

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

**KERATOCONUS: AZ ÖRÖKLŐDÉS SZEREPE A
PATOGENEZISBEN ÉS A SZUBKLINIKAI ESETEK
DIAGNOSZTIKÁJA**

Dr. KRISZT ÁGNES

Témavezető: Dr. TAKÁCS LILI, PhD



DEBRECENI EGYETEM

KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

DEBRECEN, 2019

TARTALOMJEGYZÉK

	Oldalszám
RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	4.
1. BEVEZETÉS ÉS IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	6.
1.1. A keratoconus fogalma és klinikai tünetei, jelei	6.
1.2. A keratoconus előfordulása	9.
1.3. Diagnózis	10.
1.4. Etiológia	11.
1.5. Genetikai hatások	12.
1.6. Patológia	13.
1.6.1. A Fleischer gyűrű	13.
1.6.2. Prominens corneális idegek	13.
1.7. Differenciál diagnózis	14.
1.8. Terápia	14.
2. CÉLKITŰZÉSEK.....	18.
3. METODIKÁK: BETEGEK ÉS MÓDSZEREK.....	20.
3. 1. Vizsgálati alanyok: keratoconusos családok és kontroll személyek	20.
3.1.1. Genetikai, komplex szegregáció analízis vizsgálat	20.
3.1.2. Klinikai, korrelációs vizsgálat	21.
3.2. Vizsgálati módszerek	21.
3.3. Szaruhártya topográfiás (videokeratográfiás) vizsgálat	22.
3.4. Topográfiás (videokeratográfiás) indexek	22.
3.4.1. Genetikai, komplex szegregáció analízis vizsgálatához használt indexek	23.
3.4.2. Klinikai, korrelációs vizsgálatához használt indexek	25.
3.5. Az adatok statisztikai analízise	26.

3.5.1. Genetikai, komplex szegregáció analízis vizsgálata.....	26.
3.5.2. Klinikai, korrelációs vizsgálata.....	31.
4. EREDMÉNYEK.....	32.
4.1. Genetikai, komplex szegregáció analízis vizsgálata.....	32.
4.1.1. A családfák leíró statisztikai elemzése.....	32.
4.1.2. A videokeratográfiás KC indexek eloszlása, illetve a KC és egészséges szemek elkülönítésére való alkalmassága.....	33.
4.1.3. Komplex szegregáció analízis.....	35.
4.2. Klinikai, korrelációs vizsgálata.....	42.
4.2.1. A vizsgált populáció jellemzői.....	42.
4.2.2. Korrelációs statisztikák a keratoconusos betegek rokonai körében	46.
4.2.3. A családtagok csoportonkénti összehasonlítása t-próbával.....	47.
5. MEGBESZÉLÉS.....	49.
6. ÖSSZEFOGLALÁS.....	70.
7. SUMMARY.....	71.
8. TÁRGYSZAVAK.....	72.
9. KEY WORDS.....	73.
10. IRODALOMJEGYZÉK.....	74.
11. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	84.
12. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK.....	85.
13. FÜGGELÉK.....	86.

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AIC: Akaike információs kritériuma

ANOVA: a varianciák analízise (Analysis of Variance)

AST: a reguláris asztigmia fokát mutató paraméter

CTSP: cornea vastagsági térbeli profil (Corneal Thickness Spatial Profile)

CXL: a cornea crosslinking terápiája ("térhálósítása"), (corneal cross-linking)

D: dioptria

DALK: mély elülső lamelláris keratoplasztika (deep anterior lamellar keratoplasty)

ICRS: intracorneális gyűrű beültetése (intracorneal ring segment implantation)

I-S: Inferior-Szuperior Dioptria Aszimmetria Index

FPMM: (Finite Polygenic Mixed Model), része a S.A.G.E., genetikai epidemiológiai statisztikai programcsomag SEGREG programjának

K: a centrális cornea törőerő mértékét mutató paraméter

KC: keratoconus

KISA: Keratoconus Százalékos Index: Rabinowitz-féle index, mely a keratoconus mértékét százalékos formában fejezi ki

KL: kontaktlencse

KSI: Keratoconus Súlyosság-Index (Keratoconus Severity Index), a keratoconus súlyosságát százalékos formában leíró paraméter

L: valószínűség (likelihood)

LASIK: egy bizonyos fajta lézeres refraktív sebészeti beavatkozás (Laser-Assisted In-Situ Keratomileusis)

LRT: valószínűségi hányados próba (Likelihood Ratio Test)

MG: nem-Mendeli major gén

NGF: ideg-növekedési faktor (Nerve Growth Factor)

OCT: optikai koherencia tomográfia

OMIM: interneten elérhető katalógus, mely a Mendeli öröklődésű genetikai betegségeket tartalmazza (Online Mendelian Inheritance in Man)

S.A.G.E.: Statistical Analysis for Genetic Epidemiology – egy statisztikai programcsomag a genetikai epidemiológiai vizsgálatokhoz

PEDINFO: a S.A.G.E., genetikai epidemiológiai statisztikai programcsomag része, a családfák leíró statisztikáit végzi (descriptive statistics on pedigree data)

PKP: perforáló keratoplasztika

PRK: fotorefraktív keratektómia, ami egy bizonyos fajta lézeres refraktív sebészeti beavatkozás (photorefractive keratectomy)

PTI: vastagság növekedési százalék (Percentage Thickness Increase)

RGP: rigid gas-permeable, azaz kemény, gázpermeábilis kontaktlencse

r: korrelációs koefficiens

SD: szórás, standard deviáció

SE: standard hiba (standard error)

SEGREG: a S.A.G.E., genetikai epidemiológiai statisztikai programcsomag része, a komplex szegregáció analízis végzésére szolgál

SRAX: az elferdült radiális tengely (skewed radial axis) szöge

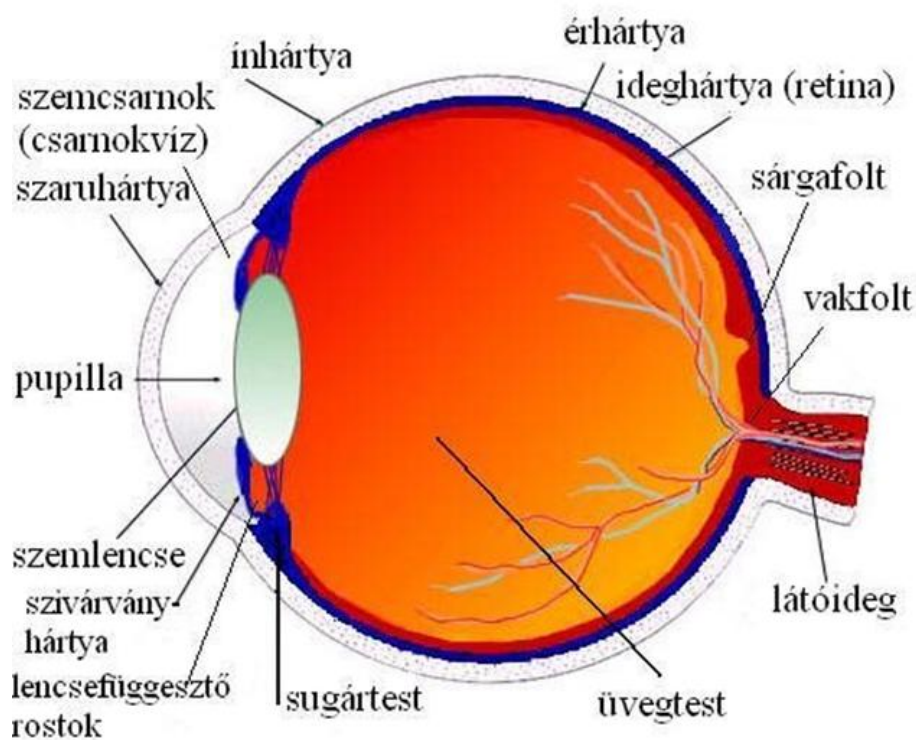
WES: teljes exom szekvenálás (whole exome sequencing)

WGS: teljes genom szekvenálás (whole genome sequencing)

1. BEVEZETÉS ÉS IRODALMI ÁTTEKINTÉS

1.1. A keratoconus fogalma és klinikai tünetei, jelei

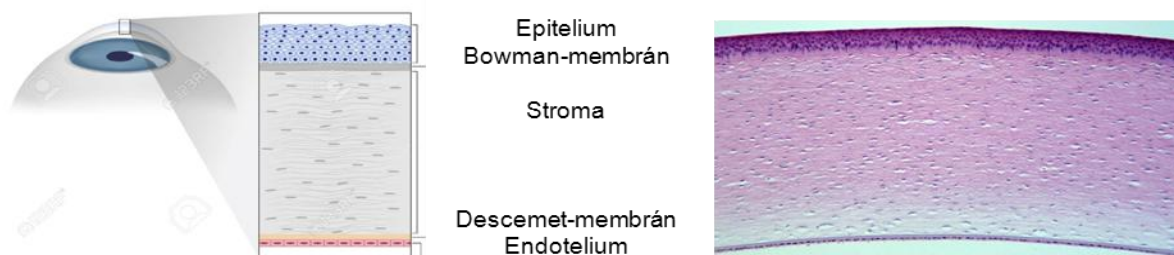
A keratoconus a szem elülső felszínén elhelyezkedő, óraüveg alakú, sima és átlátszó szaruhártyát érintő megbetegedés. A szaruhártya, más néven cornea, egyrészt fontos védelmi szerepet tölt be, másrészt lényeges funkciója, hogy átereszt, és megfelelően törí a fénysugarakat [1]. A cornea a szem legfontosabb törőközege (1. ábra), mintegy 43 dioptriával a szem össz-törőerejének nagyjából 70%-át biztosítja [2].



1. ábra: A szem szerkezete. A szem elülső felszínén elhelyezkedő szaruhártya a szem legfontosabb törőközege.

(A kép a Pécsi Tudományegyetem Természettudományi Karának a Tananyagfejlesztés, azon belül a Mozgásszabályozás című anyagából származik:

<http://tamop-sport.ttk.pte.hu/tananyagfejlesztes/mozgasszabalyozas/05#fejezet5-1-1>)



2. ábra: A szaruhártya rétegei.

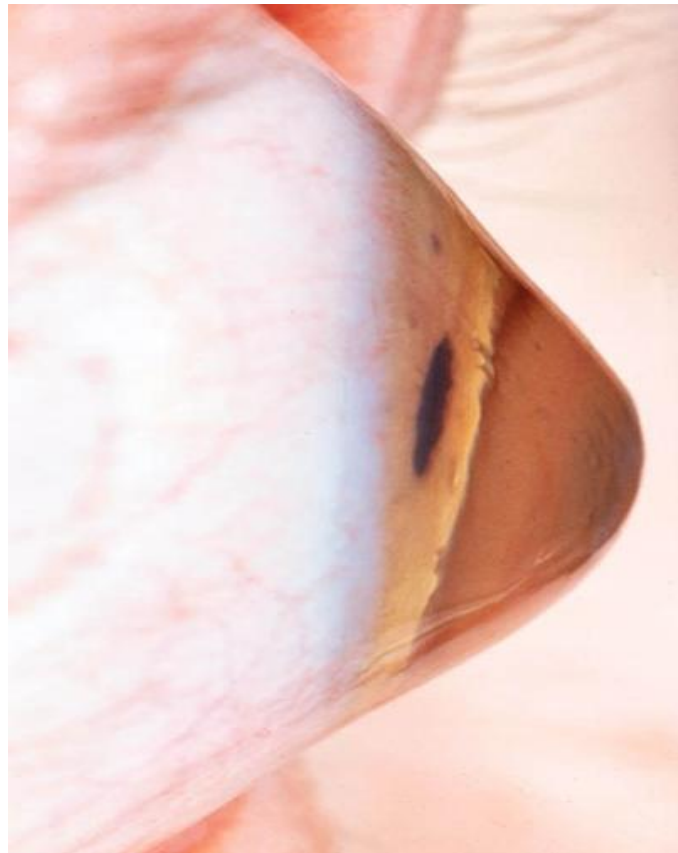
(A kép a The Discovery Eye Foundation, Understanding and Treating Corneal Scratches and Abrasions anyagából származik: <https://discoveryeye.org/treatment-corneal-scratches-and-abrasions>, a hozzá illesztett szövettani kép pedig a Clínica Rahhal, Se descubre una nueva capa de la córnea anyagából: <https://www.rahhal.com/blog/se-descubre-una-nueva-capade-la-cornea>.)

