

Nüks Makuler Kornea Distrofisi Nedeni ile Rekeratoplasti Uygulanan Bir Olguda Elektron Mikroskopisi Bulguları

Electron Microscopy Findings in a Re-Keratoplasty Patient with Recurrent Macular Corneal Dystrophy

Hilal GÖKTÜRK,^a
Serdar BİLİCİ,^b
Pınar BAYRAM,^c
Deniz BİLLUR,^c
Nilüfer YALÇINDAĞ,^b
Belgin CAN^c

^aHistoloji ve Embriyoloji AD,
Yıldırım Beyazıt Üniversitesi
Tıp Fakültesi,

^bGöz Hastalıkları AD,

^cHistoloji ve Embriyoloji AD,
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Ankara

Received: 09.09.2016

Received in revised form: 27.01.2017

Accepted: 09.02.2017

Available online: 24.04.2018

Correspondence:

Serdar BİLİCİ
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Göz Hastalıkları AD, Ankara,
TÜRKİYE/ TURKEY
serdarbilici@gmail.com

Bu çalışma, XXII. Ulusal Elektron Mikroskopisi Kongresi (2-4 Eylül 2015, İstanbul)'nde poster olarak sunulmuş ve "En iyi poster ödülü"ne layık görülmüştür.

ÖZET Makuler kornea distrofisi (MKD), kornea stroma distrofilerinin en nadir görülen grubudur. 16q22 kromozomundaki karbonhidrat sülfotransferaz (CHST6) genindeki mutasyonlara bağlı olarak, kornea stromasında sülfatlanmamış keratan sülfat birikimi ile karakterize otozomal resesif geçişli bir hastalıktır. Görme keskinliği diğer stroma distrofilerine göre daha erken dönemde etkilenmekte ve genellikle kornea transplantasyonu gerektirmektedir. Penetrant keratoplasti sonrası nüks, diğer kornea stroma distrofilerine göre daha nadir izlenmektedir. Nüks gözlenen hastalarda rekeratoplasti uygulanmaktadır. Bu çalışmada, nüks MKD nedeni ile rekeratoplasti uygulanan 62 yaşındaki bir olguda histopatolojik bulgular tanımlanmıştır. Işık mikroskopu ve geçirimli elektron mikroskopu incelemelerinde histopatolojik değişikliklerin primer MKD hastalarıyla benzer özelliklere sahip olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Keratoplasti, penetrant; kornea distrofileri, herediter; transmisyon elektron mikroskopisi

ABSTRACT Macular corneal dystrophy (MCD) is the least common form of the stromal corneal dystrophies. MCD is an autosomal recessive disorder that is characterized by unsulfated keratan sulfate deposition in corneal stroma due to mutations in carbohydrate sulfotransferase (CHST6) gene which is located in chromosome 16q22. Visual acuity is affected in earlier stages of the disease in compare to other stromal corneal dystrophies and usually corneal transplantation is needed. Recurrence after penetrating keratoplasty is seen less frequently than other stromal corneal dystrophies. In this study, histopathologic findings were described in a patient who had re-keratoplasty due to recurrent macular corneal dystrophy. Light and transmission electron microscopy findings were similar to characteristic features of primary macular corneal dystrophy.

Keywords: Keratoplasty, penetrating; corneal dystrophies, hereditary; microscopy, electron, transmission

Kornea distrofileri korneanın çeşitli tabakalarında opasitelerle karakterize herediter bir hastalık grubudur. Kornea distrofileri travma ya da inflamasyon gibi nedenlerle ilişkili olmayıp primer kornea lezyonlarıdır.¹ Makuler kornea distrofisi (MKD), [Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) 217800] 16q22 kromozomundaki korneal glukozamin N-asetil-6-sülfotransferaz enzimini kodlayan karbonhidrat sülfotransferaz (CHST6) genindeki mutasyonlara bağlı olarak korneal keratan sülfat (KS) metabolizmasındaki bozukluk sonucunda, keratositler ile endotel hücreleri arasındaki interselüler boşluk ve ekstraselüler kornea stromasında sülfatlanmamış KS birikimine bağlı, bilateral kornea opasitesi ve

