

Makular Distrofili Üç Hastanın Kornealarının Penetran Keratoplasti Sonrası Elektron Mikroskobu ile İncelenmesi*

Avni Ceylan (*), İsmail Seçkin (**), Osman Şevki Arslan (***), M. İlker Toker (****), Güzin İskeleli (****)

ÖZET

Amaç: Makular distrofi kornealardaki değişiklikleri EM'si ile tespit etmek.

Gereç ve Yöntem: Korneal makular distrofi üç hastanın yaş ortalaması 36.66 idi. En iyi düzeltilmiş görmeleri preoperatif EH ve 3mps arasında değişiyordu. Hastaların ikisinin her iki gözüne, birisinin tek gözüne olmak üzere toplam 5 göze penetran keratoplasti operasyonu yapıldı. Hastaların en iyi düzeltilmiş sonuç görmeleri 4 gözde 10/10, bir gözde 9/10 du. Operasyon sırasında hastalardan elde edilen kornealar Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) ile incelendi.

Bulgular: Yüzeysel epitel hücrelerde mikrovillüslerde yer yer azalmalar görüldü. Epitelde bazal hücreler arasında interselüler sahada genişlemeler saptandı. Bazal hücrelerin bazal hücre membranları (BHM) bağ dokusuna doğru gelişmiş invajinasyonlar gösteriyordu. Kollajen lif demetlerinde kıvrılmalar, fibrositlerde belirgin mitokondriyel hipertrofi görüldü. Bağ dokusu içinde fazlaca granüllü endoplazmik retikulum (GER) içeren ve sık kollajen lif kıvrımları görülen aktif fibroblastlar yanında, son derece vakuolize olmuş sitoplazmik bir yapı göstermeyen dejenere pek çok fibrosit (keratosit) görüldü.

Sonuç: Fibrositlerdeki hücresel aktiviteyi artırarak fazla miktarda kollajen ve amorf hücreler arası maddenin sentezlenmesine neden olduğu ve fazlaca aktive olmuş hücrelerinde giderek nekroze oldukları düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Korneal makular distrofi, elektron mikroskobu

SUMMARY

The Examination of Three Patients Who Have Macular Corneal Dystrophy with the Electron Microscope After Penetrating Keratoplasty

Purpose: To determine the changes at the macular corneal dystrophy with EM.

Method: The average age of three patients who have macular corneal dystrophy was 36.66. The best corrected visual acuity of them was changing between CF at 0.3 meter and HM. 5 penetrating keratoplasty operations were made in total; two of them for both eyes of the two

(*) Ast. Dr., Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul

(**) Prof. Dr., İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Histoloji Anabilimdalı, İstanbul

(***) Prof. Dr., İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilimdalı, İstanbul

(****) Yrd. Doç. Dr., Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilimdalı

♦ 05-09 Ekim 2002 tarihinde Ankara'da yapılan TOD 36. Ulusal Oftalmoloji Kongresinde bilimsel poster olarak sunulmuştur.

Mecmuaya Geliş Tarihi: 14.11.2002
Düzeltilmeden Geliş Tarihi: 20.12.2002
Kabul Tarihi: 26.12.2002

patients, and one of them for one eye of the other patient. Best corrected visual acuity (BCVA) of the patients was 10/10 in 4 eyes and 9/10 in one eye. During the operation the corneas of the patients was examined with the transmission electron microscopy (TEM).

Results: Decreases of the microvilli of the superficial epithelial cells were seen at some locations. The enlargement of the intercellular fields between the basal cells of the epithelium was found. The basal cell membranes of the basal cells were showing random invaginations which were directed to the connective tissue. The folds in the collagen fibrillar clusters and mitochondrial hypertrophy in the keratocytes were seen. Active fibroblasts in the connective tissue which contained a lot of GER and collagen fibrillar folds as well as degenerated fibroblast (keratocytes) which were vacualized and didn't show any cytoplasmic structure were seen.

Conclusion: It was thought that the increase of the cellular activity causes the synthesis of abundant amount of collagen and amorphous material between the cells; and the hyperactivity leads to cellular necrosis.