A szem külső, rostos burkának részét képező szaruhártya felépítése igen különleges (2. ábra), ennek köszönhető a mechanikai stabilitása, ugyanakkor a fényáteresztő képessége is. Legkülső rétege az epitélium, a néhány rétegből álló el nem szarusodó laphám, amit a könnyfilm állandóan nedvesen tart. Ennek legalján a bazális epitelsejtek helyezkednek el. Alattuk található a viszonylag vastag Bowman-membrán, ami alatt a cornea vastagságának mintegy 90%-át kitevő alapállomány, a szabályos szerkezetű, sejtzegény és avaszkuláris stroma következik. Ennek fontos alkotóeleme az extracelluláris mátrix, amelynek pontosan szabályozott felépítése különös jelentőséggel bír nemcsak a szaruhártya átlátszósága és funkciója, hanem a megfelelő mechanikai stabilitása szempontjából is, ami pedig a cornea alakjának és görbületének megtartása miatt lényeges [3] [4]. A stromában egymással párhuzamos, szabályos hierarchiában elrendezett kollagénrostok alkotta lamellák, és köztük laposan elterülő keratociták rétegei állnak úgy, hogy a szomszédos rostlemezek egymásra merőlegesen helyezkednek el. Ezután következik a vékony Descemet-membrán, végül az endotélium, amely egyetlen laphámréteggént határolja a corneát az elülső szemcsarnok felé, és aktív pumpafunkciójával biztosítja a cornea dehidrált állapotban tartását. Egyre többen elismerik a stroma és a Descemet-membrán között elhelyezkedő, nemrég felfedezett, sejt nélküli Dua-hártya létezését is [5].

A keratoconus (OMIM #148300) a szaruhártya leggyakoribb, primer és progresszív, kétoldali ektáziája, melynek során a cornea alsó vagy középső, körülírt részén a stroma elvékonyodik és kúp alakban előbultul (3. ábra) [6] [7].

A centrális részen fokozatosan megnő a szaruhártya törőereje, és megváltoznak a biomechanikai tulajdonságai [8]. Ahogyan előrehalad a betegség, egyre kifejezettebbé válik a miópia, a miópiás asztigmia, az irreguláris asztigmia, és megjelennek magasabbrendű optikai aberrációk, sőt akár hegesezés is felléphet, ami tovább rontja a látásélességet [6] [9]. A klinikai tünetek közül a legjellegzetesebb a látás fokozatos romlása. Kezdeti fázisban a páciens jellemzően tünetmentes, később még jól lát ugyan, de már nem lehet szemüveggel tökéletesre korrigálni a

vízust, előrehaladott stádiumban pedig nagyfokú, kifejezett látásromlás lép fel. Ezzel együtt előfordulhat a szem gyors elfáradása, akár fejfájás, fénykerülés, illetve a magasabbrendű optikai aberrációk miatt a fényforrások körül csóva, vagy fényudvar látása is [7].

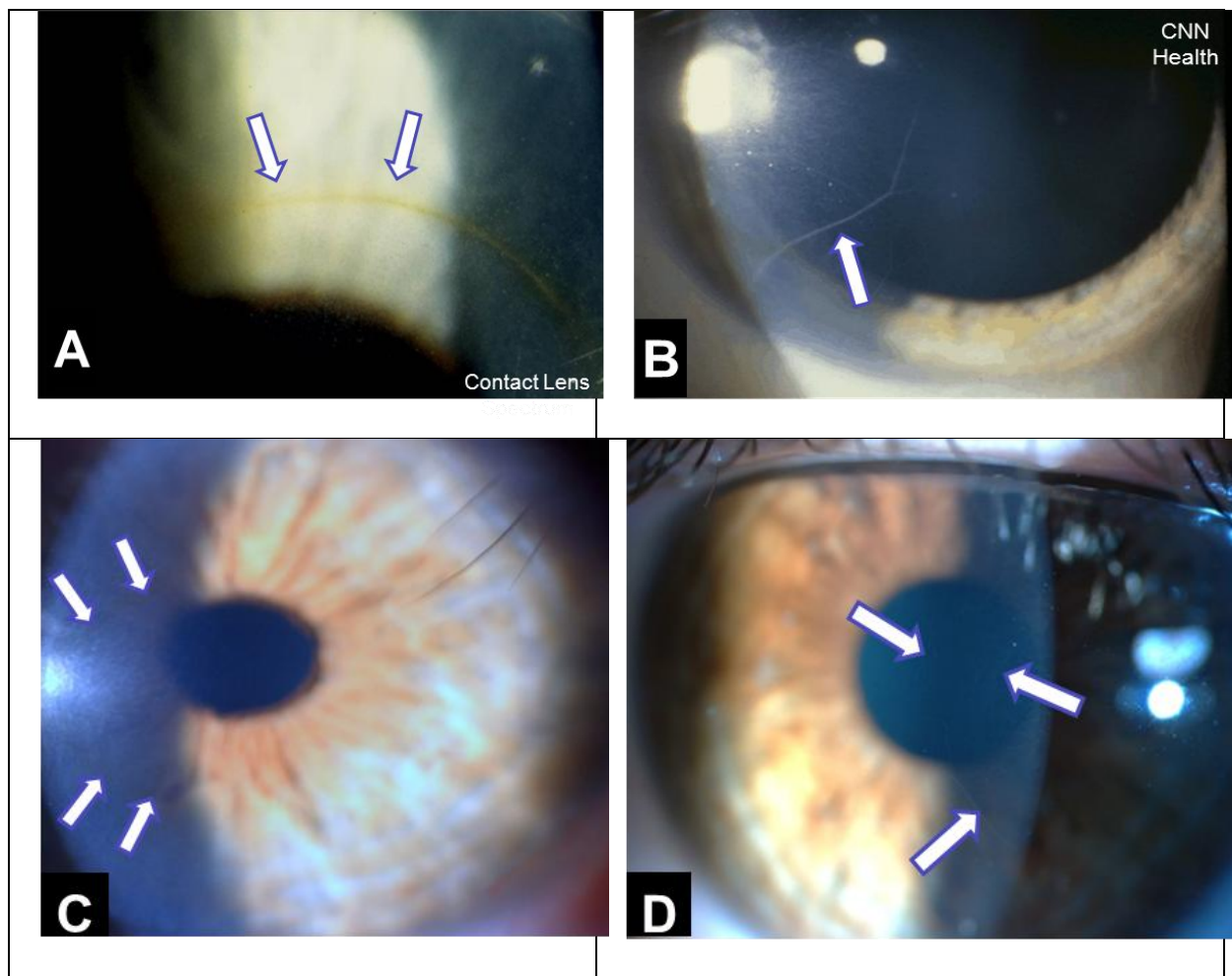


3. ábra: Keratoconus

(A felvételt a Gavin Herbert Eye Institute, University of California, Irvine munkatársai készítették.)

Minél előrehaladottabb a kórfolyamat, annál gyakoribbak a réslámpás vizsgálat során megfigyelhető, jellegzetes klinikai tünetek:

- ◆ a szaruhártya stroma elvékonyodása centrálisan,
- ◆ a Fleischer gyűrű, amely általában a cornea alsó, paracentrális részén elhelyezkedő szubepiteliális vaslerakódás, és részlegesen, vagy teljesen körbeveszi a conus leginkább elődomborodó csúcsát (4. ábra: A, C),
- ◆ a réslámpával jól látható, úgynevezett prominens corneális idegek megjelenése (4. ábra: B, D),
- ◆ Vogt striák: finom, függőleges vonalkák a stroma hátsó részén és a Descemet-membránban, melyek külső nyomásra elhalványulnak,
- ◆ Munson jel: lefelé tekintéskor az alsó szemhéj V-alakú torzulása az elődomborodó cornea miatt,
- ◆ homályok megjelenése a szaruhártyán, és a
- ◆ Bowman-membrán repedése [6] [10].



4. ábra: A keratoconusra jellemző patognómikus jelek:

Az A és C képen a Fleischer gyűrű látszik finom, halvány barna vonalként (nyilak). A B és D képek a prominens corneális idegeket jelenítik meg finom fehér vonalkák formájában (nyilak). A C és D képek saját felvételek. Látható, hogy a mindennapi gyakorlatban sokkal kevésbé látványosak ezek a jelek, mint a jól szemléltető A és B ábrákon. (Az A kép forrása az internetről a Contact Lens Spectrum, June 2013 Online Photo Diagnosis, a B kép pedig a CNN Health internetes oldaláról, a „These health problems can be predicted with a look into your eyes”, nevű cikkből származik.)

Igen ritkán kialakulhat akut keratoconusnak nevezett állapot (az angolszász irodalomban cornea hydrops). Ilyenkor megreped a Descemet-membrán, az endotel rétegen rés jön létre, és a réseken keresztül csarnokvíz jut a stromába diffúz ödémát okozva, ami fájdalommal és hirtelen, drasztikus látáscsökkenéssel jár. Az ödéma lassan, fokozatosan tűnik el, hegesevéssé hagyva maga után [11].

1.2. A keratoconus előfordulása

A keratoconus (KC) minden népcsoportot érint a világ összes részén. A betegség becsült prevalenciája általában 50 és 230 közé tehető a populációban, 100.000 főre számítva [11]. Az igen eltérő gyakoriság részben az eltérő, nem standardizált diagnosztikus kritériumoknak köszönhető (pl. a KC enyhébb, tünetmentes formáit is

számításba vevő összesítések), de néhány régióban valóban magasabb a KC előfordulási gyakorisága, főként a napsütésben gazdagabb, melegebb éghajlaton [12].

A különböző populációkon végzett vizsgálatok alapján a KC prevalenciája és incidenciája jóval magasabb az ázsiai országokban, mint a kaukázusi, fehérbőrű népekben [13] [14], és a nemzetiségi hovatartozástól függően, bizonyos népcsoportokban elérheti akár a 2,3% - 2,34%-ot is [15] [16]. A jövőben az egyre specifikusabb és szenzitívebb diagnosztikus eszközök széleskörű elterjedésével a KC enyhébb formái is még inkább kimutathatóak lesznek [7] [17] [18].

A fejlett országokban a szaruhártya-átültetéseknek még mindig az egyik legjelentősebb oka a keratoconus [19], habár a kevésbé invazív corneális sebészeti technikák fejlődésével a lamelláris keratoplasztika szerepe egyre inkább előtérbe kerül a perforáló keratoplasztikához képest [20] [21].

A KC mindkét nemben előfordul. A tanulmányok többsége a férfiak dominanciáját írta le [6] [15] [22, 23] [24] [25], ugyanakkor léteznek olyanok is, amelyek a nők többségéről tanúskodnak [26] [27], illetve olyanok is, melyekben a nemek aránya kiegyenlített [28].

