

Keratokonus Etiyopatogenezinde Güncel Gelişmeler: Oksidatif Stres, İnflamasyon ve Apoptoz

New Developments in the Etiopathogenesis of Keratoconus: Oxidative Stress, Inflammation and Apoptosis

Özge SARAÇ,^a
Nurullah ÇAĞIL^a

^aGöz Hastalıkları Kliniği,
Yıldırım Beyazıt Üniversitesi
Ankara Atatürk Eğitim ve
Araştırma Hastanesi,
Ankara

Received: 31.03.2017
Received in revised form: 08.06.2017
Accepted: 21.08.2017
Available online: 24.04.2018

Correspondence:
Özge SARAÇ
Yıldırım Beyazıt Üniversitesi
Ankara Atatürk Eğitim ve
Araştırma Hastanesi,
Göz Hastalıkları Kliniği, Ankara,
TÜRKİYE/TURKEY
drozgesarac@gmail.com

ÖZET Keratokonusun etiyojisi bugün için hâlâ tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte; keratokonusun gelişiminde heredite, mekanik travma, korneada enzim değişiklikleri ve keratosit apoptozunun rolü son yıllarda yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Keratokonik kornealarda lipid peroksidasyonu ve/veya nitrik oksit yolunda görevli enzimlerin anormal veya hasarlı olması oksidatif strese yola açarak, oksidatif ve sitotoksik yan ürünlerin birikimine ve kornea proteinlerinde yapısal değişime neden olmaktadır. Artmış oksidatif stres keratokonusta proteinaz inhibitörlerinin azalmasına ve matris metalloproteinazlar (MMP) gibi proteinazların aktivitesinin ise artmasına neden olmaktadır. Bu olayların sonucunda apoptoz, enzim aktivitelerinde değişim ve fibroz gelişebilmektedir. Korneadaki kollajenin üretimi ve yapılıncısından sorumlu keratositlerdeki apoptoz korneadaki incelmeyi nedenlerinden biri olarak gösterilmektedir. Ayrıca, apoptoz ile ilişkili lökosit ortak antijeni ile ilişkili protein, SFRP1, TIMP-3/TIMP-1 oranı ve katepsin seviyelerinin keratokonusta arttığı gösterilmiştir. Ek olarak, keratokonuslu gözlerde gözyaşı ve oküler yüzeyde inflamatuvar mediyatörler sağlıklı gözlerle göre anlamlı oranda yüksek, antiinflamatuvar mediyatörler ise düşük bulunmaktadır. İnflamatuvar mediyatörlerden interlökin (IL)-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-17, tümör nekrozis faktör alfa ve tümör nekrozis faktör beta keratokonusun hastalarının gözyaşlarında sağlıklı gözlerle göre yüksek oranlarda bulunmaktadır. Antiinflamatuvar mediyatörlerden lipofilin A ve C ise keratokonuslu hastaların gözyaşlarında normal gözlerle göre daha düşük seviyelerdedir. Bu bulgular keratokonusun etiyopatogenezinde inflamasyonun yerinin de oldukça önemli olduğunu göstermektedir. Bu nedenle keratokonusun hastalığının tanınmasını yapar iken, inflamatuvar olmayan terimini kullanmak günümüzde pek de doğru olmayacaktır. Tüm bu bulgular ışığında, keratokonusun artan oksidatif strese bağlı olarak gelişen apoptotik, yarı inflamatuvar bir hastalık olduğu söylenebilmektedir. Ancak günümüzde hâlâ hastalığı önlemek veya yeni tedavi seçenekleri geliştirmek açısından keratokonusun patofizyolojisinde yanıtlanmayı bekleyen birçok soru mevcuttur.

Anahtar Kelimeler: Keratokonusun; oksidatif stres; inflamasyon; apoptoz

ABSTRACT Although the exact etiology of keratoconus has not been clarified yet, recent studies have shown the roles of hereditary factors, mechanical trauma, corneal enzyme alterations, and keratocyte apoptosis in the development of keratoconus. In keratoconic corneas, the alterations in the lipid peroxidation and/or nitric oxide pathway enzymes cause oxidative stress, which results in the accumulation of oxidative and cytotoxic side products and changes in the structure of corneal proteins. Damage or abnormality of enzymes in lipid peroxidation or nitric oxide pathways in keratoconic corneas causes oxidative stress, which further leads to accumulation of oxidative and cytotoxic byproducts, which then leads to structural changes in corneal proteins. Increased oxidative stress in keratoconus causes downregulation of proteinase inhibitors and upregulation of proteinases such as matrix metalloproteinases (MMP). After these events, apoptosis, altered enzymatic activities, and fibrosis may occur. Apoptosis of keratocytes which are responsible from production and remodelling of corneal collagen has been indicated as one of the reasons of corneal thinning. Besides, leukocyte antigen related protein, SFRP1, TIMP-3/TIMP-1 and cathepsin levels, all of which are related with apoptosis, have been shown to increase in keratoconus. Additionally, the inflammatory mediators on the ocular surface and in tearfilm of keratoconic eyes are significantly higher and antiinflammatory mediators are lower when compared to healthy eyes. Inflammatory mediators interleukin (IL)-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-17, tumor necrosis factor alpha and tumor necrosis factor beta have been found at high levels in tears of keratoconus patients. Antiinflammatory mediators lipophilin A and C were found to be lower than normal in tears of keratoconus patients. These findings revealed the importance of inflammation in the etiopathogenesis of keratoconus. For this reason, it is not proper to use the term "non-inflammatory" when defining keratoconus. Considering present findings in the literature, it can be defined as a semi-inflammatory, apoptotic disease which develops due to increased oxidative stress. However, there are still many questions remaining to be answered in order to prevent its development or offer new treatment options.