kornea santralinde incelmeyle karakterize otozomal resesif geçişli bir hastalıktır.² Maküler distrofi, stroma distrofilerinin en nadir görülen grubu olup, serum ve kornea KS seviyelerine göre 3 alt gruba ayrılmaktadır (Tip I, Tip II ve Tip IA).³ Etkilenen kişilerde genellikle ilk dekatta, kornea santralinde stroma bulanıklığı ile kendini göstermektedir. Daha sonra stromada fokal gri-beyaz birikintiler gelişmektedir. Bu birikintiler erken evrelerde kornea santralinde ön stromada yerleşmiş iken, hastalığın ilerlemesiyle birlikte kornea periferinde stromanın derin tabakalarında yerleşim gösterirler. Hastalık ilerledikçe yüzeysel birikintilere bağlı kornea yüzeyinde düzensizlikler gelişebilse de kornea epiteli etkilenmemektedir. Görme keskinliği diğer stroma distrofilerine göre daha erken dönemde etkilenmekte ve kornea transplantasyonu gerektirmektedir.^{2,4} MKD'de keratoplasti sonrası nüks, diğer stroma distrofilerine göre daha nadir olmakla birlikte nüks gözlenen çeşitli olgu serileri bildirilmiştir.^{5,6}

Bu çalışmada, penetran keratoplasti (PK) sonrası distrofi nüksü nedeni ile rekeratoplasti uygulanan bir olgunun korneasından elektron ve ışık mikroskopu ile elde edilen histopatolojik sonuçların bildirilmesi amaçlanmıştır.

OLGU SUNUMU

Altmış iki yaşındaki erkek olgu, sağ gözde görme azalması şikâyetiyle Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Ana Bilim Dalına başvurdu. Öyküsünden, MKD nedeni ile 24 yıl önce sağ, 16 yıl önce sol gözden PK ameliyatı geçirdiği öğrenildi. Oftalmolojik muayenede en iyi düzetilmiş görme keskinliği sağ gözde el hareketleri, sol gözde 0,3 düzeyinde idi. Sol göz grefonu saydam, fundus muayenesi doğal olan olgunun sağ gözünde grefonda ön stroma yerleşimli çok sayıda düzensiz gri-beyaz, sınırları net olmayan opasiteler bulunmakta idi. Sağ gözde fundus aydınlanmadığı için yapılan ultrasonografide, vitreus saydam retina yataşık izlenmesi üzerine olguya nüks MKD tanısıyla rekeratoplasti uygulandı. Ameliyatta 8,25 mm çaplı donör korneası 8,0 mm çaplı alıcı yatağına sütüre edildi. Eksize edilen kornea dokusunda histopatolojik incelemeler yapıldı.

HİSTOPATOLOJİK İNCELEMELER

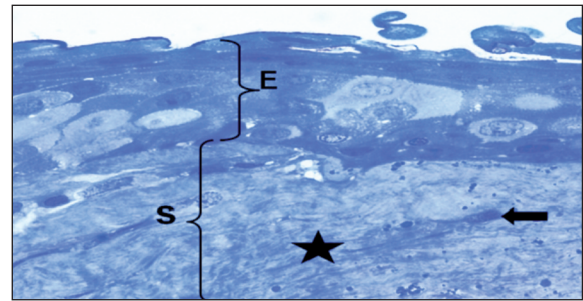
Geçirimli elektron mikroskop [transmission electron microscopy (TEM)] incelemesi için alınan doku örnekleri %2,5 gluteraldehitte (0,1 M fosfat tamponlu, pH 7,4) saptanarak, osmiyum tetroksitle 2. fiksasyon işlemi uygulandıktan sonra rutin işlemlerinden geçirilerek araldite gömüldü. Elde edilen bloklardan yarı-ince (800-1.000 nm) ve ince (60-80 nm) kesitler alındı. Yarı-ince kesitler Toluidin mavisi ile boyanarak ışık mikroskopu (Zeiss, Scope A1) ile ince kesitler uranil asetat-kurşun sitrat ile boyanarak TEM (LEO 900 E) ile incelendi.

IŞIK MİKROSKOP BULGULARI

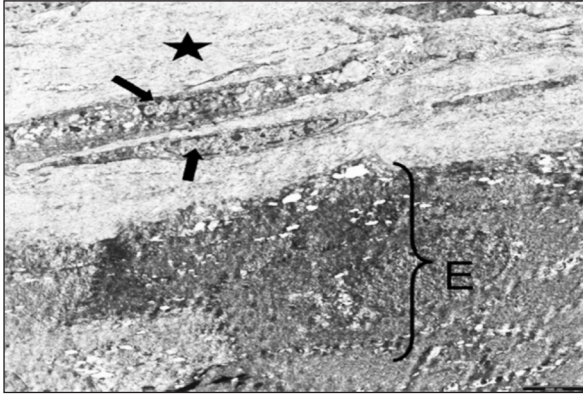
Toluidin mavisi ile boyanan yarı-ince kesitlerde, kornea kalınlığının her alanda normal kornea kalınlığına göre incelendiği gözlemlendi. Kornea mesafesindeki bu daralmanın stroma tabakasındaki dejenere keratositlere bağlı olduğu düşünüldü. Özellikle, stroma tabakasına yakın komşuluktaki epitel hücreleri arasında birikimler dikkati çekti. Korneanın en kalın tabakasını meydana getiren stromada da kollajen lamellerde düzensizlik ve stromaya ait spesifik hücreler olan keratositlerde granüler materyal birikimleri saptandı (Resim 1).