A folyamat általában pubertáskorban kezdődik, a tizenéves kor vége felé, vagy a húszas évek elején, progresszíven rontva a látásélességet nagyjából a negyedik évtizedig, amikor általában megáll, stabilizálódik [6] [24]. Ritkán ugyan, de előfordulhat, hogy a KC későbbi életkorban manifesztálódik a hormonháztartásban történt változás hatására, pl. várandósság idején [7].

A KC manifesztációja változatos: mindkét szemet érinti általában, de a corneák torzulása aszimmetrikus, és nagyon gyakran az egyik szaruhártya megbetegedésével indul a folyamat [29] [30]. A páciens azon szemét, amelyen a jellegzetes klinikai tünetek még nem mutatkoznak, szubklinikai keratoconusnak nevezi az irodalom. Régebben ebben az esetben inkább a keratoconus suspect elnevezést használták [31] [7] [32] [33].

1.3. Diagnózis

A diagnózis felállításához nélkülözhetetlen az alapos szemészeti vizsgálat, a biomikroszkópiás, azaz réslámpás vizsgálat, a szaruhártya topográfia (Placido-korong alapú videokeratográfia), és a cornea elvékonyodásának mértékét mutató pachymetria.

Ma már számos képalkotó eljárás áll rendelkezésre egyre szélesebb körben. Ezek közül az elsődleges diagnosztikus eszköz a már említett szaruhártya topográfia, mely az elülső corneális felszín irregularitásainak alapos vizsgálatára szolgál. A tomográfiás eszközök, mint az Orbscan, a Scheimpflug képalkotás révén működő Pentacam, a Galilei Dual Scheimpflug analizátor, és a Scheimpflug képalkotást Placido-topográfiával kombináló Sirius, sőt az elülső szegmentum optikai koherencia tomográfia (OCT) képesek a cornea elülső és hátsó felszínének, valamint

vastagságának egyidejű mérésére. Mivel ezek az eszközök a cornea alakját és vastagságát együttesen tudják feltérképezni, ezáltal a keratoconus legkorábbi jeleit is pontosan lehet észlelni segítségükkel [34] [35] [36] [33].

Egyre több tanulmányban használják a cornea-vastagság mérésére az OCT-t, mert ez alkalmas a szaruhártya több különböző régiójában történő mérésekre és azok összehasonlítására (pl. superior-inferior), sőt a cornea egyes rétegeinek a vastagságát külön-külön is képes mérni [37].

A diagnózis elősegítésében fontos tényező a cornea biomechanikai paramétereinek vizsgálata is [7] [33] [38].

1.4. Etiológia

A betegség kóroktanát illetően intenzív kutatások folynak, és ugyan sok még a megválaszolatlan kérdés, annyi azonban bizonyos, hogy egy igen komplex, multifaktoriális betegségről van szó, melynek hátterében genetikai és környezeti hatások, sőt ezek bonyolult interakciói állhatnak [39] [40] [41] [42] [43].

A multifaktoriális kórképekre, melyeket gyakran neveznek komplex betegségeknek is, jellemző, hogy megjelenésük nem követi Mendel törvényeit, valamint számos genetikai és környezeti tényező játszik szerepet kialakulásukban [44]. Fontos tény, hogy a kórképhez kapcsolódó gének alléljai nem feltétlenül kórosak, csupán a betegségre való fogékonyság kibontakozásában játszanak szerepet. Ez az öröklődési mód sokféle betegségre jellemző, pl. az I. és II. típusú diabetes mellitus, kardiovaszkuláris, neurológiai, pszichiátriai megbetegedések, gyakori rosszindulatú daganatos megbetegedések, asztma, és autoimmun betegségek. A Mendeli öröklődésű kórképekhez képest a komplex betegségekhez kapcsolódó gének közül csak igen keveset sikerült beazonosítani, pedig színvonalas laboratóriumokban igen széleskörű kutatómunka folyik modern technológiákkal. 1965-ben Neel írta le, hogy a diabetes mellitus a multifaktoriális betegségek iskolapéldája, a genetikusok rémálma [45], és ugyan azóta jelentősen megnövekedtek a genetikai ismeretek, ez az állítás még több mint 40 év távlatából is igaz maradt [44].

A keratoconus mint multifaktoriális betegség hátterében álló genetikai és környezeti faktorok komplikált kölcsönhatásában epigenetikai mechanizmusok is szerepet játszhatnak [46]. Valószínűleg jópár, egymástól különböző patológiai folyamat vezethet ugyanahhoz a végső közös útvonalhoz, a keratoconus kialakulásához [6] [47]. A genetikai hajlamosító tényezőkkel bíró egyéneknél a megfelelő környezeti hatás, mint egy trigger, beindíthatja a betegség kialakulását [43] [48]. A környezeti tényezők közül a keratoconus szempontjából a legjelentősebbek a szem krónikus dörzsölése és a rosszul illesztett kontaktlencse viselése, melyek mechanikai traumát okozhatnak a hámban. A hámsérülés következményes láncreakciót indíthat el, ami a KC-ra jellemző elváltozásokhoz vezet [11] [49] [50] [51] [25]. Az atópiás keratoconjunctivitis részben a velejáró szemviszketés és gyakori dörzsölés révén, részben pedig a betegségre jellemző patobiokémiai folyamatok révén vezethet a

keratoconus gyakoribb előfordulásához ebben a kórképben [52] [53] [54] [55] [25]. Az UV sugárzás mint rizikófaktor szerepe a keratoconus kialakulásában szintén gyanítható [56] [57] [43].

1.5. Genetikai hatások

A keratoconus háttérében nyilvánvaló és igen fontos szerepet töltenek be a genetikai hatások, ami abban is megnyilvánul, hogy ugyan általában önállóan jelenik meg, mégis igen sok genetikai eredetű kórral (pl. Down szindróma, osteogenesis imperfecta, Ehlers-Danlos szindróma, mitralis prolapsus) és szembetegséggel (pl. Leber-féle congenitális amaurosis, diffúz tapetoretinális degeneráció), valamint többféle corneális disztrófiával (pl. Avellino, Fuchs-féle endoteliális, granuláris és poszterior polimorf corneális disztrófia) való együttes előfordulását figyelték meg [6] [58] [59] [47] [60] [61] [62] [63] [64] [65] [66] [67] [68] [69] [12].

Ezen öröklődő, szisztémás betegségek többsége a kötőszövetek abnormalitására vezethető vissza. Feltételezhető, hogy az izolált, tehát nem szisztémás genetikai betegségek részeként előforduló keratoconus is a kötőszövetek metabolizmusának anomáliája következtében alakulhat ki [70] [71] [72]. A keratoconus háttérében álló genetikai komponens szerepét támasztják alá az ikerpárok, illetve a családfák tanulmányozása során szerzett megfigyelések. Az egypetéjű ikrek között gyakoribb a betegség, mint a kétpetéjűek között [73] [74], illetve a vérrokonok utódai közt is [75], ami mind az öröklődés jelentőségére utal. Számos tanulmány igazolja a KC betegek családtagjai körében halmozottan előforduló miópia, különböző formájú asztigmatiák, és a keratoconus családi halmozódását, mely utóbbi 6-23%-ra becsülhető, a feltételezett öröklődési mód pedig túlnyomóan autoszomális domináns [76] [22] [40] [6] [47] [77]. Keratoconusos betegek rokonainak Placido-koronggal való vizsgálata során Marc Amsler a KC-hoz hasonló, de kevésbé kifejezett szaruhártya topográfiai eltéréseket talált. Ezt a nagy gyakorisággal előforduló jelenséget forme fruste keratoconusnak nevezte el [78]. Bizonyította, hogy a klasszikus és a forme fruste keratoconus ugyanahhoz az entitáshoz tartoznak. Ezt a tényt mindenképp szükséges figyelembe venni a genetikai tanulmányok során. A nevezéktan ugyan nem egységes, de ma már a forme fruste KC helyett is inkább a szubklinikai keratoconus kifejezést használják. A keratoconusos betegek családtagjainak szaruhártya topográfias vizsgálata az aszimmetrikus corneális mintázatok és a megnövekedett videokeratográfiás indexek halmozódását mutatta [79] [80] [81]. Szubklinikai keratoconushoz hasonló cornea topográfias eltéréseket figyeltek meg néhány refraktív sebészeti beavatkozásra jelentkező egyénen is, különösen azokon, akiknél később progresszív keratektázia alakult ki [82]. A keratoconusos betegek rokonai között nagyon nagy a prevalenciája a nem diagnosztizált KC-nak és a KC-ra jellemző paramétereknek, ezért nagy óvatosság szükséges ezen személyek esetében a keratorefraktív beavatkozások elbírálásakor [83] [84].

1.6. Patológia

1.6.1. A Fleischer gyűrű

A keratoconusra jellemző patognómikus jelek közül az egyik legjelentősebb a nagy gyakorisággal előforduló Fleischer gyűrű [10]. A Fleischer gyűrűt a bazális epitelsejtek citoplazmájában, illetve a sejtek közötti térben lerakódó vas alkotja, amely réslámpával látható. Elektronmikroszkópos vizsgálatok tanúsága szerint ferritin részecskék halmozódnak fel benne nagy mennyiségben [85] [86]. Eredete ugyan vitatott, de számos tanulmány utal arra, hogy összefüggés van a vaslerakódás helye és a felszíni epitheliumban történt változás között [87] [88]. Az epithelium kompenzálni képes bizonyos mértékben a szaruhátya felszín irregularitásait [89] [90], és a vas lerakódását ott figyelték meg, ahol az epithelium hiperplázia révén megvastagodott [91] [92]. Ugyanakkor a Fleischer gyűrű létrejöhet az epitelsejteknek az oxidatív stresszre adott, megváltozott válaszreakciójának eredményeképpen [93]. A corneális epitheliumban a vas metabolizmusának változása előidézhethet vaslerakódást [94], ami az események láncolata révén keratoconus kialakulásához vezethet [95] [96], sőt, szerepe lehet a post-LASIK keratektázia létrejöttében is [57].

1.6.2. Prominens corneális idegek

A prominens corneális idegekkel kapcsolatban igazolódott, hogy nemcsak jelei a keratoconusnak [6], hanem számos ponton részesei a patofiziológiai folyamatoknak, sőt a betegség progressziójában is szerepet játszanak [97] [98] [99] [100] [101]. In vivo konfokális mikroszkópiás tanulmányok kimutatták, hogy már a kezdődő keratoconusban is nagy fokban abnormalis a szubbazális idegek morfológiája [102]. A centrális szubbazális idegek keratoconusban kanyargósabbak, megvastagodottak, és a conus csúcsa körül megváltozik az elrendeződésük [100]. Sűrűségük alacsonyabb a normálhoz képest, és a betegség súlyosságával korrelál [103] [104].

In vivo konfokális mikroszkóppal megfigyelhetőek szignifikáns mikrostrukturális eltérések a keratoconusos cornea valamennyi rétegében a normálhoz képest, melyek korrelációt mutatnak a betegség súlyosságával [103] [105] [106] [107]. Ezek a tanulmányok alátámasztják, hogy az epithelium is érintett a kórfolyamatban. Ugyanakkor a Bowman-membrán, az extracelluláris mátrix, az azokat alkotó proteinek, sőt a keratociták abnormalitását is leírták [47] [108] [109].

A keratoconusos cornea rigiditása csökkent, és a stroma elvékonyodott [110] [111]. Ennek a karakterisztikus jelnek a hátterében állhat a kollagénrostok redisztribúciója, vagy degradációja proteolitikus enzimek révén, melyek szintje megemelkedett, a proteináz inhibitorok szintje pedig csökkent [112] [113] [11] [72] [38].

