Cook SD. Topographic analysis in pellucid marginal degeneration and keratoglobus. *Eye* 1996;10:451-455.
63. Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, eds. *Cornea*. 2nd ed. Vol 1. Philadelphia: Elsevier/Mosby, 2005;955-974.
64. Geggel HS, Talley AR. Delayed onset keratectasia following laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg* 1999;25:582-586.
65. Mannis MJ, Lightman J, Plotnik RD. Corneal topography of posterior keratoconus. *Cornea* 1992;11:351-354.
66. Wilson SE, Klyce SD. Screening for corneal topographic abnormalities before refractive surgery. *Ophthalmology* 1994;101:147-152.
67. Sray WA, Cohen EJ, Rapuano CJ, Laibson PR. Factors associated with the need for penetrating keratoplasty in keratoconus. *Cornea* 2002;21:784-786.
68. Colin J, Cochener B, Savary G, Malet F. Correcting keratoconus with intracorneal rings. *J Cataract Refract Surg* 2000;26:1117-1122.
69. Zare MA, Hashemi H, Salri MR. Intracorneal ring segment implantation for the management of keratoconus: safety and efficacy. *J Cataract Refract Surg* 2007;33:1886-1891.
70. Wollensak G. Crosslinking treatment of progressive keratoconus: new hope. *Curr Opin Ophthalmol* 2006;17:356-360.
71. Raiskup-Wolf F, Hoyer A, Spoerl E, Pillunat LE. Collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A light in keratoconus: long-term results. *J Cataract Refract Surg* 2008;34:796-801.
72. Chiou AG-Y, Kaufman SC, Kaufman HE, Beuerman RW. Clinical corneal confocal microscopy. *Surv Ophthalmol* 2006;51:482-500.
73. Minsky M. Memoir on inventing the confocal scanning microscope. *Scanning J* 1988;10:128-38.
74. Guthoff RF, Baudouin C, Stave J. *Atlas of confocal laser scanning in vivo microscopy in ophthalmology*. Heidelberg/Springer, Berlin. 2006;3-21.

75. Harrison DA, Joos C, Ambrosio R. Morphology of corneal basal epithelial cells by in vivo slit-scanning confocal microscopy. *Cornea* 2003;22:246-248.
76. Mastropasqua L, Nubile M. Normal corneal morphology. In: Mastropasqua L, Nubile M eds. *Confocal Microscopy of the Cornea*. Thorofare, NJ: SLACK Inc; 2002:7-16.
77. Prydal JI, Franc F, Dilly PN, Kerr Muir MG, Corbett MC, Marshall J. Keratocyte density and size in conscious humans by digital image analysis of confocal images. *Eye* 1998;12:337-342.
78. Oliveira-Soto L, Efron N. Morphology of corneal nerves using confocal microscopy. *Cornea* 2001;20:374-384.
79. Imre L, Nagymihaly A. Reliability and reproducibility of corneal endothelial image analysis by in vivo confocal microscopy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001;239:356-360.
80. Hollingsworth J, Perez-Gomez I, Mutalib HA, Efron N. A population study of the normal cornea using an in vivo, slit-scanning confocal microscope. *Optom Vis Sci* 2001;78:706-711.
81. Mastropasqua L, Nubile M. Confocal microscopy in keratoconus. In: Mastropasqua L, Nubile M eds. *Confocal Microscopy of the Cornea*. Thorofare, NJ: SLACK Inc; 2002:37-44.
82. Efron N, Hollingsworth JG. New perspectives on keratoconus as revealed by corneal confocal microscopy. *Clin Exp Optom* 2008;91:34-55.
83. Ucakhan OO, Kanpolat A, Yilmaz N, Ozkan M. In vivo confocal microscopy findings in keratoconus. *Eye Contact Lens* 2006;32:183-191.