GEÇİRİMLİ ELEKTRON MİKROSKOP BULGULARI

Yapılan TEM incelemelerinde de ışık mikroskopi bulgularına paralel olarak, özellikle epitel tabakasına yakın komşuluktaki stroma lamellerini meydana getiren kollajen demetlerinde düzensizleşme saptandı (Resim 2-5). Bazı keratositlerde ileri derecede hasarlanma meydana geldiği, hücrelerin dejenere olarak hacimce küçüldüğü gözlemlendi (Resim 4).



RESİM 1: Nüks maküler kornea distrofisinde ışık mikroskopisi. E; Kornea epiteli, S; Stroma, Yıldız; Kollajen lameller, Ok; Keratosit. Yarı-ince kesit. Boya; Toluidin mavisi, Büyütme; x40.



RESİM 2: Nüks maküler kornea distrofisinde geçirimli elektron mikroskop görüntüsü.
Yıldız; Düzensizleşmiş kollajen demetleri, Ok; Keratosit çekirdeği, E; Kornea epitel, Bar; 2.500 nm.



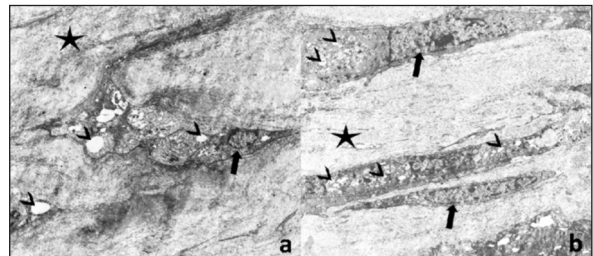
RESİM 3: Geçirimli elektron mikroskopta kollajen demetleri arasında keratositin enine kesiti.
Yıldız; Düzensizleşmiş kollajen demetleri, K; Keratosit, Bar; 1.000 nm.

Bu iki bulgunun kornea kalınlığındaki azalmaya yol açtığı düşünüldü. Epitel tabakasına yakın komşulukta olan keratositler içerisinde keskin sınırlı, yaklaşık hücrenin mitokondriyumlarına eşit büyüklükte, birbirleriyle boyut ve yoğunluk açısından benzerlik gösteren çok sayıda elektron-yoğun fibrogranüler materyal birikimleri izlendi (Resim 5). Fibrogranüler birikimlerden bağımsız olarak, aynı veya farklı keratositler içerisinde, zar ile çevrili düzenli sınırlara sahip, değişken boyutlarda, içi boş kesecik şeklinde vakuoller gözlemlendi (Resim 4, 5). Vakuollerin, keratosit dejenerasyonunda ilk basamak olduğu, harabiyet ilerledikçe vakuol sayısının arttığı ve hücre içi dinamikleri bozduğu düşünüldü.

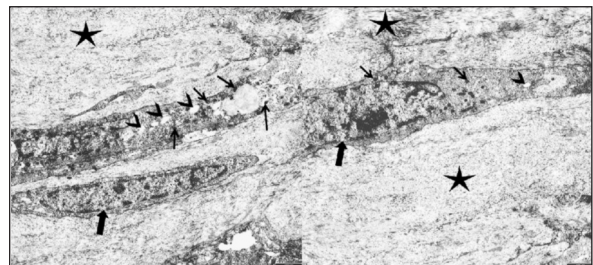
TARTIŞMA

Stromal kornea distrofileri arasında en nadir görülen form olan MKD hastalarında, rekeratoplasti gerektirecek şiddette nüks görülme sıklığı %2,5, keratoplasti sonrası nükse kadar geçen sürenin ise 20 ay ile 30 yıl arasında değiştiği bildirilmiştir.⁷ Klintworth ve ark. alıcı dokudaki anormal keratositlerin greft dokusuna göç etmesinin nükse neden olduğunu ve bu nedenle nüks bulgularının greft dokusunun periferinde daha belirgin olduğunu öne sürmüşlerdir.⁶

MKD ışık mikroskopisinde stromadaki kollajen lamellerde, Descemet membranı ve endoteldeki keratositlerde anormal glikozaminoglikan birikimleri bildirilmiştir.⁸ Keratositlerdeki bu anormal birikimler membran ile çevrili intrasitoplazmik vakuoller içinde görülen elektron-yoğun fibrogranüler materyal birikimler olarak tanımlanmıştır.⁹ Histolojik olarak bu anormalliklerin korneal glikozaminoglikan metabolizmasındaki bozukluklarla, özellikle de hücre içi ve hücre dışı anormal birikimlerin görüldüğü KS metabolizmasındaki bozukluklarla ilişkili olduğu bildirilmiştir.¹⁰



RESİM 4: İleri derecede dejenere olan keratosit geçirimli elektron mikroskop görüntüsü.
Yıldız; Düzensizleşmiş kollajen demetleri, Ok; Keratosit çekirdeği, Ok başı; Vakuol, Bar; a) 2.500 nm, b) 1.000 nm.