Keratoconusban az extracelluláris mátrix mennyisége is csökkent, ami megváltozott homeosztázisra utal csökkent termelés, vagy megnövekedett degradáció révén [41].

A keratoconusos epitelium, stroma és könny vizsgálatával foglalkozó proteomikai tanulmányok számos fehérje, citokin és enzim felül-, illetve alulszabályozottságáról számolnak be. Nagyon sok, a sejtproliferációban és migrációban fontos szerepet betöltő fehérje, extracelluláris mátrix protein és proteoglikán szintje megváltozik a keratoconusos epiteliumban és a stromában a normálhoz képest. Ezekben a rétegekben strukturális átrendeződés megy végbe a kórfolyamat során, illetve az epitelium és stroma sejtek közötti interakció is torzult. Az oxidatív stressz, az apoptózis és az antiproliferatív folyamatok szerepe is bizonyított a keratoconus patogenezisében. Feltételezhető, hogy megfelelő trigger mechanizmusok beindítanak egy láncreakciót, melynek eredménye a keratoconusra jellemző klinikai kép kialakulása [93] [114] [47] [115] [116] [117].

Igazolást nyert, hogy a korábbi elmélettel ellentétben a gyulladásnak is van szerepe a betegségben [118] [119] [120] [121] [122].

Egy friss tanulmány szerint a cornea centrális, ektatikus részében mind az epiteliumban, mind a stromában megváltozott bizonyos specifikus gének expressziója a szaruhártya perifériás részeihez képest, mely szerepet játszhat a cornea szerkezetének KC-ra jellemző, fokális meggyengülésében [122].

Mindezek a tényezők is arra utalnak, hogy a keratoconus egy komplex, multifaktoriális betegség [12].

A keratoconus patogenezisének feltárására számos kutatási stratégia áll rendelkezésre: a hisztokémia, biomechanika, enzimológia, proteomika és molekuláris genetika [47]. Várhatóan a jövőben a széleskörű kutatások a patogenezisnek a ma még homályos területeire is fényt derítenek.

1.7. Differenciál diagnózis

A primer corneális ektáziákhoz tartozó, ezáltal a keratoconus differenciál diagnózisa szempontjából fontos kórkép a pellucid marginális degeneráció és a keratoglobus [6]. A szekunder keratektáziák pedig főként a refraktív sebészeti beavatkozások következtében alakulnak ki [123] [12].

1.8. Terápia

A terápiában kulcsfontosságú a vízus korrekciója. Tradicionálisan, a keratoconus kezdeti stádiumában szemüveget írnak fel, majd ahogy halad előre a betegség, kontaktlencsével korrigálják a vízust [124]. A kontaktlencse a keratoconusos betegek látásélesség-javításának legjelentősebb eszköze, ugyanis nemcsak a miópiás asztigmia korrigálható vele, hanem a szemfelszín egyéb irregularitásai, beleértve a magasabb rendű corneális aberrációkat is. A szférikus / tórikus lágy kontaktlencsét leginkább a KC korai stádiumaiban használják eredményesen. A mérsékelt, közepesúlyos és előrehaladott KC esetén a vízuskorrekció legfontosabb pillére a

kemény (rigid) gázpermeábilis (RGP) kontaktlencsék és a szklerális lencsék használata. Ezek nagy előnye, hogy a lencse és a cornea felszíne közötti könnyréteg kiegyensúlyozza az okuláris aberrációkat, ezáltal kiváló látásélességet biztosítanak. Az RGP lencsék ugyanakkor nem könnyen tolerálhatóak, és viselésük komplikációkat is okozhat. A szklerális lencsék kényelmesebbek. Egyéb alternatívák lehetnek még a hidrogél és piggyback kontaktlencsék [7].

Előrehaladott keratoconus esetén, egy idő után a beteg már nem tolerálja a folyamatos kontaktlencse-viselést, és amikor a látásélesség olyan szintre csökken, ami korrekcióval is elfogadhatatlan, akkor más terápiás lehetőségekhez folyamodnak. Az elmúlt időszakban széleskörűen elterjedt, egyre nagyobb népszerűségnek örvendő, kevésbé invazív technikák bevezetése előtt ilyenkor jellemzően szaruhártya-átültetést indikáltak [125] [124]. A mostani klinikai gyakorlatban a keratoplasztikát akkor javasolják, amikor más, a későbbiekben ismertetett konzervatívabb technikákkal nem várható megfelelő terápiás eredmény, vagy nem sikerül azt elérni. Ez a beavatkozás lehet perforáló keratoplasztika (PK) vagy az egyre gyakrabban alkalmazott mély elülső lamelláris keratoplasztika, angol nevén deep anterior lamellar keratoplasty (DALK) [125]. Az utóbbi eljárás során eltávolítják a cornea rétegeit, a mély stromális rétegeket is beleértve, a Descemet-membránt és endoteliumot megkímélve, és az előbbieket megfelelően előkészített donor corneával helyettesítik. A DALK egy jóval biztonságosabb technikának számít a graft rejekció szempontjából, mint a PK, mert a recipiens saját endoteliumának megőrzése révén ez a műtét nem jár a szem megnyitásával, és ily módon endoteliális rejekció nem is fordul elő. Rövidebb ideig tartó és kisebb dózisú szteroid adása szükséges DALK után, így csökken a szteroid okozta mellékhatások (pl. a másodlagos glaucoma) kockázata is. DALK után kevesebb az endotelsejt-veszteség, és a seb stabilitása is nagyobb [126]. A PK a választandó eljárás abban az esetben, ha az endotel nem ép. A keratoconussal társulhat endoteliális diszfunkció, leggyakrabban a Fuchs-féle endoteliális disztrófia, illetve a poszterior polimorf disztrófia. Amikor centrális hegesedés van a mély stromális rétegekben, a PK jobb látásélességet eredményez, mint a DALK, viszont nagyobb kockázattal jár. A mindennapi klinikai gyakorlatban PK-hoz képest a DALK alkalmazása esetén megoszlanak a vélemények a műtét utáni látásélesség vonatkozásában. A tudományos vizsgálatok szerint hasonlóan jó látásélességet eredményez, habár meg kell hagyni, a PK után gyakrabban érhető el 1,0 vízus [127].

A lamelláris disszekció minél közelebb történik a Descemet-membránhoz, annál jobb eredmények várhatóak a DALK után a vízus szempontjából. Ebben segítenek a modern műtéti technikák, többek között a lézer alkalmazása a disszekcióban [128].

A szaruhártya-átültetések komplikációi (sebgyógyulási zavarok, a KC kiújulása a recipiens cornea peremén, graft rejekció, perzisztens irreguláris asztigmia) sarkallták a tudományos kutatást kevésbé invazív technikák alkalmazására.

Kontaklencse-intoleráns betegeknél megfelelő feltételek esetén van lehetőség a vízus korrekciójára phakiás lencsék beültetésével, melyek lehetnek elülső vagy hátsó csarnok lencsék, és a szférikus fénytörési hibák mellett az asztigmia is korrigálható tórikus phakiás lencsék segítségével. Ezek enyhe és stabil keratoconus esetén jöhetnek szóba, ahol tiszta a centrális cornea, és viszonylag jó a szemüveggel korrigálható vízus, tehát kisfokú az irreguláris asztigmia [124].

Az elmúlt két évtizedben jelentős fejlődés következett be a keratoconus terápiájában. Újabb, alternatív módszerek széleskörű elterjedése révén késleltethető a cornea-transzplantáció, vagy akár szerencsés esetben szükségtelenné is válhat. Sőt, van már mód a betegség progressziójának nagy biztonsággal és hatékonysággal történő lassítására, vagy akár megállítására is [128]. Előrehaladott keratoconus kezelésére ma már olyan technikákat is használnak, amiket korábban csak enyhe vagy középsúlyos állapotok terápiája esetén alkalmaztak. Ezek a kevésbé invazív kezelési alternatívák kiszélesítik a terápiás opciók körét, lehetőséget adva még az előrehaladott betegségnél is a progresszió leállítására, a kontaktlencse újbóli viselésére, és bizonyos esetekben a látás javítására, bár ennek mértéke ennél az állapotnál csekély [125] [123]. Az alábbiakban röviden említem ezeknek a kezelési módoknak a legfontosabb aspektusait.

Egyik ilyen technika az intrastromális gyűrű beültetése a keratoconusos corneába, ez az ICRS (Intracorneal Ring Segment implantation). A cornea mélyebb stroma rétegei közé készített csatornába egy vagy két átlátszó polimetil-metakrilát (PMMA) félgyűrűt helyeznek, ez stabilizálja a corneát, azaz segít az alakját, a görbületi sugarát a helyes irányba visszaigazítani, így sok esetben helyreáll a kontaktlencse toleranciája, és a vízus is javulhat. Szubklinikai keratoconusnál a miopia korrekciójára is használják. Reverzibilis eljárás, ezért komplikáció esetén eltávolítható [124].

Nagyon ígéretes és bizonyítottan hatásos a crosslinking (CXL) a keratoconus progressziójának lassításában vagy megállításában [129] [130] [131]. Riboflavin és UV-A fény kombinált hatására a stroma kollagén rostjai közt in vivo intra- és interfibrilláris keresztkötések képződnek, és ez a foto-oxidatív crosslinking növeli a cornea biomechanikai stabilitását [131] [129]. A legújabb ajánlások szerint progresszív KC esetén a legfontosabb terápiás cél a fokozatos romlás leállítása [7]. A crosslinking erre alkalmas, ezáltal radikálisan megváltoztatta a progresszív keratoconus konzervatív kezelésének lehetőségeit.

Az eredeti a Dresden-féle protokoll, amelyben az epitelt eltávolítják a riboflavin és UV-A fény corneán történő alkalmazása előtt. Ennek a módszernek számos módosításával próbálkoznak (pl. más koncentrációban adott riboflavin, más dózisban és más időtartamban alkalmazott UV-A fény, epitel eltávolítása nélküli eljárások), hogy a lehető leghatékonyabban, legbiztonságosabban, a legelőnyösebb eredményeket ériék el [132] [133].

Ma már nem csak önálló terápiaként használják, hanem kombinálják az intrastromális gyűrű beültetésével, illetve refraktív cornea sebészeti beavatkozásokkal. Régebben a keratoconus kontraindikációt jelentett a refraktív sebészeti beavatkozásokra nézve, ma már azonban a kontaktlencse-intoleráns betegeknél vannak bizonyos újabb, relatíve biztonságos technikák, amik a keratoplasztika alternatívái lehetnek. Ilyen a fotorefraktív keratektómia (PRK) a crosslinkinggel kombinálva [124] [134] [135]. Számos tanulmány eredménye szerint a kombinált kezelést követően a conus stabilitása megtartott. Vannak érvek és ellenérvek a tekintetben, hogy a fotorefraktív kezelést a crosslinkinggel szimultán, illetve szekvenciálisan érdemes-e végezni [129] [136] [137]. A lehetséges kezelési módok skálája kiszélesedett, és a keratoconus is nagyfokú variabilitást mutat az egyes betegek közt, ezért minden esetben egyénileg érdemes mérlegelni, hogy az adott páciens szempontjából mi a lehető legelőnyösebb terápiás módszer [7].

A jövőre vonatkozóan vannak ígéretes új lehetőségek, amelyeket még nem, vagy éppen csak elkezdtek bevenni a klinikai gyakorlatba. Ilyen az izolált Bowman-membrán transzplantáció, melynek során a középső stroma rétegek közé juttatnak be egy megfelelően előkészített donor Bowman-hártyát [138]. Ez a technika nemcsak stabilizálja a corneát, hanem kiküszöbölhetővé teszi a perforáló és anterior lamelláris keratoplasztika lehetséges komplikációit azáltal, hogy a graft acelluláris, és varratokra sincs szükség [139].