Key Words: Macular corneal dystrophy, electron microscope

GİRİŞ

Korneal makular distrofi (KMD), kornea stromasında intraselüler ve ekstraselüler olarak depozitlerin birikmesi ve korneanın opaklaşmasıyla karakterize bir distrofidir. Üç klasik distrofiden makular distrofi en seyrek görülen ve de en ağır seyredenidir. Makular distrofi genellikle 3-9 yaşları arasında kornea merkezinde diffuz ince bulutlanmanın olması ile karakterizedir. Perifere uzanır ve yaşamın ikinci onyılında tüm kornea tutulmuş olur. Hastalık otozomal resesif geçişle aktarılır. Sporadik olarak gözlemlenebilir çünkü heterozigot taşıyıcılar korneal değişiklikleri göstermez (1). Makular distrofi kornealarda incelmeye olduğu pakimetri ile gösterilmiştir (2). Makular distrofi depo maddesinin farkına bağlı olarak en az iki belirgin heterojenite sergiler. Keratan sülfat negatif (TİP1), Keratan sülfat pozitif (TİP2)³ KMD'nin keratan sülfatın sentezlenmesindeki bir hatadan olduğu ve bu hatanın da zincirlerin omurgası olan laktoazaminoglikanın sülfatlanmasındaki özel bir sulfotransferazı etkilemiş olabileceği bildirilmiştir (4). Tip 1 en sık karşılaşılan tiptir, burada antijenik keratan sülfat korneada ve serumda bulunmamaktadır. Tip 2'de antijenik keratan sülfat kornea ve serumda bulunmaktadır. Tip1 KMD'deki keratanın sülfatlanmasındaki anormalliğin, korneada olduğu gibi kıkırdakta da mevcut olduğu ve bu hastalardaki bağ dokusu hücrelerinde sentezlenen keratan sülfatın tüm zincirlerinin biosentezinde kullanılan sulfotransferazların bir veya daha fazlasında sorun olduğu belirtilmiştir (5). İki tipte kromozom 16q22'yle ilişkilendirilmiştir (6). Son zamanlarda karbonhidrat sulfotransferaz geninde (CHST6) korneal makular distrofiye sebep olan yeni mutasyonlar belirlenmiştir (7).

GEREÇ ve YÖNTEM

Kornea birimimize başvuran ve makular korneal distrofi tanısı konulan hastalardan birincisi 44 yaşında

kadın hasta. 1988'de sağ penetro keratoplasti operasyonu uygulandı operasyon sonrası en iyi görmesi tashihle 9/10 du. İkincisi 24 yaşındaki erkek hastaydı, hastanın; 1999'da sağ gözüne 2000 yılında sol gözüne penetro keratoplasti ameliyatı uygulandı. Her iki gözde de görme 10/10'du. Üçüncü hasta 42 yaşında erkek hastaydı 2000 ve 2001'de korneal makular distrofi nedeniyle her iki gözüne penetro keratoplasti operasyonu yapıldı. Tashihle elde edilen en iyi görmeleri 10/10 du.

Transmisyon elektron mikroskopuyla incelemek için, operasyon sırasında elde edilen kornealar; 1mm³'lük parçalara bölündü ve hemen sonra Soransen'in pH 7.4 olan fosfat tamponu ile hazırlanan %4'lük gultaraldehit ve osmium tetroksid çift fiksasyonu uygulandı. Dehidratasyonu takiben araldit gömme ortamına alındı, bu parçalardan bakır gridler üzerine alınan 500-700Å^o'lük kesitlere uranil asetat ve sonra kurşun sitrat boyaları uygulandı. Bu kesitler Zeiss EM9 ve Zeiss EM10 'da incelendi.

SONUÇLAR

TEM'de epitelde bazal hücreler arasında interselüler sahada genişlemeler saptandı (Resim 1a-1b).

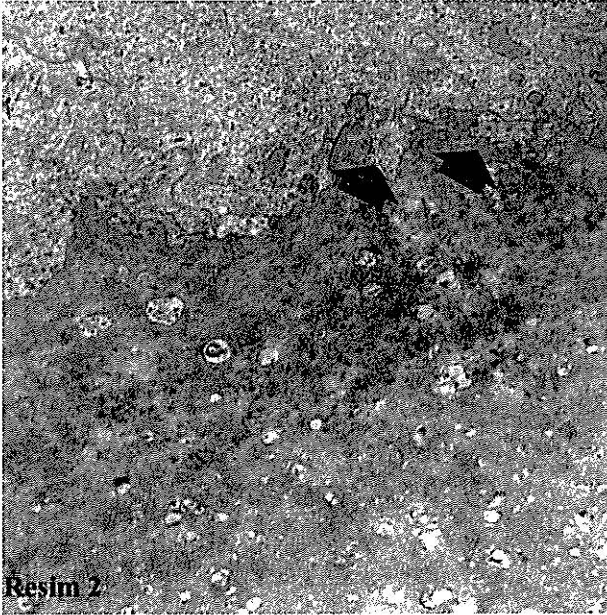
Epiteldeki bazal hücrelerin bazal hücre membranları bağ dokusuna doğru gelişigüzel invajinasyonlar gösteriyordu (Resim 2). Bağ dokusu içinde son derece vakuolize sitoplazmik bir yapı göstermeyen dejenere keratositler gözlemlendi.