Keywords: Keratoconus; oxidative stress; inflammation; apoptosis

Keratokonus bilateral, asimetric korneal incelme, incelen alanın koni şeklinde protrüzyonu ve buna bağlı olarak gelişen miyopi ve düzensiz astigmatizma ile karakterize bir hastalıktır.^{1,2} Her iki cinsiyeti de eşit oranda etkileyen bu ektatik kornea hastalığının toplumda görülme sıklığı yaklaşık 1:2.000'dir.¹ Keratokonusun histopatolojik olarak korneanın hemen hemen tüm katlarını etkilediği gözlenmiştir. Histopatolojik düzeydeki karakteristik yapısal değişiklikler ise epitel bazal membran fragmantasyonu, Bowman membranında gelişebilen yırtıklar, stromada incelme ve skarlaşmadır.³⁻⁶

Keratokonusun etiyojisi bugün için hâlâ tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Hem genetik hem de çevresel etkenlerin etiyojide ve patogeneze rol oynadığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Elde edilen bilgiler ışığında, hastalığın etiyojisinin çok nedenli bir fenotipik dışa vurum olduğu düşünülmektedir. Son yıllarda keratokonus gelişiminde heredite, mekanik travma, korneada enzim değişiklikleri ve keratosit apoptozunun rolü olduğu varsayılarak birleştirilmiş bir hipotez olan kaskad (şelale) hipotezi ileri sürülmüştür.⁷ Bu hipoteze göre, keratokonus korneadaki lipit peroksidasyonu ve/veya nitrik oksit yolunda görevli enzimlerin anormal veya hasarlı olması oksidatif strese yol açarak, olayların birbirini tetikleyerek akmaya başlamasına neden olmaktadır. Artan oksidatif yüklerle birlikte oksidatif, sitotoksik yan ürünler birikerek kornea proteinlerinin değişimine neden olacak ve apoptoz, değişen enzim aktivite ve fibroz gelişimi şeklinde seyredecektir.⁷

Atopi, göz ovuşturma ve kontakt lens kullanımını keratokonus gelişimine eşlik eden çevresel mekanik faktörler arasında yer almaktadır.⁸⁻¹¹ Göz ovuşturma ve kontakt lens kullanımı ile keratokonus progresyonu arasında pozitif bir ilişki mevcuttur.⁸⁻¹⁰ Genetik açıdan ise etiyojide tek bir geni suçlamak mümkün değildir. Bugün için henüz tam olarak çözümlenememiş karmaşık bir genetik yapının keratokonusa etken olabileceği düşünülmektedir. Keratokonuslu hastalar üzerinde yapılan genetik çalışmalarda birçok şüpheli gen saptanmıştır. Görsel sistem homeobox 1 geni *VSX1*, süperoksit dismutaz 1 geni (*SOD1*) ve *COL4A3*, *COL4A4*,

HGF, *RAB3GAP1*, *LOX* genleri saptanan genlerdendir.¹²⁻¹⁷

Bu çalışmada, keratokonus etiyojogenesinde bugün için üzerinde en çok durulan mekanizmalardan olan oksidatif stres, inflamasyon ve apoptoz konularının ayrı başlıklar altında irdelenmesi amaçlanmıştır.

OKSİDATİF STRES

Oksidatif stres, son yıllarda hücre temelli yapılan araştırmalarda, keratokonusun fizyopatolojisinde ortaya çıkan ektatik değişikliğin en önemli nedeni olarak gösterilmektedir.¹⁸⁻²¹ Keratokonuslu bir korneada stromal kalınlığın normal bir korneaya göre daha ince olduğu bilinmektedir. Bu durumun keratokonusu proteinaz inhibitörlerinin azalması ve matriks metalloproteinazlar (MMP) gibi proteinazların aktivitesinin ise artmasına bağlı olduğu düşünülmektedir.²²⁻²⁶ Keratokonusu proteinazların aktivitesinde artış görülmesinin nedeni çoğunlukla bu hastalarda gelişen oksidatif strese bağlıdır.²¹ Oksidatif stres, oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar lehine bozulması olayıdır. Denge oksidanlar lehine dönünce gelişen bir dizi reaksiyon sonrası hücre hasarı, hücre membranlarında lipit peroksidasyonu, proteinlerde oksidatif değişiklikler ve DNA'da oksidatif hasar gelişimi gözlenebilmektedir.²⁷

Kornea, göze ulaşan morötesi (UV) ışınlardan kısa dalga boylu (295-320 nm) UV-B'nin %80'ini, uzun dalga boylu (320-400 nm) UV-A'nın ise %34'ünü absorbe eden bir dokudur.²⁸ UV ışınlarına maruz kalmanın dokuda serbest radikal ve reaktif oksijen metabolitleri oluşumunu artırdığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.²⁹ Kornea uzun ve kısa dalga boylu morötesi ışınlarına ve atmosferik oksijene fazla miktarda maruz kaldığı için oksidatif reaksiyonlar ve oksidatif stres bu dokuda fazla miktarlarda görülmektedir.^{28,30,31}