Előrehaladott, progresszív keratoconusban kontaktlencse-intolerancia esetén ezzel a módszerrel halasztható vagy elkerülhető a keratoplasztika [140]. Reményteljes kutatások folynak a cornea stroma regenerációjára vagy helyettesítésére különböző típusú őssejtekkel, többféle módszerrel [141] [128] [142].

2. CÉLKITŰZÉSEK

A keratoconus háttérében álló okok közül egyértelműen igazolást nyert a genetikai komponens. A családi halmozódás tényét több tanulmány is megerősítette az elmúlt időszakban. Egyikük nagyszámú, sporadikus keratoconusos családot vizsgált, melynek során egyértelmű familiális aggregációt figyeltek meg, illetve feltételezték, hogy a hordozó állapot beazonosítható a videokeratográfiás indexek alapján. Ezek a kvantitatív topográfiás indexek mint szubklinikai fenotípus szerepeltek, melynek alapján komplex szegregáció analízist végeztek [143]. A komplex szegregáció analízis egy igen hatékony statisztikai módszer egy bizonyos fenotípus öröklődési módjának meghatározására családok adatai alapján, azaz egy jellegzetes tulajdonság családfákon belüli öröklődésének értékelésére [144] [145].

Első célkitűzésünk a keratoconus háttérében álló genetikai faktorok tanulmányozása volt, melynek céljából klinikai családvizsgálatot terveztünk. A klinikánkon kezelt, gondozásra járó keratoconusos betegeket családtagjaikkal együtt hívtuk be klinikai, réslámpás és szaruhártya topográfiás vizsgálatra, hozzájuk korban és nemben illesztett kontroll személyeket rendeltünk, illetve egy alpopuláció esetén pachymetriás vizsgálatot is végeztünk. Tudni szerettük volna, a populációnkban milyen mértékű a keratoconus családi halmozódása, és a videokeratográfiás paraméterek alapján milyen öröklődési mód a legvalószínűbb. Ennek feltárására komplex szegregáció analízist végeztünk a saját populációnkon, melyben nemcsak Mendeli, hanem a nem-Mendeli öröklődésnek megfelelő modelleket is teszteltünk. A topográfiás indexeket mint folytonos változókat elemeztük, és a keratoconus klinikai asszociációit – a Fleischer gyűrű jelenlétét és az egyének nemét – mint kovariánsokat is szerepeltettük az analízisben.

A keratoconus súlyossága a jellegzetes réslámpás jelek gyakoriságának növekedésével jár együtt, ilyenek a Vogt striák, a Fleischer gyűrű, a prominens corneális idegek, a homályok és a szaruhártya elvékonyodása. A Fleischer gyűrű jelen van a legtöbb KC corneán, míg a prominens idegek kevésbé gyakoriak és kevésbé specifikusak a keratoconusra [6] [10].

A szubklinikai KC azonosítása nagy jelentőséggel bír nemcsak a genetikai tanulmányok során, hanem refraktív szemészeti beavatkozások előtt a magas rizikójú egyének kiszűrése szempontjából is, ugyanakkor a szubklinikai keratoconus diagnózisa még ma is igen nagy kihívást jelent. A KC betegek családtagjai között gyakran fordul elő a szubklinikai KC, emiatt nagyon sok tanulmány vizsgálja a keratoconusos családtagokat, a szubklinikai KC-hoz kapcsolódó, nehezen megfogható jellemzők felderítése céljából [84] [146].

Második célkitűzésként kerestük, hogy a keratoconusra nézve jellegzetes klinikai jelek közül a Fleischer gyűrű, a prominens corneális idegek és a szaruhártya-elvékonyodás milyen mértékben fordul elő a betegek, a családtagjaik és esetlegesen

az egészséges kontrollok között. Vizsgáltuk ezeknek a jeleknek a korrelációját egymással és a KC-ra jellemző topográfiás indexekkel, a betegek családtagjainak, illetve az egészséges kontrolloknak a körében, annak céljából, hogy vajon ezeknek a klinikai jeleknek a keresése segíthet-e a szubklinikai keratoconus könnyebb azonosításában.

3. METODIKÁK: BETEGEK ÉS MÓDSZEREK

Valamennyi, az értekezésben szereplő vizsgálatot a Helsinki Deklaráció elveinek betartása mellett, részletes felvilágosítás után önként jelentkező személyeken végeztük, akik hozzájárulásukat adták a tájékoztatáson alapuló, önkéntes részvételhez. A Debreceni Egyetem Szemklinikáján kezelt, gondozásra járó keratoconusos betegeknek a tervezett tanulmányról tájékoztató levelet küldtünk, melyben kértük a családtagok együttműködését és a vizsgálatokban való részvételét. Ezek a családok sporadikusnak számítottak, tehát a probandon kívül nem volt más, korábban keratoconusosnak diagnosztizált rokon. Egyik családtagnál sem jelentkeztek a keratoconusnál időnként megfigyelhető, társuló genetikai betegségek (pl. Down szindróma, Marfan szindróma, stb.).

Az egészséges corneájú kontrollokat az egyetem dolgozói, hallgatói, illetve a klinikán vizsgált és kezelt betegek közül választottuk ki oly módon, hogy a szférikus fénytörési hibájuk $\pm 6D$ alatti, az asztigmatizmus pedig $\pm 3D$ alatti legyen. Azok szerepelhettek egészséges kontrollokként, akiknek nem volt korábban szaruhártya betegségük, szemműtétük, illetve a családjukban nem fordult elő keratoconus, cornea betegség és szaruhártya-átültetés. Etnikai hovatartozásukat illetően mindannyian magyar, kaukázusi eredetűek voltak a vizsgált egyének.

Az elemzésekben nem használtuk fel azokat az adatokat, amelyek korábban megsérült, vagy műtéten átesett szemekre vonatkoznak, beleértve a perforáló keratoplasztikát a KC betegek esetén.

Az értekezésben bemutatott vizsgálatok és eredményeik feldolgozása a jelölt saját munkája.

3.1. Vizsgálati alanyok: keratoconusos családok és kontroll személyek

3.1.1. Genetikai, komplex szegregáció analízis vizsgálat

A genetikai, szegregáció analízis vizsgálatba hatvan, proband alapján kiválasztott, egymással rokoni kapcsolatban nem álló, sporadikus keratoconusos családot vontunk be. Az összes élő (274) családtag közül 212 fő tudott részt venni vizsgálatunkban, őhozzájuk egyenként, korban és nemben illesztett kontroll személyeket rendeltünk. Az eredmények részben található 2. táblázat mutatja be a tanulmányozott családfák adatait. Családonként a tagok száma 3-11 fő, a testvérek száma pedig 1-4 fő között volt. A hatvan család többségében, 44 esetben két generáció, míg 16 esetben három generáció tagjai szerepeltek.

Mivel az élet első évtizedében igen ritkán fordul elő manifeszt keratoconus és a legfiatalabb probandunk 9 éves volt, a 9 év alatti gyermekeket kizártuk a vizsgálatnak ebből a részéből.

3.1.2. Klinikai, korrelációs vizsgálat

A klinikai, korrelációs vizsgálatba 47 családot vontunk be, és hozzájuk 142 egészséges corneájú kontroll személyt rendeltünk. A probandok családtagjai között előfordult két manifeszt KC beteg, és a teljesen egészséges személyek mellett több, szubklinikai keratoconusnak minősíthető eset is. A nem beteg, azaz nem-KC családtagokat elkülönítettük a manifeszt KC betegektől. Azokat vettük be a nem-KC rokonok csoportjába, akiknek a fénytörési hibájuk $\pm 6D$ alatti, az asztigmatiájuk pedig $\pm 3D$ alatti volt, és akiknél a keratoconus súlyosságát százalékos formában kifejező, a klinikai gyakorlatban elterjedt, a későbbiekben megmagyarázott *KISA* és *KSI* indexek sem utaltak manifeszt KC jelenlétére (*KISA*<100%, *KSI*<30%). Az eredmények részben található 10. táblázat mutatja be a tanulmányozott családfák adatait. A 47 családból összesen 49 KC beteg, és 117 családtag vett részt a vizsgálatainkban, illetve 142 kontroll. A táblázatban látható a szemek számát illető diszkrepancia, ennek oka, hogy az operált, tehát a keratoplasztikán átesett betegek, és a korábban egyoldali szaruhártya sérülést elszenvedett személyek megfelelő szemének adatait nem használtuk fel.

3.2. Vizsgálati módszerek

Minden keratoconusos proband esetén klinikai vizsgálat alapján történt a diagnózis felállítása, amelynek része volt a látásélesség vizsgálata, a réslámpás vizsgálat, indirekt oftalmoszkópia és a szaruhártya topográfias vizsgálat (videokeratográfia).

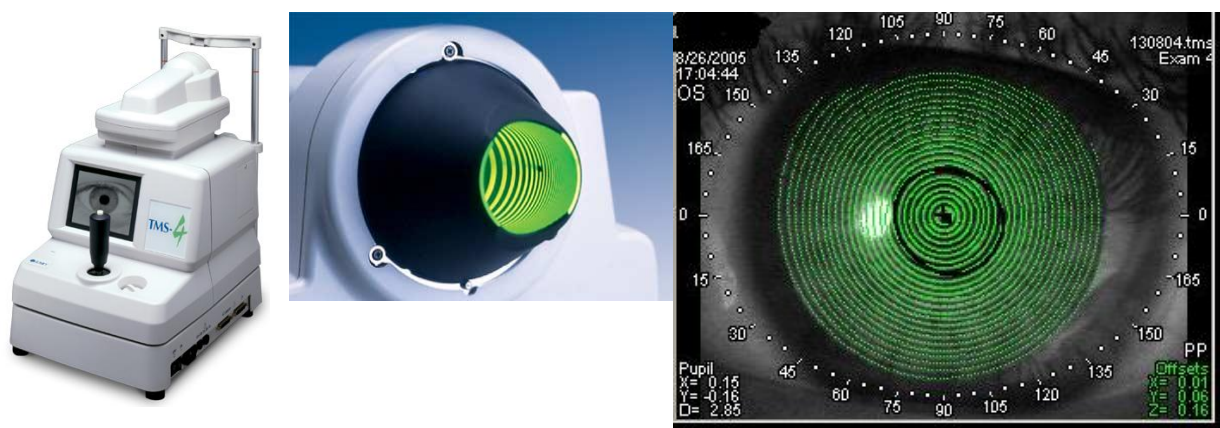
Minden egyes személy, tehát a probandok, a családtagjaik, és a kontroll egyének esetében elvégeztük a klinikai, a réslámpás vizsgálatot és a szaruhártya topográfias vizsgálatot.

A klinikai, korrelációs vizsgálathoz a fentiekén kívül ultrahangos, centrális szaruhártya-vastagság mérést végeztünk egy alpopuláción, 86 személyen (10. táblázat). Ennek során 15 keratoconusos beteg 27 szemét, 45 családtag 89 szemét, és 26 kontroll 52 szemét vizsgáltuk ultrahangos cornea pachymeterrel. Ebben a csoportban a hiányzó adatok magyarázata egyoldali szaruhártya-átültetés 3 probandnál, és egy korábbi szaruhártya sérülés az egyik családtag esetén.

A réslámpás vizsgálat során nagyon gondosan figyeltük és kerestük az epitheliumban a Fleischer gyűrű, illetve a prominens corneális idegek jelenlétét úgy a családtagok, mint a controlok esetén. A corneális Fleischer gyűrű meglétének kritériuma a legalább 2 mm hosszú, íves, paracentrális, szubepiteliális vas depozitum volt [147]. A legalább ekkora, vagy ennél hosszabb, de nem körbefutó vaslerakódást, mint inkomplett Fleischer gyűrűt vettük figyelembe, és bizonyos egyéneknél komplett Fleischer gyűrűt is találtunk.