Stromada keratositlerde GER'de genişleme ve vakuolizasyon mevcuttu (Resim 3a-3b). Kollojen lif demetlerinde kıvrılmalar vardı (Resim 3c). Bazı keratositlerde içinde çok ince fibriller yapılar bulunan oldukça fazla granül vardı. İçi fazlaca dolu olan hücrelerde yer yer nekroz gözlemlendi.

Resim 1a. Bazal hücreler arasında interselüler sahada genişlemeler (ok)
Resim 1b. Bazal hücreler arasında interselüler sahada genişlemeler (ok)
Sırasıyla resimler EM (x 4900, x 2500)



Resim 2. Epiteldeki bazal hücrelerin bazal hücre membranlarının bağ dokusuna doğru gelişigüzel girintiler (ok) göstermesi EM x 6000



Keratositlerde belirgin mitokondriyel hipertrofi mevcuttu ve bu hücreler şişkin görünümdeydi. İçlerinde sentezlenmiş kollajen lif öncüllerini içeren pek çok veziküle sahip çok aktif keratositlere rastlandı (Resim 4).

TARTIŞMA

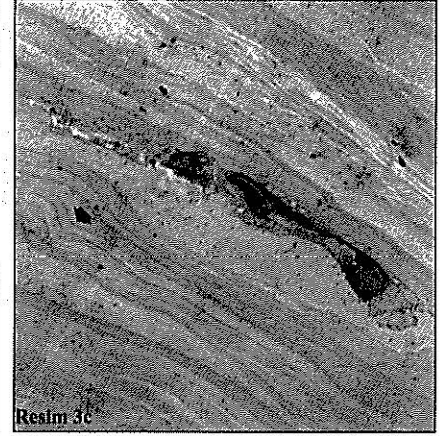
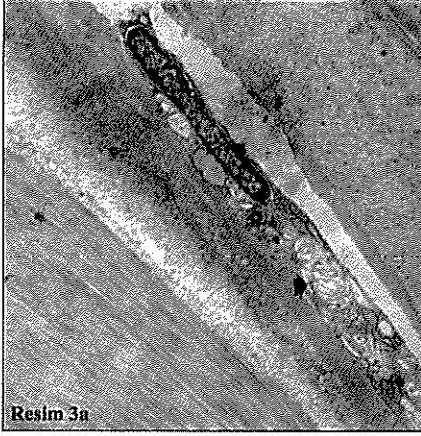
Korneal makular distrofi yukarıda da belirtildiği gibi enzim veya enzimler zincirini kodlayan genetik şifredeki hatalardan kaynaklanmaktadır. Yapısal incelemeler de bunu desteklemektedir. Klintonworth ve arkadaşları; korneal makular distrofiyi iki hastaya penetran keratoplasti operasyonu yapmışlar, distrofi, olguların birinde 18 yıl, diğerinde 19 yıl sonra nüksetmiştir. Bu korneaların yapılarının incelenmesiyle grefonda patolojik keratositler yanında normal olanlar tespit edilmiştir. Lezyonun periferden santrale doğru ilerlemesine ve santral korneada lezyonların en son gözlenmesine, genetik defekte sahip alıcı keratositlerin donör korneaya zaman içerisinde göçlerinin sebep olabileceği belirtilmiştir (8). EM ile yaptığımız incelemede oldukça fazla hipertrofiye olmuş mitokondrilerin saptanması ve de aktif keratositlerin varlığı bu ara maddenin oldukça fazla sentezlenmesi lehine yorumlanmıştır. Aynı resimde GER'deki genişleme ve yapı değişikliği de bunu destekler görünümündedir. Meek ve arkadaşları önceki çalışmalarda keratositlerde kondrotin-6-sülfatın normalden daha fazla üretildiğinin, kondrotin sülfat/dermatan sülfat proteoglikanların normalden daha geniş ve fazla sülfatlanmış olduğunun belirtildiğini, kendi çalışmalarında ise; normal dokuyla kıyaslandığında kondrotin ve/veya dermatan sülfatın dağılımında derin histolojik farklar bulunduğunu belirlediklerini bildirmişlerdir (9). Üretimdeki bu farklılıkların yanında üretilenlerin yıkılmasında da değişiklikler olabile-