Sağlıklı bir korneada reaktif oksijen türleri [reactive oxygen species (ROS)] hücre hasarı yapmadan doğal antioksidan enzimlerce ortadan kaldırılır iken, keratokonuslu bir korneada bu ürünler hücre hasarı yapabilmektedir.^{18,32,33} Katalaz, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismu-

taz korneada bulunan antioksidan enzimlerin başlıcalarıdır.³⁴⁻³⁶ Tipik olarak serbest radikaller ve aktif oksijen türleri bu antioksidan enzimler ile biyokimyasal etkileşimle korneadan uzaklaştırılmaktadır. Alternatif olarak kalan serbest radikaller oldukça yıkıcı ve toksik olan lipid peroksidaz ve aldehit formuna geçebilmektedir. ROS'nin enzimatik yıkımının azalmasına bağlı olarak dokuda artması lipid peroksidasyonuna ve aldehit oluşumunun artmasına yol açmaktadır.^{37,38} Bu durumda malondialdehit, 4-hidroksil-2, 3-transnonenal gibi reaktif aldehitlerin salınımının artması ile hücre membranında değişiklikler gerçekleşmektedir.^{39,40} Reaktif aldehitler kovalent olarak protein ve DNA'ya bağlanabilmekte ve gen ekspresyonunu ve proliferasyonunu etkileyebilmektedirler.⁴¹ Lizozomal zarlar ve hücre zarı da aldehitlerin hedefleri arasında yer almaktadır. Lizozomal zarların hasarlanması ile lizozomal enzimler açığa çıkmakta ve hücre yıkımı başlamış olmaktadır. Normal olarak kornea kendini aldehit dehidrojenaz (ALDH) enzimi ile bu aldehitlerden korumaktadır. ALDH enzimleri, doğrudan UV ışınlarını soğurmakta, yükseltgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat üretmekte ve UV ile tetiklenmiş lipid peroksidasyonu sonucu ortaya çıkan toksik aldehitleri ortadan kaldırmaktadır.⁴² ALDH kornea hücrelerinde protein içeriğinin %20-40'ını oluşturmaktadır.³⁶ Keratokonuslu kornealarda sağlıklı kornealara göre ALDH-3 miktarının ve aktivitesinin daha düşük, destrüktif aldehit seviyesinin ise daha yüksek olduğu saptanmıştır.³⁶

Arnal ve ark.nın çalışmasında, normal kornealara göre keratokonik kornealarda antioksidan kapasitesinin ve glutatyon miktarının azaldığı, lipid peroksidasyonunun ise arttığı saptanmıştır.¹⁸ Chwa ve ark. ise keratokonuslu korneaların stromal fibroblast kültürlerinde süperoksit seviyelerinin yüksek düzeylerde olduğunu, ROS ve reaktif nitrojen türleri [reactive nitrogen species (RNS)]'nin üretiminin ise arttığını gözlemlemişlerdir.²⁰ Yine yapılan bir çalışmada, keratokonuslu kornealarda ana antioksidan enzimlerden biri olan katalaz RNA seviyesinin ve aktivitesinin normal kornealara göre yüksek olduğu saptanmıştır.³⁵ Katalaz dışındaki antioksidan enzimlerden katepsin B, G ve V/L2'nin

ve glutatyon S-transferaz aktivitesinin de arttığı yine aynı çalışmada bildirilmiştir.³⁵

Yüksek düzeylerde endotelial nitrik oksit sentaz, keratokonuslu kornealarda Bowman tabakasının kırık olduğu bölgelerde saptanmıştır.⁴²

Keratokonuslu hastaların gözyaşlarında ise glutatyon miktarının normal hastaların gözyaşına göre düşük, ROS miktarının ise yüksek olduğu gözlenmiştir.⁴³ Bu bulgular da keratokonuslu oksidatif stresin rolünü desteklemektedir. Sonuçta keratokonuslu kornealarda antioksidan savunma mekanizmalarının azalması, ROS ve RNS seviyelerinin ise artması yıkıcı enzimlerin miktarını ve aktivitelerini artırarak korneada kollajen sentezini azaltabilmekte ve stromal incelmeye neden olabilmektedir. Bu yıkıcı enzimlerden başlıcaları; gelatinaz (MMP-9), kollajenaz (MMP 1,2,13), stromelizin (MMP 3,10,11), membranöz tip MMP olup, yapılan araştırmalarda keratokonik kornealardan hazırlanmış kornea kültürlerinde yüksek oranda saptanmıştır.^{22-24,44} Apoptoz bölümünde bahsedeceğimiz MMP inhibitörü olarak görev yapan doku matriks metalloproteinaz inhibitörleri [tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)]'nin de keratokonuslu kornealarda seviyelerinin azalmış olarak saptanması araştırmacıları, keratokonus progresyon kontrolünde proteaz inhibitörlerinin kullanılabileceği yönünde çalışmalara sevk etmiştir.

Keratokonik kornealarda normal kornealara göre artmış oranlarda mitokondriyal DNA (mtDNA) hasarı mevcuttur.¹⁹ mtDNA iç mitokondriyal zarın yakınında, ROS üretim bölgesinin komşuluğunda yer almaktadır. Keratokonuslu hastalarda görülen artmış mtDNA hasarı artmış oksidasyona bağlanmaktadır.¹⁹ Bu hastalarda gelişebilen mtDNA'nın protein kodlayan bölgesinin hasarı oksidatif fosforilasyonu etkileyebilmektedir. Oksidatif fosforilasyon proteinlerinin ekspresyonlarındaki farklılıklar ROS ve RNS üretimini artırabilmekte ve daha fazla miktarlarda oksidatif strese neden olabilmektedir.¹⁹

Keratokonuslu hastalarda oksidatif stresin sistemik olarak da arttığı gösterilmiştir. Toprak ve ark.nın çalışmasında, serum toplam oksidasyon seviyesi (TOS) ve antioksidasyon belirleyicileri keratokonuslu hastalarda araştırılmış ve normal

bireylere göre TOS miktarı oldukça yüksek olarak saptanmıştır.⁴⁵ Yine aynı çalışmada, serum oksidatif stres indeksi keratokonuslu hastalarda daha yüksek bulunmuştur. Bu bulgular da keratokonus etiopatogenezinde oksidatif stresin rolünü desteklemektedir.