3.3. Szaruhártya topográfiás (videokeratográfiás) vizsgálat

A szaruhártya topográf a cornea elülső felszínének, görbületének, és törőerejének vizsgálatára szolgáló műszer (5. ábra). Elve hasonló a korábban használt kézi keratoszkópokhoz: az apextől a limbusig 25 koncentrikus gyűrűt vetít a szaruhártyára néhány centiméter távolságból, ami annak felszínéről visszatükröződik. Ezt a képet a műszer gyűrűnként 256 (25x256) ponton detektálja, majd ezekből, a visszfény-gyűrűk torzulásának mértéke alapján előállítja a szaruhártya felszíni térképét színekódolt digitális képek formájában, a vezérlő számítógép szoftverének segítségével. A vizsgálat gyors, fájdalommentes, könnyen kivitelezhető és reprodukálható.



5. ábra: A TMS-4 topográf (videokeratoszkóp)

A TMS-4 videokeratoszkóp (Tomey Corporation, Nagoya, Japán) segítségével minden, vizsgálatban részt vevő személy mindkét szeméről legalább 4-4 felvételt készítettünk. Mindeközben ügyeltünk arra, hogy a kép fókuszban legyen, és a vizsgált személy a középpontra tekintsen, ezáltal a kép a kívánt tengelybe essen, illetve a megfelelő minőségre. Az utóbbi érdekében megkértük az alanyokat, hogy pislogjanak párat, majd segítség nélkül a lehető legtágabbra nyissák a szemüket, és a cornea kiszáradásának megelőzésével készítettük el a felvételeket. Így elkerültük a vizsgálat során az artefaktumokat, amelyek pseudokeratoconusos, azaz a valóságban egészséges, de tévesen keratoconusnak tűnő képeket eredményezhettek volna [148]. Az egyes szemekről készült topográfiás felvételek közül a legjobb minőségűt választottuk ki, a corneára vetített koncentrikus visszfény-gyűrűk megtekintése alapján. A továbbiakban ezeknek a felvételeknek az adataival dolgoztunk. Az operált szemek adatait nem használtuk fel.

3.4. Topográfiás (videokeratográfiás) indexek

A TMS-4 szoftver (Tomey Corporation, Nagoya, Japán) által megadott, és az azokból kiszámított videokeratográfiás indexeket használtuk fel a további analízisekhez. A megfelelő topográfiás képekhez tartozó, mért cornea-törőerő adatokat exportáltuk, Excel táblázat formájában megnyitottuk, és az alábbi képletek, útmutatók

segítségével kiszámítottuk azokat a videokeratográfiás indexeket, melyeket a program nem adott meg automatikusan.

3.4.1. Genetikai, komplex szegregáció analízis vizsgálatához használt indexek

1.) KISA [149]: *Keratoconus Százalékos Index* [150] [151] [152].

A *KISA* index négy különböző index kombinációjával írja le a keratoconusra tipikus topográfós jellemzőket.

$$KISA = \frac{K \cdot (I - S) \cdot AST \cdot SRAX}{300} \times 100$$

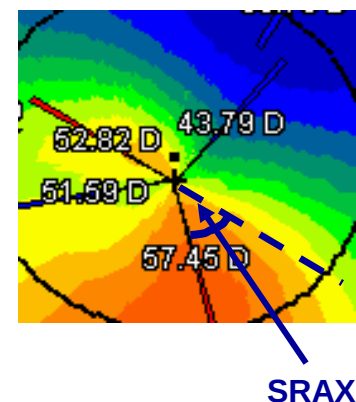
A képletben *K*: *centrális cornea törőerő*, amely a 2.,3.,4. koncentrikus visszfény-gyűrűk törőerejének átlagaként számolható (3x256 mérési pont átlaga).

I-S: *Inferior-Szuperior Dioptria Aszimmetria Index*: a 14.,15.,16. koncentrikus visszfény-gyűrűk alsó, illetve felső részén 30°-onként mért és átlagolt törőerők különbsége. Mindhárom felső gyűrű-félen a 30°, 60°, 90°, 120° és 150°-on mért törőerőket vettük, amiket átlagoltunk (3x5 mérés átlaga). A három alsó gyűrű-félen a 210°, 240°, 270°, 300° és 330°-on mért törőerőket vettük, majd átlagoltuk őket (3x5 mérés átlaga). Az alsó félre vonatkozó átlagból kivonva a felső félre vonatkozó átlagot, megkaptuk az *I-S* értékét [143].

AST: a reguláris asztigmia fokát mutatja. A következőképpen számolható: a cornea legmeredekebb tengelyének az átlagos törőerejéből kivonjuk az arra merőleges tengelynek az átlagos törőerejét (a topográf által megadott *SimK1*, és *SimK2* értékek különbsége).

SRAX: az elferdült radiális tengely szöge (skewed radial axis) a vízszintes tengely alatt és fölött a maximális törőerőt jelentő tengelyek közti kisebbik szög 180°-tól való eltérése, az irreguláris asztigmatizmust jellemzi (6. ábra). A program segítségével a topográfiás képekre illesztett tengelyek alapján számoltuk.

6. ábra: A *SRAX* paraméter kiszámítása.



A fenti képlet alapján kiszámítottuk a *KISA* indexet.

Rabinowitz eredeti közleményében a *KISA*: <60%: egészséges, 60-100% között: szubklinikai KC, >100%: KC, ezeket az értékeket használtuk a családi halmozódás statisztikákhoz a vizsgált egyénekre nézve [149].

Elvégeztük a *KISA* index természetes alapú logaritmikus transzformációját, hogy normál eloszlást kapjunk, és ezt vettük igénybe a további statisztikai elemzések során ($\ln(KISA)$) [143] [153].

A komplex szegregáció analízishez további lineáris transzformációt alkalmaztunk: az $\ln(KISA)+3$ mint input paraméter szerepelt a *KISA* folytonos változóként történő analízise során.

2.) KSI: Keratoconus Súlyosság-Index (Keratoconus Severity Index) [31].

A *KSI* 10 különböző videokeratográfiás indexet mint input paramétert használ egy, a KC szűrésére kidolgozott, klasszifikációs neurális hálózathoz. A *KSI* index a betegség súlyosságát százalékos formában fejezi ki a következőképpen: >30% manifeszt KC-ra utal, míg >15% a szubklinikai KC szemekre jellemző, az ez alatti értékek pedig az egészséges szemekre.

A *KSI* alapjául szolgáló paraméterek: *DSI: Differenciális Szektor Index*, *OSI: Szemközi Szektor Index*, *CSI: Centrum-Szegély Index*, *SRI: Felszíni Regularitás-Index*, *SAI: Felszíni Aszimmetria Index*, *SDP: a corneális törőerő standard deviációja*, *IAI: Irreguláris Asztigmia-Index*, *CYL: Cilinder*, *SimK1: a cornea legmeredekebb tengelyének átlagos törőereje*, *AA: analizált felület* [154].

A *KSI* index értékét kiszámította a szaruhártya topográfhoz kapcsolódó program.

3.) 6 mm Fourier Aszimmetria Index:

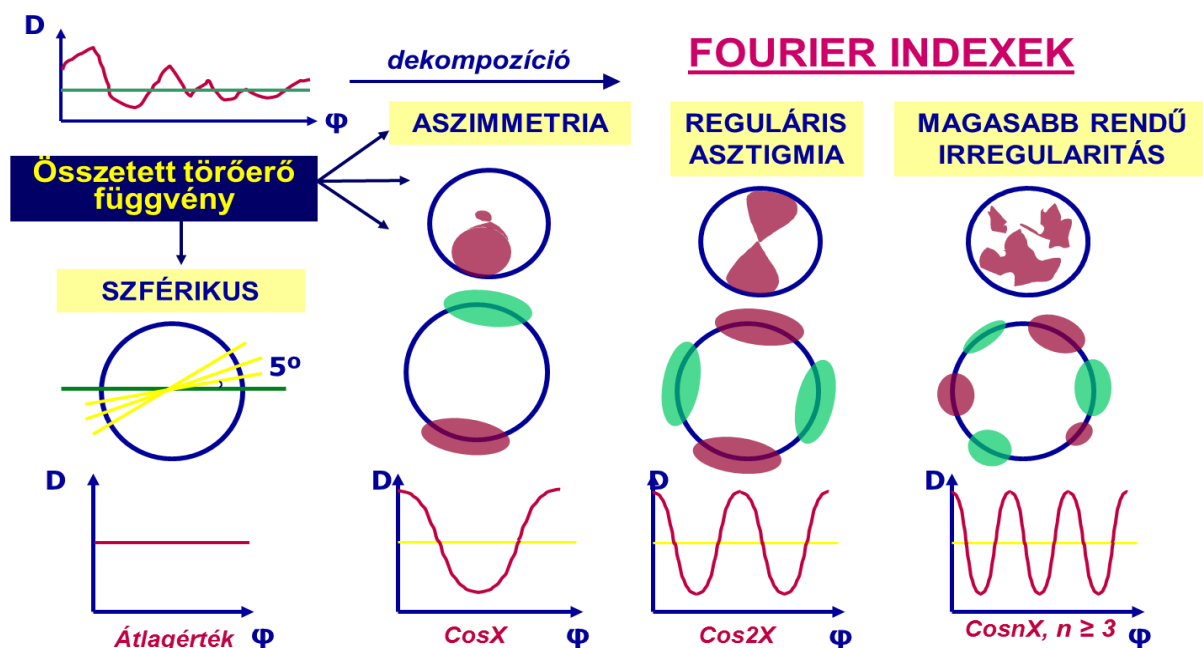
Egy matematikai módszerrel, a Fourier harmonikus függvénysor-analízissel a topográfiás képek nyers cornea-törőerő adatai felbonthatók trigonometrikus függvények sorozatára a következőképpen:

$$F(x)=\cos X+ \cos 2X+ \cos 3X+...+\cos nX$$

Tehát a cosinus függvények felharmonikusaiból összegzett eredő függvény a Fourier-sorral írható le. Ezen függvények kombinációjával az eredeti topográfós kép csaknem teljesen rekonstruálható.

Az analízis felbontja a cornea törőerő-márixot négy indexre (7. ábra). Ezeket az indexeket a centrumtól 3 mm-re, ill. 6 mm-re eső visszfény-gyűrűn belül eső területre számítja ki a szaruhártya topográf szoftvere.

- 1.) *Szférikus Törőerő Index*: átlagérték,
- 2.) *Aszimmetria Index*: a cornea „dőlését” jellemzi (angolul *tilt*), ($\cos X$), KC esetén ennek van a legnagyobb jelentősége,
- 3.) *Reguláris Asztigmia Index* ($\cos 2X$),
- 4.) *Magasabb rendű Irregularitás Index* ($\cos nx$, ahol $n \geq 3$): a látóideghártyán keletkező kép tökéletlenségének egyéb optikai okait írja le.



7. ábra: A videokeratográfiás Fourier indexek származtatása

A 6 mm Fourier Aszimmetria Index a Fourier sorban az első felharmonikus, az úgynevezett „decentrációs” komponens, az 1-20. visszfény-gyűrűk közötti területre számítva, ami nagyjából megfelel a cornea centrális 6 mm-es részének [155] [156] [157].

A 6 mm Fourier Aszimmetria Index 10x-es szorzata szerepelt a folytonos változóként történő analízis során, mint input paraméter.

Az egyének jobb és bal szemére vonatkozó index-párok közül minden személyhez azt rendeltük hozzá, ami a nagyobb érték volt. Az operált szemek topográfiás indexeit nem használtuk fel.