Resim 3a. Stromada keratositlerde GER'de genişleme ve vakuolizasyon. (ok)

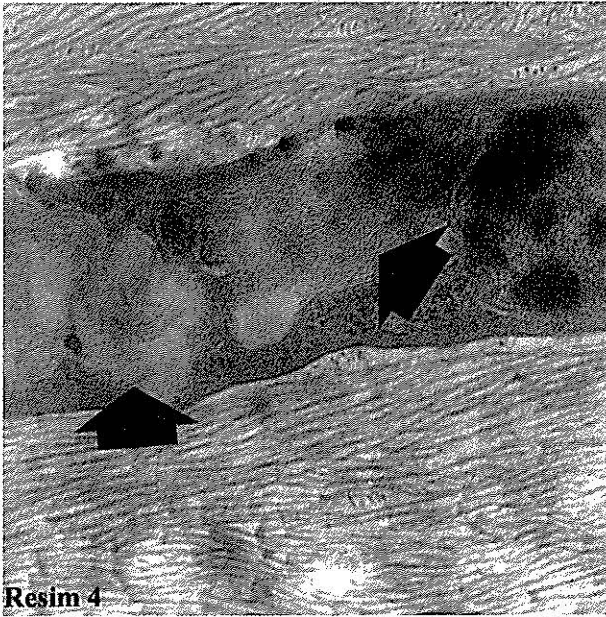
Resim 3b. Stromada keratositlerde GER'de genişleme ve vakuolizasyon. (ok)

Resim 3c. Kollajen lif demetlerinde kıvrılmalar(ok)

Sırasıyla resimler EM (x 9500, x 13800, x 2258)



Resim 4. Keratositten bir bölge. Sentezlenmiş kollajen lif öncülleri içeren pek çok iri vezikül görülmektedir.(ok) EM x 6000



reler arası maddenin sentezlenmesine neden olduğu ve fazlaca aktive olmuş hücrelerin de giderek nekroze oldukları düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ: Cornea CD: Fundamentals of Cornea and External Disease Copyright c 1998 by Mosby, Inc Volume2: Part 6; Section 3
2. Donnenfeld ED et al: Corneal thinning in macular corneal dystrophy. Am J Ophthalmol 1986; 101:112-3
3. Yang CJ, SundarRaj N, Thonar EJ, Klintworth GK: Immunohistochemical evidence of heterogeneity in macular corneal dystrophy. Am J Ophthalmol 1988;106:65-71
4. Nakazawa K, Hassell JR, Hascall VC, et al: Defective processing of keratan sulfate in macular corneal dystrophy. J Biol Chem 1984;259:13751-7
5. Edward DP, Thonar EJ, Edward DP et al: Macular dystrophy of the cornea. A systemic disorder of keratan sulfate metabolism. Ophthalmology. 1990; 97:1194-200.
6. External Disease and Cornea, American Academy of Ophthalmology 1999-2000 Section 16, 297
7. El -Ashry MF, El -Aziz MM, Wilkins S, et al: ND. Identification of novel mutations in the carbohydrate sulfotransferase gene (CHST6) causing macular corneal dystrophy. Invest Ophthalmol Vis Sci 2002 Feb; 43:377-82
8. Klintworth GK, Reed J, Stainer GA, Binder PS: Recurrence of macular corneal dystrophy within grafts. Am J Ophthalmol 1983;95:60-72
9. Meek KM, Quantock AJ, Elliott GF et al: Macular corneal dystrophy: the macromolecular structure of the stroma observed using electron microscopy and synchrotron X-ray diffraction. Exp Eye Res. 1989;49:941-58.
10. Quantock AJ, Meek KM, Ridgway AE, et al: Macular corneal dystrophy: reduction in both corneal thickness and collagen interfibrillar spacing. Curr Eye Res 1990;9:393-8

ceği bununda proteoglikanların hücrelerin arasında ve içinde aşırı depolanmasına katkıda bulunabileceği düşünülmüştür. Bir çalışmada kollojen liflerinin birbirlerine yakın paketlenmesinin korneal kalınlıktaki incelmeye sebep olabileceği belirtilmiştir (10). Oluşan hatalı üretim ve muhtemel yıkım değişiklikleri hücrelerdeki dengeyi bozduğu, normal metabolizmasını gerçekleştiremeyen hücrelerinde nekroze oldukları düşünülmüştür.

Sonuç olarak; keratositlerdeki hücresel aktivitenin artmasıyla fazla miktarda kollajen ve amorf hü-