İNFLAMASYON

Keratokonus son yıllara kadar inflamatuvar olmayan bir ektatik kornea hastalığı olarak sınıflandırılmakta idi. Günümüzde ise inflamasyonun keratokonus etiopatogenezinde önemli rol oynadığı yapılan birçok araştırmayla gösterilmiştir.⁴⁶⁻⁵⁵ Keratokonuslu gözlerde ağrı, ısı artışı, kızarıklık ve ödem gibi inflamasyonun klinik bulguları gözlenmemekte fakat gözyaşı ve oküler yüzeyde inflamatuvar mediyatörler sağlıklı gözlere göre anlamlı oranda yüksek, antiinflamatuvar mediyatörler ise düşüktür.⁴⁶⁻⁵⁵

Yapılan çalışmalarda, antiinflamatuvar proteinlerden lipofilin A ve C keratokonuslu hastaların gözyaşlarında normal gözlere göre daha düşük saptanmıştır.⁵⁶ İnflamatuvar sitokinlerden ise interleükin (IL)-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-17, tümör nekrozis faktör (TNF)- α ve TNF- β keratokonus hastalarının gözyaşlarında sağlıklı gözlere göre yüksek oranlarda bulunmuştur.⁵⁷⁻⁶⁴

Keratokonuslu kornealarda çoğunlukla travma ve inflamasyonda artış gösteren IL-1 α ve IL-1 β ekspresyonunun arttığı saptanmıştır.^{52,57,58} Kornea epiteli; travma, doku hasarı veya apoptoz sonrası IL-1 salgılamaktadır.⁶⁵ IL-1 α ve IL-1 β apoptozu indüklemektedir. Ayrıca, IL-1 α 'nın keratokonuslu gözlerde oksidatif strese bağlı gelişen hasarda önemli oranda rol aldığı düşünülmektedir.⁶⁶ Kültüre edilen keratokonik korneanın stroma hücrelerinde IL-1 α 'nın süperoksit dismutaz enziminin sentezini azalttığı gösterilmiştir.⁵⁹

Korneada dendritik hücreler, makrofajlar, T-hücreleri ve endotelial hücreler tarafından salgılanan IL-6'nın da keratokonus etiopatogenezinde oldukça önemli rolü olduğu düşünülmektedir.^{47,50,60,61} IL-6 enfeksiyon eradikasyonu ve yara iyileşmesinde etkili bir mediyatördür.⁶⁷ Keratokonuslu gözlerde IL-6 artışı genellikle kontakt lens kullanımı, atopi ve göz kaşıma ile ilişkilendiril-

mektedir.⁶⁸⁻⁷¹ Hastalığın ciddiyeti ile değişim göstermediği belirlenmiştir.⁷¹

IL-17, keratokonusa arttığı saptanan proinflamatuvar sitokinlerden bir diğeridir. Korneanın stromal hücrelerini IL-6, IL-8 ve hücreler arası adezyon molekülü-1 gibi diğer proinflamatuvar sitokinleri ve MMP gibi proteinazları salgılanması için uyarmaktadır.^{72,73} Korneada doku hasarını artırarak keratokonusun ciddiyeti ile orantılı olarak seviyesi artmaktadır.⁶² TNF- α korneal inflamasyonda ana rol oynayan patojenik mediyatörlerdendir. Keratokonusa gözyaşı ve korneada arttığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.^{47,50,53,54,63} IL-17 gibi MMP'lerin salınımını uyarıcı etkisi bulunmaktadır. Keratokonusa gözlenen kornea incelmelerinde IL-17 ile birlikte sorumlu olduğu düşünülmektedir.⁴⁷

Keratokonik korneada hangi hücreler tarafından salgılandığı bilinmemekle birlikte esas kaynağı epitel hücreleri, stromal keratositler ve endotel hücreleridir.⁷⁴

Keratokonuslu hastaların gözyaşlarında laktoferrin, immünglobulin A (IgA), çinko- α 2-glikoprotein ve Ig K-zinciri seviyelerinin normale göre düşük olduğu saptanmıştır.⁷⁵ Laktoferrin ve IgA'nın immünomodülasyon ve antiinflamatuvar özellikleri bulunmaktadır. Laktoferrin IL-1, IL-2, IL-6 ve TNF- α 'yı inhibe etmektedir. IgA ise Fc α RI reseptörü aracılığı ile immün yanıtı baskılamaktadır.⁷⁵ Gaskin ve ark. tarafından keratokonik kornealarda yapılan immünohistokimyasal analizde; kornea epiteli ve stromasında lökosit, makrofaj ve antijen sunan hücreler saptanmış ve keratokonusa kronik inflamatuvar bir reaksiyonun olduğu yorumu yapılmıştır.⁷⁶

Keratokonus etiopatogenezinde lokal inflamasyonun yanı sıra sistemik inflamatuvar faktörlerin de rol oynayabileceği düşünülmektedir. Sistemik inflamasyon belirleyicilerinden olan toplam nötrofil sayısının lenfosit sayısına oranı ile belirlenen nötrofil-lenfosit oranının progresif keratokonuslu hastalarda arttığı Karaca ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada gösterilmiştir.⁷⁷