3.4.2. Klinikai, korrelációs vizsgálathoz használt indexek

1.) KISA: Keratoconus Százalékos Index

2.) KSI: Keratoconus Súlyosság-Index

3.) 3 és 6 mm Fourier Aszimmetria Index: a Fourier sorban az első felharmonikus, az úgynevezett „decentrációs” komponens, az 1-9. és 1-20. visszfény-gyűrűk közötti területre számítva, ami nagyjából megfelel a cornea centrális 3 mm-es, illetve 6 mm-es részének.

4.) I-S: Inferior-Superior Dioptria Aszimmetria Index

Az I-S értéke pozitív, és negatív is lehet attól függően, hogy az alsó, vagy a felső cornea-fél a „meredekebb”, a nagyobb törőerejű, és mindkettő előfordulhat KC-ban [143]. Ebben a vizsgálatban az I-S index abszolútértékét vettük minden szemre. $|I-S| \geq 1,4$ -et tekintettük kórosnak [153].

Az indexek magyarázata az előző oldalakon, a 3.4.1. pontban található.

3.5. Az adatok statisztikai analízise

3.5.1. Genetikai, komplex szegregáció analízis vizsgálata

A SigmaStat program 3.5-ös verzióját használtuk a probandok és rokonaik mellé illesztett kontrollok esetén annak igazolására, hogy a KC családtagokhoz korban és nemben valóban illeszkednek. $\alpha=0,05$ -öt tekintettük szignifikancia-szintnek.

ANOVA vizsgálatot végeztünk annak megállapítására, hogy a *KSI*, *KISA* és *6 mm Fourier Aszimmetria* indexek képesek-e elkülöníteni egymástól a KC, a nem-KC családtagok, és az egészséges egyének szerekeit.

A 60 keratoconusos családfa analízisét a S.A.G.E. programcsomag segítségével készítettük el: S.A.G.E. 6.1.0 (2010): Statistical Analysis for Genetic Epidemiology, <http://darwin.cwru.edu/sage/>.

A családok elemzésére, a családfák struktúrájára vonatkozó általános statisztikákhoz a PEDINFO programot használtuk a S.A.G.E. 6.1.0 (2010) programcsomagból.

Komplex szegregáció analízis:

A komplex szegregáció analízis a legfőbb statisztikai eszköz egy patológiás, vagy nem patológiás vonás öröklődési módjának elemzésére. A multifaktoriális betegségek esetében ez a módszer lehetővé teszi, hogy kimutassuk, a betegség családi eloszlása kompatibilis-e egy major gén szegregációjával, illetve, hogy megbecsüljük ennek jellemzőit (a transzmisszió módját, a különböző típusok penetranciáját, és az allél gyakoriságokat), valamint, hogy felfedjük, jelen van-e poligénus összetevő [44].

A 60 KC család komplex szegregáció analízisét a S.A.G.E. 6.1.0 (2010) programcsomag SEGREG programjának segítségével végeztük el a következőképpen:

A videokeratográfiás indexek, mint folytonos változók:

$\ln(KISA)+3$

KSI

6 mm Fourier Aszimmetria Index x10

szerepeltek input paraméterként.

A George Bonney által javasolt regresszív modell mondható a legalkalmasabbnak a multifaktoriális betegségek tanulmányozására, mert ennek az alapja egy regresszív kapcsolat a megfigyelt fenotípus és az azt magyarázó változók között (egy major gén hatása, illetve a genetikai vagy környezeti tényezőkhez köthető reziduális familiális korrelációk) [44].

A folytonos változók analíziséhez a Bonney-féle A osztályú regresszív modellt használtuk [158] [159]. A Bonney-féle regresszív modellek közül ez az A osztályú modell tartalmazza a legtöbb korlátozást, ugyanis azt feltételezi, hogy egy egyén fenotípusa kizárólag az ő saját szüleinek a fenotípusa és genotípusa révén függ az ősök fenotípusától. A testvérek csak a közös szülők révén függenek egymástól.

A komplex szegregáció analízisben egy lehetséges major lókuszt szegregációja során tekintetbe kell vennünk azt, hogy egy vagy több paraméter egy úgynevezett latens, nem mérhető minőségi faktornak a függvénye: ez az $u = AA, AB$ vagy BB , amit az egyén típusának hívunk (ousiotípus). Ha a szegregáció Mendeli, akkor ez a típus a megfigyelt fenotípus háttérében álló feltételezett genotípust jelképezi, és a szegregáció egyetlen, két alléllal (A, B) bíró autoszomális lókuszt révén valósul meg, ahol A jelenti a hipotetikus betegség-allélt. Az A és B allél gyakoriságát qA -val, és $1-qA$ -val jelöljük. Feltételezzük, hogy a típusok eloszlása a populációban Hardy-Weinberg egyensúlyban van, ezért a típusok populációs gyakorisága qA -val definiálható.

Az AA, AB és BB típusú egyének feltehetően átadják az A komponenst (az A allélt, ha a típus genotípus is egyben) utódaiknak a következő transzmissziós valószínűséggel: τ_{AA}, τ_{AB} és τ_{BB} . Ezt tekintve, a típus legjobban az egyén utódainak várható eloszlását megadva definiálható, ezért a típust általános fogalomként használjuk, figyelembe véve különböző formájú, egymástól elkülönülő transzmissziókat, Mendelieket és nem-Mendelieket egyaránt.

Az egyes típusokhoz társított átlagértékek, melyek a vizsgálatban szereplő jellegzetes tulajdonságra vonatkoznak, μ_{AA}, μ_{AB} és μ_{BB} jelölést kaptak, és hozzájuk egyetlen közös varianciát (szórásnégyzetet, σ^2) becsültünk. A multifaktoriális komponens figyelembe vételéhez reziduális familiális korrelációkat definiáltunk rokonpárok között a következőképpen: ρ_{FM} : a familiális korrelációt jelöli házaspárok tagjai között (apa és anya, angolul father and mother), ρ_{PO} : a szülők és gyermekeik között (angolul parent-offspring), ρ_{FO} : apák és gyermekeik között (angolul father-offspring), ρ_{MO} : anyák és gyermekeik között (angolul mother-offspring), ρ_{SS} : testvér-testvér párok között (angolul sib-sib).

8 különböző modellt alkalmaztunk a topográfiás indexekre vonatkozóan a családtagok közötti különbségek forrásának felderítésére (1. Táblázat).

1.) Az analízist egy *általános*, korlátozások nélküli modellel kezdtük, ahol minden paramétert szabadon becsült a program oly módon, hogy azok a legjobban illeszkedjenek az adatainkra. Ez egy teljes, vagyis multifaktoriális modell, ami magában foglalja egy major gén, további gének (poligénes öröklődés), és a környezet hatását.

Modellek	qA	τ_{AA}	τ_{AB}	τ_{BB}	μ_{AA}	μ_{AB}	μ_{BB}	σ^2	ρ_{FM}	ρ_{PO}
1.Általános	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült
2.Sporadikus	Fix: [0]	Fix: [0]	Fix: [0]	Fix: [0]	Becsült	$=\mu_{AA}$	$=\mu_{AA}$	Becsült	Fix: [0]	Fix: [0]
3.Környezeti	Becsült	$=qA$	$=qA$	$=qA$	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült
4.Mendeli major gén	Becsült	Fix: [1]	Fix: [0,5]	Fix: [0]	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Fix: [0]	Fix: [0]
5.Poligénes	Fix: [0]	Fix: [0]	Fix: [0]	Fix: [0]	Becsült	$=\mu_{AA}$	$=\mu_{AA}$	Becsült	Fix: [0]	Becsült*
6.Nem-Mendeli major gén (MG)	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Fix: [0]	Fix: [0]
7.MG+poligénes	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Fix: [0]	Becsült*
8.MG+környezeti	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Becsült	Fix: [0]

1. táblázat: A komplex szegregáció analízis során alkalmazott modellek és paraméterek jellemzői.

Paraméterek a modellekben: qA : az A allél frekvenciája, τ_{AA} , τ_{AB} , τ_{BB} : transzmissziós valószínűségek, μ_{AA} , μ_{AB} , μ_{BB} : átlagértékek, σ^2 : variancia, ρ : reziduális familiális korreláció rokonpárok között: ρ_{FM} : házaspárok tagjai között (apa és anya), ρ_{PO} : szülők és gyermekek között, $^*\rho_{PO}=\rho_{SS}=h^2/2$ szabadon becsült, ahol h^2 : becsült heritabilitás a poligénes hatás révén.

A szögletes zárójel arra utal, hogy az adott paraméter arra az értékre fixált a modellben. A nem fixált paramétereket a SEGREG program szabadon becsülte.

Az adatainkra legjobban illeszkedő *általános* modellt hasonlítottuk össze 7 különböző modellel, melyekbe a transzmisszió módjára vonatkozó, eltérő null hipotéziseket (H_0), ezáltal korlátozásokat integráltunk, és ennek megfelelően bizonyos paramétereket meghatározott értékekre fixáltunk a modellben [160] (1. táblázat). A táblázatban szereplő paraméterek becslésmódjának megfelelő változtatásával, vagy fixálásával építettük fel az egyes specifikus modelleket. Az *általános* modell tekinthető az alternatív hipotézisnek (H_A) az említett 7 null hipotézishez képest. Az *általános* modellben a szabadságfok 0, hiszen minden paramétert szabadon becsült a program.

Ezekkel az összehasonításokkal próbáltuk felderíteni, hogy az adatainkra ráilleszthető-e valamilyen „öröklésmenet”, szabályszerűség, amellyel azok magyarázhatóak lennének.

2.) A *sporadikus* modellben egyetlen fő típust feltételeztünk, ezáltal sem szegregáció nem történt ($\tau_{AA}=\tau_{AB}=\tau_{BB}=qA=0$ -ra fixált), sem multifaktoriális komponens (reziduális familiális korreláció) nem volt jelen, tehát a ρ_{FM} , ρ_{PO} , ρ_{SS} paramétereket nullára fixáltuk.

3.) A *környezeti* modellben a betegség szegregációja kizárólag egy környezeti faktor révén valósult meg, és mindhárom típusra azonos transzmisszió volt jellemző. Miután a környezet az egyetlen meghatározó tényező ebben a modellben, a

transzmissziós valószínűségeket az allél frekvenciával tettük egyenlővé korlátozásképpen: $\tau_{AA}=\tau_{AB}=\tau_{BB}=q_A$. A reziduális familiális korrelációkat szabadon, egymástól függetlenül becsültük ebben a modellben.

4.) A *Mendeli major gén* modellben a transzmissziós valószínűségeket a Mendeli elvárásoknak megfelelően fixáltuk: $\tau_{AA}=1$, $\tau_{AB}=0,5$, $\tau_{BB}=0$, és három átlagértéket becsültünk (μ_{AA} , μ_{AB} és μ_{BB}). Multifaktoriális komponens (reziduális familiális korreláció) itt sem volt, tehát a ρ_{FM} , ρ_{PO} , ρ_{SS} paramétereket nullára fixáltuk.

5.) A *poligénes* modell feltételezi, hogy major gén nincs jelen, ehelyett sok gén együttes, additív hatása a meghatározó, mely gének közül mindegyik csak kis mértékben befolyásolja a fenotípust. Ennek megfelelően a transzmissziós valószínűségeket és az allél frekvenciát nullára fixáltuk ($\tau_{AA}=\tau_{AB}=\tau_{BB}=q_A=0$). A poligénes komponens számításba vétele céljából a reziduális familiális korrelációkat a következőképpen definiáltuk: $\rho_{FM}=0$ fixált, és $\rho_{PO}=\rho_{SS}$, szabadon becsült. A szülő-gyermek és testvér-testvér familiális korrelációk becsült értéke ugyanaz és egyenlő $h^2/2$ -vel, ahol h^2 a heritabilitás, a poligénes öröklődés meghatározó paramétere [161]. Tehát $\rho_{PO}=\rho_{SS}=h^2/2$.