RESİM 5: Nüks maküler kornea distrofisinde geçirimli elektron mikroskop görüntüsü.
Yıldız; Düzensizleşmiş kollajen demetleri, Ok; Keratosit çekirdeği, Ok başı; Vakuol, İnce ok; Elektron yoğun fibrogranüler, Bar: 1.000 nm Bar: 1.000 nm.

Bu çalışmada, nüks MKD nedeni ile rekeratopasti uygulanan bir olgunun kornea dokusundaki histopatolojik değişiklikler değerlendirilmiştir. Işık mikroskopisinde epitel hücreleri arasında, özellikle stromaya yakın komşuluktaki alanlarda birikimler ile stromada bulunan kollajen lamellerde düzensizlik ve granüler materyal birikimleri saptanmıştır. TEM incelemelerinde ise stroma lamellerinde düzensizleşme, keratositler içerisinde elektron-yoğun fibrogranüler materyal birikimleri ve zar ile çevrili vakuoller izlenmiştir. Bu bulgular, nüks MKD hastalarının primer MKD hastalarıyla benzer histopatolojik özelliklere sahip olduğunu desteklemektedir.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Nilüfer Yalçındağ, Belgin Can; **Tasarım:** Nilüfer Yalçındağ, Belgin Can; **Denetleme/Danışmanlık:** Nilüfer Yalçındağ, Belgin Can; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Nilüfer Yalçındağ, Serdar Bilici; **Analiz ve/veya Yorum:** Belgin Can, Hilal Göktürk; **Kaynak Taraması:** Serdar Bilici, Hilal Göktürk, Pınar Bayram; **Makalenin Yazımı:** Serdar Bilici; **Eleştirel İnceleme:** Deniz Billur; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AD'na ait laboratuvar kaynakları kullanılmıştır. Herhangi bir kurum/kuruluştan fon/destek alınmamıştır; **Malzemeler:** Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AD'na ait laboratuvar malzemeleri kullanılmıştır.

KAYNAKLAR

- McTigue JW. The human cornea: a light and electron micro-scopic study of the normal cornea and its alterations in various dystrophies. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1967;65: 591-660.
- Akama TO, Nishida K, Nakayama J, Watanabe H, Ozaki K, Nakamura T, et al. Macular corneal dystrophy type I and type II is caused by distinct mutations in a new sulphotransferase gene. *Nat Genet* 2000;26(2):237-41.
- Akhtar S, Alkatan HM, Kirat O, Khan AA, Al-mubrad T. Collagen fibrils and proteoglycans of macular dystrophy cornea: ultrastructure and 3D transmission electron tomography. *Microsc Microanal* 2015;21(3):666-79.
- Mannis MJ, De Sousa LB, Gross RH. The stromal dystrophies. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, eds. 1st ed. *Cornea*. St. Louis: Mosby; 1997. p.1043-62.
- Marcon AS, Cohen EJ, Rapuano CJ, Laibson PR. Recurrence of corneal stromal dystrophies after penetrating keratoplasty. *Cornea* 2003;22(1):19-21.
- Klintworth GK, Reed J, Stainer GA, Binder PS. Recurrence of macular corneal dystrophy within grafts. *Am J Ophthalmol* 1983;95(1):60-72.
- Akova YA, Kirkness CM, McCartney AC, Ficker LA, Rice NS, Steele AD. Recurrent macular corneal dystrophy following penetrating keratoplasty. *Eye (Lond)* 1990;4(Pt 5):698-705.
- Snip RC, Kenyon KR, Green WR. Macular corneal dystrophy: ultrastructural pathology of corneal endothelium and Descemet's membrane. *Invest Ophthalmol* 1973;12(2):88-97.
- Klintworth GK, Vogel FS. Macular corneal dystrophy. An inherited acid mucopolysaccharide storage disease of the corneal fibroblast. *Am J Path* 1964;45(4):565-86.
- Weiss JS, Møller HU, Lisch W, Kinoshita S, Aldave AJ, Belin MW, et al. The IC3D classification of the corneal dystrophies. *Cornea* 2008;27(Suppl 2):S1-83.