APOPTOZ

Keratokonus etiopatogenezinde rol oynadığı düşünülen diğer bir mekanizma da apoptozdur. Kerato-

konusta apoptoz sıklıkla korneal kollajenin üretimi ve yapılanmasından sorumlu keratositlerde görülmektedir.⁷⁸ Ön stroma başta olmak üzere, korneanın diğer tabakalarında da artmış apoptoz izlenmiştir.⁷⁸ Keratokonusta artmış keratosit apoptozunun bazı sitokinlerin ve enzimlerin aktivasyonu ve/veya inhibisyonuyla birlikte stromada inceltme ve ilerleyici ektaziye neden olduğu ileri sürülmüştür.⁶⁸

Gen ekspresyon çalışmalarında, keratokonusta normal ve diğer hastalıklı kornealarda olmayan farklı bir enzim olan lökosit ortak antijeni ile ilişkili protein seviyesinin arttığı, apoptozu inhibe ederek hücre büyümesini artıran TIMP-1'in seviyesinin ise azaldığı bildirilmiştir.⁷⁹ Matthews ve ark., TIMP-1 ve 3 dengesizliğinin keratosit apoptozunu artırdığını göstermişlerdir.⁸⁰ Keratokonusta arttığı bilinen katepsinler de apoptotik hücre ölümünü tetiklemektedirler.⁸¹ Kronik irritasyona bağlı olarak da keratosit apoptozu artmaktadır.^{78,81} Keratokonus etiolojisinde suçlanan göz ovalama, kontakt lens kullanımı gibi mekanik faktörlerin kronik epitel hasarı oluşturarak kornea epitelinden apoptoz indükleyici sitokinlerin salınımını uyardığı düşünülmektedir.⁸²

Yapılan bir çalışmada, keratosit apoptozunda rol alan FAS mekanizmasının keratokonusta koni bölgesinde daha belirgin olduğu gösterilmiştir.⁸³ Ayrıca, FasL yapımını indükleyen IL-1 reseptörlerinin keratokonik kornealarda normal kornealara göre 4 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir.⁸⁴ Fibroblast doku kültürlerinin kullanıldığı bir çalışmada, düşük pH'de bırakılan keratokonus hastalarından alınan keratositlerin normal korneal keratositlere göre daha çok apoptoza gittiği saptanmıştır.²⁰ Ayrıca hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarda, TIMP-3/TIMP-1 oranı keratokonuslu kornealarda yüksek bulunmuş, TIMP-3'ün apoptozu indüklediği ve TIMP-1'in apoptozu azalttığı gözlenmiştir.⁸⁰ Keratokonusta apoptotik hücre membranından sentezlenen CD95 normal kornealara göre 8 kat fazla eksprese edilmektedir.⁸⁵ Yine son yıllarda yapılan çalışmalarda hücre gelişimi, farklılaşması ve apoptoz ile ilgili wnt sinyal yolağının düzenleyicileri olan SFRP'lerin keratokonus etiolojisindeki önemine dikkat çekilmiştir.^{86,87} Apoptozu düzenleyen SFRP1 proteininin gen ekspresyon miktarının da keratokonus hastalarında

arttığı saptanmıştır.⁸⁶ SFRP1'den SFR P5'e kadar tüm SFRP kompleksinin keratokonik kornealarda normal kornealara göre daha fazla sentezlendiği bildirilmiştir.⁸⁷

SONUÇ

Keratokonus patofizyolojisi bugün için henüz tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte yapılan çalışmalar ışığında varılan nokta; keratokonusun genetik olarak yatkın kişilerde endojen ve ekzojen faktörler aracılığı ile artan oksidatif strese bağlı olarak gelişen apoptotik, yarı inflamatuvar bir hastalık olduğudur. İnflamatuvar mediyatörlerin keratokonustaki rolü son yıllarda yapılan araştırmalarla göz önüne serilmiştir. Bu nedenle, keratokonus hastalığının tanınımı yaparken yıllardır süregelen inflamatuvar olmayan terimi kullanılmamalıdır. Oksidatif stres, inflamasyon ve apoptozun keratokonus etiopatogenezindeki rolü, hastalığı önlemek veya yeni tedavi seçenekleri geliştirmek açısından geniş hasta gruplarını içeren çalışmalarla detaylı olarak araştırılmalıdır. Gelişmiş teknoloji ve araştırma imkânlarına rağmen, günümüzde keratokonus patofizyolojisinde hâlâ çözümlenmeyi bekleyen birçok soru bulunmaktadır.

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: Özge Saraç; **Tasarım:** Özge Saraç, Nurullah Çağlı; **Denetleme/Danışmanlık:** Özge Saraç; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Özge Saraç; **Analiz ve/veya Yorum:** Özge Saraç, Nurullah Çağlı; **Kaynak Taraması:** Özge Saraç; **Makalenin Yazımı:** Özge Saraç; **Eleştirel İnceleme:** Nurullah Çağlı; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Özge Saraç.