84. Niederer RL, Perumal D, Sherwin T, McGhee CN. Laser scanning in vivo confocal microscopy reveals reduced innervation and reduction in cell density in all layers of the keratoconic cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:2964-2970.
85. Hollingsworth JG, Efron N, Tullo AB. In vivo corneal confocal microscopy in keratoconus. *Ophthalmic Physiol Opt* 2005;25:254-260.
86. Dabbah MA, Graham J, Petropoulos IN, Tavakoli M, Malik RA. Automatic analysis of diabetic peripheral neuropathy using multi-scale quantitative morphology of nerve fibres in corneal confocal microscopy imaging. *Med Image Anal* 2011;15:738-747.
87. Teng CC. Electron microscope study of the pathology of keratoconus: Part 1. *Am J Ophthalmol* 1963;55:18-47.
88. Wilson SE, He Y-G, Weng J, Li Q, McDowall AW, Vital M, Chwang EL. Epithelial injury induces keratocyte apoptosis: hypothesized role for the interleukin-1 system in the modulation of corneal tissue organisation and wound healing. *Exp Eye Res* 1996;62:325-337.

89. Fabre EJ, Bureau J, Pouliquen Y, Lorans G. Binding sites for human interleukin 1 alpha, gamma interferon and tumour necrosis factor on cultured fibroblasts on normal cornea and keratoconus. *Curr Eye Res* 1991;10:585-592.
90. Kallinikos P, Efron N. On the etiology of keratocyte loss during contact lens wear. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:3011-3020.
91. Efron N. Contact lens-induced changes in the anterior eye as observed in vivo with the confocal microscope. *Prog Ret Eye Res* 2007;26:398-436.
92. Mocan MC, Yilmaz PT, Irkec M, Orhan M. In vivo confocal microscopy for the evaluation of corneal microstructure in keratoconus. *Curr Eye Res* 2008;33:933-939.
93. Erie JC, Patel SV, McLaren JW, Nau CB, Hodge DO, Bourne WM. Keratocyte density in keratoconus. A confocal microscopy study. *Am J Ophthalmol* 2002;134:689-695.
94. Foster CS, Yamamoto K. Ocular rigidity in keratoconus. *Am J Ophthalmol* 1978;86:802-806.
95. Brookes NH, Loh IP, Clover GM, Poole CA, Sherwin T. Involvement of corneal nerves in the progression of keratoconus. *Exp Eye Res* 2003;77:515-524.
96. Mannion LS, Tromans C, O'Donnell C. An evaluation of corneal nerve morphology and function in moderate keratoconus. *Contact Lens Ant Eye* 2005;28:185-192.
97. Patel DV, McGhee CNJ. Mapping the corneal sub-basal nerve plexus in keratoconus by in vivo laser scanning confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:1348-1351.
98. Somodi S, Hahnel C, Slowik C, Richter A, Weiss DG, Guthoff R. Confocal in vivo microscopy and confocal laser-scanning fluorescence microscopy in keratoconus. *Ger J Ophthalmol* 1996;5:518-525.
99. Hollingsworth JG, Efron N. Observations of banding patterns (Vogt striae) in keratoconus: a confocal microscopy study. *Cornea* 2005;24:162-166.
100. Mocan MC, Yilmaz PT, Irkec M, Orhan M. The significance of Vogt's striae in keratoconus as evaluated by in vivo confocal microscopy. *Clin Exp Ophthalmol* 2008;36:329-334.
101. Kaldawy RM, Wagner J, Ching S, Seigel GM. Evidence of apoptotic cell death in keratoconus. *Cornea* 2002;21:206-209.
102. Laing RA, Sandstrom MM, Berrospi R, Leibowitz HM. The human corneal endothelium in keratoconus. *Arch Ophthalmol* 1979;97:1867-1869.
103. Matsuda M, Suda T, Manabe R. Quantitative analysis of endothelial mosaic pattern changes in anterior keratoconus. *Am J Ophthalmol* 1984;98:43-49.