KAYNAKLAR

1. Rabinowitz YS. Keratoconus. *Surv Ophthalmol* 1998;42(4):297-319.
2. Krachmer JH, Feder RS, Belin MW. Keratoconus and related noninflammatory corneal thinning disorders. *Surv Ophthalmol* 1984;28(4):293-322.
3. Sawaguchi S, Fukuchi T, Abe H, Kaiya T, Sugar J, Yue BY. Three-dimensional scanning electron microscopic study of keratoconus corneas. *Arch Ophthalmol* 1998;116(1):62-8.
4. Sherwin T, Brookes NH. Morphological changes in keratoconus: pathology or pathogenesis. *Clin Exp Ophthalmol* 2004;32(2):211-7.
5. Takahashi A, Nakayasu K, Okisaka S, Kanai A. [Quantitative analysis of collagen fiber in keratoconus]. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 1990;94(11):1068-73.
6. Fullwood NJ, Tuft SJ, Malik NS, Meek KM, Ridgway AE, Harrison RJ. Synchrotron x-ray diffraction studies of keratoconus corneal stroma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992;33(5):1734-41.
7. Cristina Kenney M, Brown DJ. The cascade hypothesis of keratoconus. *Cont Lens Anterior Eye* 2003;26(3):139-46.
8. Krachmer JH. Eye rubbing can cause keratoconus. *Cornea* 2004;23(6):539-40.
9. McMonnies CW. Abnormal rubbing and keratoconus. *Eye Contact Lens* 2007;33(6 Pt 1):265-71.
10. McMonnies CW. The biomechanics of keratoconus and rigid contact lenses. *Eye Contact Lens* 2005;31(2):80-92.
11. Erie JC, Patel SV, McLaren JW, Nau CB, Hodge DO, Bourne WM. Keratocyte density in keratoconus. A confocal microscopy study(a). *Am J Ophthalmol* 2002;134(5):689-95.
12. Grünauer-Kloevekov C, Duncker Gl. [Keratoconus: epidemiology, risk factors and diagnosis]. *Klin Monbl Augenheilkd* 2006;223(6):493-502.
13. Eran P, Almogit A, David Z, Wolf HR, Hana G, Yaniv B, et al. The D144E substitution in the VSX1 gene: a non-pathogenic variant or a disease causing mutation? *Ophthalmic Genet* 2008;29(2):53-9.
14. Gajicka M, Radhakrishna U, Winters D, Nath SK, Ryzdanicz M, Ratnamala U, et al. Localization of a gene for keratoconus to a 5.6-Mb interval on 13q32. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(4):1531-9.
15. Zhang J, Zhang L, Hong J, Wu D, Xu J. Association of common variants in LOX with keratoconus: a meta-analysis. *PLoS One* 2015;10(12):e0145815.
16. Burdon KP, Macgregor S, Bykhovskaya Y, Javadiyan S, Li X, Laurie KJ, et al. Association of polymorphisms in the hepatocyte growth factor gene promoter with keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(11):8514-9.
17. Sahebjada S, Schache M, Richardson AJ, Snibson G, Daniell M, Baird PN. Association of the hepatocyte growth factor gene with keratoconus in an Australian population. *PLoS One* 2014;9(1):e84067.
18. Arnal E, Peris-Martínez C, Menezo JL, Johnsen-Soriano S, Romero FJ. Oxidative stress in keratoconus? *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(12):8592-7.
19. Atilano SR, Coskun P, Chwa M, Jordan N, Reddy V, Le K, et al. Accumulation of mitochondrial DNA damage in keratoconus corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(4):1256-63.
20. Chwa M, Atilano SR, Reddy V, Jordan N, Kim DW, Kenney MC. Increased stress-induced generation of reactive oxygen species and apoptosis in human keratoconus fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(5):1902-10.
21. Chwa M, Atilano SR, Hertzog D, Zheng H, Langberg J, Kim DW, et al. Hypersensitive response to oxidative stress in keratoconus corneal fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(10):4361-9.
22. Collier SA, Madigan MC, Penfold PL. Expression of membrane-type 1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP) and MMP-2 in normal and keratoconus corneas. *Curr Eye Res* 2000;21(2):662-8.
23. Seppälä HP, Määttä M, Rautia M, Mackiewicz Z, Tuisku I, Tervo T, et al. EMMPRIN and MMP-1 in keratoconus. *Cornea* 2006;25(3):325-30.
24. Predović J, Balog T, Marotti T, Gabrić N, Bohac M, Romac I, et al. The expression of human corneal MMP-2, MMP-9, proMMP-13 and TIMP-1 in bullous keratopathy and keratoconus. *Coll Antropol* 2008;32 Suppl 2:15-9.
25. Ahn CS, McMahon T, Sugar J, Zhou L, Yue BY. Levels of alpha1-proteinase inhibitor and alpha2-macroglobulin in the tear film of patients with keratoconus. *Cornea* 1999;18(2):194-8.
26. 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(12):4008-14.
27. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. 1. Baskı. Konya: Mimosza Yayınları; 1995. p.1-73.
28. Coroneo M. Ultraviolet radiation and the anterior eye. *Eye Contact Lens* 2011;37(4):214-24.
29. Wenk J, Brenneisen P, Meewes C, Wlaschek M, Peters T, Blanduschun R, et al. UV-induced oxidative stress and photoaging. *Curr Probl Dermatol* 2001;29:83-94.
30. Karai I, Horiguchi S. Pterygium in welders. *Br J Ophthalmol* 1984;68(5):347-9.
31. Brauchle M, Funk JO, Kind P, Werner S. Ultraviolet B and H2O2 are potent inducers of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes. *J Biol Chem* 1996;271(36):21793-7.
32. Behndig A, Svensson B, Marklund SL, Karlsson K. Superoxide dismutase isoenzymes in the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39(3):471-5.
33. Cejková J, Vejrazka M, Pláteník J, Stipek S. Age-related changes in superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase and xanthine oxidoreductase/xanthine oxidase activities in the rabbit cornea. *Exp Gerontol* 2004;39(10):1537-43.
34. Behndig A, Karlsson K, Johansson BO, Brännström T, Marklund SL. Superoxide dismutase isoenzymes in the normal and diseased human cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(10):2293-6.
35. Kenney MC, Chwa M, Atilano SR, Tran A, Carballo M, Saghizadeh M, et al. Increased levels of catalase and cathepsin V/L2 but decreased TIMP-1 in keratoconus corneas: evidence that oxidative stress plays a role in this disorder. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(3):823-32.
36. Gondhwiardjo TD, van Haeringen NJ. Corneal aldehyde dehydrogenase, glutathione reductase, and glutathione S-transferase in pathologic corneas. *Cornea* 1993;12(4):310-4.
37. Szabó C, Ohshima H. DNA damage induced by peroxynitrite: subsequent biological effects. *Nitric Oxide* 1997;1(5):373-85.
38. Murphy MP, Packer MA, Scarlett JL, Martin SW. Peroxynitrite: a biologically significant oxidant. *Gen Pharmacol* 1998;31(2):179-86.
39. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1991;11(1):81-128.
40. Gutteridge JM, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci* 1990;15(4):129-35.
41. Hashimoto M, Sibata T, Wasada H, Toyokuni S, Uchida K. Structural basis of protein-bound endogenous aldehydes. Chemical and immunochemical characterizations of configurational isomers of a 4-hydroxy-2-nonenal-histidine adduct. *J Biol Chem* 2003;278(7):5044-51.

42. Buddi R, Lin B, Atilano SR, Zorapapel NC, Kenney MC, Brown DJ. Evidence of oxidative stress in human corneal diseases. *J Histochem Cytochem* 2002;50(3):341-51.
43. Saijyothi AV, Fowjiana J, Madhumathi S, Rajeshwari M, Thennarasu M, Prema P, et al. Tear fluid small molecular antioxidants profiling shows lowered glutathione in keratoconus. *Exp Eye Res* 2012;103:41-6.
44. Maguen E, Rabinowitz YS, Regev L, Saghizadeh M, Sasaki T, Ljubimov AV. Alterations of extracellular matrix components and proteinases in human corneal buttons with INTACS for post-laser in situ keratomileusis keratectasia and keratoconus. *Cornea* 2008; 27(5):565-73.
45. Toprak I, Kucukatay V, Yildirim C, Kilic-Toprak E, Kilic-Erkek O. Increased systemic oxidative stress in patients with keratoconus. *Eye (Lond)* 2014;28(3):285-9.
46. Sorkhabi R, Ghorbanihaghjo A, Taheri N, Ahoor MH. Tear film inflammatory mediators in patients with keratoconus. *Int Ophthalmol* 2015;35(4):467-72.
47. Balasubramanian SA, Mohan S, Pye DC, Willcox MD. Proteases, proteolysis and inflammatory molecules in the tears of people with keratoconus. *Acta Ophthalmol* 2012;90(4): e303-9.
48. Engler C, Chakravarti S, Doyle J, Eberhart CG, Meng H, Stark WJ, et al. Transforming growth factor- β signaling pathway activation in keratoconus. *Am J Ophthalmol* 2011; 151(5):752-9.e2.
49. Maier P, Broszinski A, Heizmann U, Böhringer D, Reinhardau T. Active transforming growth factor-beta2 is increased in the aqueous humor of keratoconus patients. *Mol Vis* 2007;13:1198-202.
50. Jun AS, Cope L, Speck C, Feng X, Lee S, Meng H, et al. Subnormal cytokine profile in the tear fluid of keratoconus patients. *PLoS One* 2011;6(1):e16437.
51. Fabre EJ, Bureau J, Pouliquen Y, Lorans G. Binding sites for human interleukin 1 alpha, gamma interferon and tumor necrosis factor on cultured fibroblasts of normal cornea and keratoconus. *Curr Eye Res* 1991;10(7):585-92.
52. Zhou L, Yue BY, Twining SS, Sugar J, Feder RS. Expression of wound healing and stress-related proteins in keratoconus corneas. *Curr Eye Res* 1996;15(11):1124-31.
53. Lema I, Sobrino T, Durán JA, Brea D, Dí-ez-Feijoo E. Subclinical keratoconus and inflammatory molecules from tears. *Br J Ophthalmol* 2009;93(6):820-4.
54. Lema I, Durán JA. Inflammatory molecules in the tears of patients with keratoconus. *Ophthalmology* 2005;112(4):654-9.
55. Saghizadeh M, Chwa M, Aoki A, Lin B, Pirouzmanesh A, Brown DJ, et al. Altered expression of growth factors and cytokines in keratoconus, bullous keratopathy and diabetic human corneas. *Exp Eye Res* 2001;73(2): 179-89.
56. Acera A, Vecino E, Rodríguez-Agirretxe I, Aloria K, Arizmendi JM, Morales C, et al. Changes in tear protein profile in keratoconus disease. *Eye (Lond)* 2011;25(9):1225-33.
57. Bosnar D, Dekaris I, Gabrić N, Markotić A, Lazić R, Spoljarić N. Influence of interleukin-1alpha and tumor necrosis factor-alpha production on corneal graft survival. *Croat Med J* 2006;47(1):59-66.
58. Becker J, Salla S, Dohmen U, Redbrake C, Reim M. Explorative study of interleukin levels in the human cornea. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1995;233(12):766-71.
59. Olofsson EM, Marklund SL, Pedrosa-Domellöf F, Behndig A. Interleukin-1 alpha downregulates extracellular-superoxide dismutase in human corneal keratoconus stromal cells. *Mol Vis* 2007;13:1285-90.
60. Kolozsvári BL, Petrovski G, Gogolák P, Rajnavölgyi É, Tóth F, Berta A, et al. Association between mediators in the tear fluid and the severity of keratoconus. *Ophthalmic Res* 2014;51(1):46-51.
61. Fodor M, Kolozsvári BL, Petrovski G, Kettesy BA, Gogolák P, Rajnavölgyi E, et al. Effect of contact lens wear on the release of tear mediators in keratoconus. *Eye Contact Lens* 2013;39(2):147-52.
62. Wojcik KA, Blasiak J, Szafflik J, Szafflik JP. Role of biochemical factors in the pathogenesis of keratoconus. *Acta Biochim Pol* 2014; 61(1):55-62.
63. Pannebaker C, Chandler HL, Nichols JJ. Tear proteomics in keratoconus. *Mol Vis* 2010;16: 1949-57.
64. Saeed-Rad S, Raofian R, Mahbod M, MirafTAB M, Mojarad M, Asgari S, et al. Analysis of superoxide dismutase 1, dual-specificity phosphatase 1, and transforming growth factor, beta 1 genes expression in keratoconic and nonkeratoconic corneas. *Mol Vis* 2013;19: 2501-7.
65. West-Mays JA, Sadow PM, Tobin TW, Strissel KJ, Cintron C, Fini ME. Repair phenotype in corneal fibroblasts is controlled by an interleukin-1 alpha autocrine feedback loop. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38(7):1367-79.
66. Wilson SE, He YG, Weng J, Li Q, McDowall AW, Vital M, et al. Epithelial injury induces keratocyte apoptosis: hypothesized role for the interleukin-1 system in the modulation of corneal tissue organization and wound healing. *Exp Eye Res* 1996;62(4):325-7.
67. Ebihara N, Matsuda A, Nakamura S, Matsuda H, Murakami A. Role of the IL-6 classic- and trans-signaling pathways in corneal sterile inflammation and wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(12):8549-57.
68. Galvis V, Sherwin T, Tello A, Merayo J, Barrera R, Acera A. Keratoconus: an inflammatory disorder? *Eye (Lond)* 2015;29(7):843-59.
69. Balasubramanian SA, Pye DC, Willcox MD. Effects of eye rubbing on the levels of protease, protease activity and cytokines in tears: relevance in keratoconus. *Clin Exp Optom* 2013;96(2):214-8.
70. Sugar J, Macsai MS. What causes keratoconus? *Cornea* 2012;31(6):716-9.
71. Schultz CL, Kunert KS. Interleukin-6 levels in tears of contact lens wearers. *J Interferon Cytokine Res* 2000;20(3):309-10.
72. Maertzdorf J, Osterhaus AD, Verjans GM. IL-17 expression in human herpetic stromal keratitis: modulatory effects on chemokine production by corneal fibroblasts. *J Immunol* 2002;169(10):5897-903.
73. Gabr MA, Jing L, Helbling AR, Sinclair SM, Allen KD, Shamji MF, et al. Interleukin-17 synergizes with IFN γ or TNF α to promote inflammatory mediator release and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression in human intervertebral disc cells. *J Orthop Res* 2011;29(1):1-7.
74. Wisse RP, Kuiper JJ, Gans R, Imhof S, Radstake TR, Van der Lelij A. Cytokine expression in keratoconus and its corneal microenvironment: a systematic review. *Ocul Surf* 2015;13(4):272-83.
75. Balasubramanian SA, Pye DC, Willcox MD. Levels of lactoferrin, secretory IgA and serum albumin in the tear film of people with keratoconus. *Exp Eye Res* 2012;96(1):132-7.
76. Fan Gaskin JC, Loh IP, McGhee CN, Sherwin T. An immunohistochemical study of inflammatory cell changes and matrix remodeling with and without acute hydrops in keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56(10): 5831-7.
77. Karaca EE, Özmen MC, Ekici F, Yüksel E, Türkoğlu Z. Neutrophil-to-lymphocyte ratio may predict progression in patients with keratoconus. *Cornea* 2014;33(11):1168-73.
78. Kaldawy RM, Wagner J, Ching S, Seigel GM. Evidence of apoptotic cell death in keratoconus. *Cornea* 2002;21(2):206-9.
79. Chiplunkar S, Chamblis K, Chwa M, Rosenberg S, Kenney MC, Brown DJ. Enhanced expression of a transmembrane phosphotyrosine phosphatase (LAR) in keratoconus cultures and corneas. *Exp Eye Res* 1999;68(3):283-93.
80. Matthews FJ, Cook SD, Majid MA, Dick AD, Smith VA. Changes in the balance of the tissue inhibitor of matrix metalloproteinases (TIMPs)-1 and -3 may promote keratocyte apoptosis in keratoconus. *Exp Eye Res* 2007;84(6):1125-34.

81. Chwieralski CE, Welte T, Bühling F. Cathepsin-regulated apoptosis. *Apoptosis* 2006; 11(2):143-9.
82. Erie JC, Patel SV, McLaren JW, Nau CB, Hodge DO, Bourne WM. Keratocyte density in keratoconus. A confocal microscopy study(a). *Am J Ophthalmol* 2002;134(5):689-95.
83. Hasby EA, Saad HA. Immunohistochemical expression of Fas ligand (FasL) and neprilysin (neutral endopeptidase/CD10) in keratoconus. *Int Ophthalmol* 2013;33(2):125-31.
84. 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. *C R Acad Sci III* 1993;316(4):425-30.
85. Sevost'ianov EN, Giniatullin RU, Gorskova EN, Teplova SN. [Keratocyte apoptosis in keratoconus]. *Vestn Oftalmol* 2002;118(4):36-8.
86. Sutton G, Madigan M, Roufas A, McAvoy J. Secreted frizzled-related protein 1 (SFRP1) is highly upregulated in keratoconus epithelium: a novel finding highlighting a new potential focus for keratoconus research and treatment. *Clin Exp Ophthalmol* 2010;38(1):43-8.
87. You J, Wen L, Roufas A, Madigan MC, Sutton G. Expression of SFRP family proteins in human keratoconus corneas. *PLoS One* 2013;8(6):e66770.