6.) A *nem-Mendeli major gén (MG)* modellben három, tetszőleges transzmissziós valószínűséget becsültünk (τ_{AA} , τ_{AB} , τ_{BB}) szabadon 0 és 1 értékek között. A modell további meghatározásai azonosak voltak a *Mendeli major gén* modellével.

7.) A *kevert* modell, azaz *nem-Mendeli major gén+poligénes faktor* modell (*MG+poligénes*) beállításai megfelelnek a 6., *MG* modellének, azzal a különbséggel, hogy a reziduális familiális korrelációkat ugyanúgy szerepeltettük, mint az 5., a *poligénes* modellben, tehát: $\rho_{FM}=0$ fixált, és $\rho_{PO}=\rho_{SS}=h^2/2$, szabadon becsült.

8.) A *nem-Mendeli major gén+környezeti faktor* modell (*MG+környezeti*) magában foglalja a 6., *MG* modell jellemzőit, amit kiegészítettünk a környezeti reziduális familiális komponenssel, a szabadon becsült ρ_{FM} -el, a $\rho_{PO}=\rho_{SS}=0$ pedig fixált.

A kovariáns analízisben a corneális Fleischer gyűrű jelenléte (1: jelen van, 0: nincs), és a személyek neme (1: férfi, 0: nő) szerepelt mint bináris változó.

A poligénes varianciát (σ_v^2) az FPMM programmal becsültük, ami a S.A.G.E. 6.1.0 (2010.) programcsomag SEGREG programjának része.

A poligénes hatást a következő képlet alapján lehet kiszámítani:

$$\mu_v = \frac{v - 2pk}{1 - p} \sqrt{\frac{\sigma_v^2(1 - p)}{2pk}},$$

ahol μ_v a poligén hatás, v a poligén betegség-allélek száma, p az allél frekvencia, k a poligén lókuszok száma, és a σ_v^2 a poligén variancia [162].

A paramétereket a maximális valószínűségi módszerrel (maximum likelihood method) becsültük. Ennek az az alapelve, hogy azokat a paraméter értékeket, amelyek a megfigyelt családi adatokat a legvalószínűbbé teszik, megtaláljuk. Minden numerikus módszer az ismeretlen paramétereknek egy adott, kezdeti érték-készletéből indul ki, és azután elkezd a program áttekinteni a „valószínűségi felületet”, amíg egy határhoz nem ér, egy helyi maximumot nem talál, vagy számítási nehézségek nem lépnek fel. A paraméterek becslése úgy történik, hogy a program számszerűen maximalizálja a megfigyelt eseménytér adott modell melletti bekövetkezési valószínűségét (likelihood, L), és megadja az ehhez tartozó illesztési paramétereket az adott modellhez.

A modellek összehasonlítására két kritériumot használtunk:

1.) A hipotézisek tesztelése a *valószínűségi hányados* (likelihood ratio) *kritérium* alapján történt, melyben minden egyes, korlátokkal bíró modellt az általános, korlátozások nélküli modellel hasonlítottunk össze. A *valószínűségi hányados próba* (likelihood ratio test, LRT) úgy számolható, mint a $-2\ln(L)$ értékek különbsége bármely korlátos (null hipotézis, H_0) modell, és a korlátozás nélküli *általános* (alternatív hipotézis, H_A) modell között, ahol L az egyes modellek maximális valószínűsége.

$$LRT = -2\Delta\ln(L) = -2\ln(L)_{\text{korlátos modell}} - [-2\ln(L)_{\text{általános modell}}]$$

Ennek eloszlása aszimptotikusan a χ^2 statisztikának felel meg, a szabadságfoka pedig egyenlő az összehasonlított modellekben lévő, egymástól független paraméterek számának különbségével.

A valószínűségi változóink értékét tehát úgy számítottuk ki, hogy minden egyes specifikus modell $-2\ln(L)$ értékéből kivontuk az általános modell $-2\ln(L)$ értékét. Ezután a megfelelő χ^2 statisztikai táblázatban leolvastuk a statisztikához tartozó p értéket. A szignifikancia-szintnek itt is a 0,05-öt tekintettük. Miután arra kerestük a választ, hogy az adatainkra legjobban illeszkedő *általános*, korlátozások nélküli, de mindent magában foglaló teljes modellhez képest van-e a hét közül egy, vagy több olyan specifikus, korlátokkal bíró modell, ami szintén illeszkedik az adatainkra, ezért a $p > 0,05$ esetén, tehát az általános modelltől „szignifikánsan nem eltérő” modell esetén mondhattuk ki azt, hogy azt a bizonyos specifikus modellt „elfogadjuk”, mert az szintén illeszkedik az adatainkra. $p > 0,1$ jelentette a legjobb illeszkedést. Ha egy modellre a valószínűségi hányados próba alapján azt kaptuk, hogy az általános modellhez képest $p < 0,05$, azt a modellt nem „fogadtuk el”, mert ez a p érték azt jelenti, hogy az a bizonyos specifikus modell szignifikánsan eltér az adatainkra legjobban illeszkedő *általános* modelltől, tehát ez a modell nem alkalmas arra, hogy magyarázatot adjon az adataink alapján valószínűsíthető „öröklésmenetre”, szabályszerűsége.

2.) Emellett *Akaike információs kritériumát* (Akaike's Information Criterion, *AIC*) használtuk, hogy az adatokra nézve egyenlő mértékben valószínű modellek közül ($p > 0,05$) kiválasszuk a „legtakarékosabbat”. Mivel

$$AIC = -2\ln(L) + 2n,$$

ahol n a becsült paraméterek száma [163], a „legtakarékosabb” modellnek azt tekinthetjük, amelynek az *AIC* értéke a legkisebb szám, hiszen abban kombinálódik legjobban az alacsony n illesztett paraméterszám mellett elérhető magas valószínűségi érték (L).

A $-2\ln(L)$, és az *AIC* értékeket a SEGREG program adta meg az analízis eredményei között. Miután a családokat a probandok alapján választottuk ki, egyszerű családfaanalízist végeztünk, azaz minden egyes családfa valószínűségét kizárólag a proband betegségére, mint feltételre alapoztuk [164].

3.5.2. Klinikai, korrelációs vizsgálat

A statisztikák számításához mind a jobb, mind a bal szemek adatait felhasználtuk minden egyes vizsgált személy esetén, kivéve az operált és korábban sérült szemekre vonatkozókat.

A KC családtagokra nézve a korrelációs statisztikák három sorozatát vizsgáltuk, azaz, hogy a Fleischer gyűrű jelenléte, a centrális szaruhártya-vastagság adatok, és a prominens corneális idegek jelenléte hogyan korrelál egymással, és a topográfiás (videokeratográfiás) indexekkel. A kontroll személyek adataiból is elvégeztük a korrelációs statisztikákat, viszont, mivel túl kevés egyén corneáján találtunk Fleischer gyűrűt vagy prominens idegeket, ezek az eredmények nem bizonyultak értékelhetőnek.

A Fleischer gyűrű jelenlétét, és a prominens corneális idegek jelenlétét bináris változókként vizsgáltuk. A centrális szaruhártya-vastagság, és a topográfiás indexek folytonos változókként szerepeltek az analízisben. A változók közötti korrelációkat a Pearson-féle korrelációs statisztikával számoltuk, meghatároztuk a p értéket és a korrelációs koefficienszt (r). A vizsgált csoportok paraméter értékeit t -próbával, és *Mann-Whitney-féle rangösszeg* próbával (Mann-Whitney rank sum test) hasonlítottuk össze. A statisztikák kiszámítására a SigmaStat program 3.5-ös verzióját használtuk, és $\alpha = 0,05$ -öt vettük szignifikancia-szintnek.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Genetikai, komplex szegregáció analízis vizsgálat

4.1.1. A családfák leíró statisztikai elemzése

A 2. táblázat foglalja össze a PEDINFO program segítségével végzett családfa analízis eredményeit.

Paraméterek	Családfák
Családfák száma	60
Tagok száma (vizsgált családtagok száma)	274 (212)
Tagok száma családonként: átlag $\pm$ SD (minimum-maximum)	4,57 $\pm$ 1,55 (3-11)
Testvérek száma: átlag $\pm$ SD (minimum-maximum)	1,67 $\pm$ 0,72 (1-4)
Két generációs családok száma	44
Három generációs családok száma	16

Paraméterek	Férfiak	Nők
Szám	100	112
Kor (év) átlag ($\pm$ SD)*	37,29 $\pm$ 16,76	40,46 $\pm$ 16,89

* *t*-próba (*Mann-Whitney rangösszeg próba*) $p=0,215$, nincs szignifikáns különbség a férfiak és a nők kora között.

2. táblázat: A tanulmányozott családfák leíró statisztikái

Hatvan sporadikus, azaz nem familiális keratoconusos családfát vontunk be vizsgálatainkba, akik egymással rokon kapcsolatban nem állnak. A családok átlagos mérete és szórása 4,57 ($\pm$ 1,55) fő volt. Családonként a tagok száma minimum 3, maximum 11 fő volt, a testvérek száma pedig 1-4 között mozgott. A családfák többsége, 44 (73,33%) csak szülőkből és gyermekeiből álló szűk család, viszont 16 (26,67%) három generációs volt. Az összes élő családtag (274) közül 212 tudott részt venni a részletes klinikai és szaruhártya topográfiás vizsgálaton, 100 férfi (47,17%), és 112 nő (52,83%).

A *KISA* index alapján 11 elsőfokú rokon (hét szülő és négy testvér) esetében találtunk korábban nem diagnosztizált KC-t. Populációnkban a manifest keratoconus becsült prevalenciája 7,6% volt (11/145, 95% konfidencia intervallum, CI: 3,3-11,9), ami 33-152-szer nagyobb, mint a KC átlagos populációs prevalenciája (0,05-0,23%) [11]. Ezek az adatok a KC családi halmozódására utalnak, és a betegség kialakulásában a genetikai faktorok szerepét támasztják alá.

A Fleischer gyűrű is mutatott családi halmozódást: a KC betegek között 65,9%-ban, családtagjaik között pedig 25,3%-ban fordult elő. A betegségben nem érintett rokonokra vonatkozó arány elég jelentős mértékű, ezért is tartottuk fontosnak a későbbiekben ennek alaposabb vizsgálatát.

4.1.2. A videokeratográfiás KC indexek eloszlása, illetve a KC és egészséges szemek elkülönítésére való alkalmassága

Az ANOVA analízis alapján mindhárom index (*KSI*, *KISA*, *6 mm Fourier Aszimmetria Index*) szignifikánsan elkülöníti egymástól a KC, nem-KC családtag, és egészséges kontrollcsoportokat ($p < 0,001$). A páronkénti összehasonlításnál azt tapasztaltuk, hogy a *KISA* és a *6 mm Fourier Aszimmetria Index* minden csoportot elválasztott egymástól ($p < 0,05$), azonban a *KSI* a KC-t a kontrolltól és a nem-KC családtagtól elkülönítette, a nem-KC családtagot a kontrolltól viszont nem (3. Táblázat).

	<i>KSI</i>	<i>KISA</i>	<i>6 mm Fourier Aszimmetria Index</i>
KC – Kontroll	X	X	X
KC – Nem-KC családtag	X	X	X
Nem-KC családtag – Kontroll	–	X	X

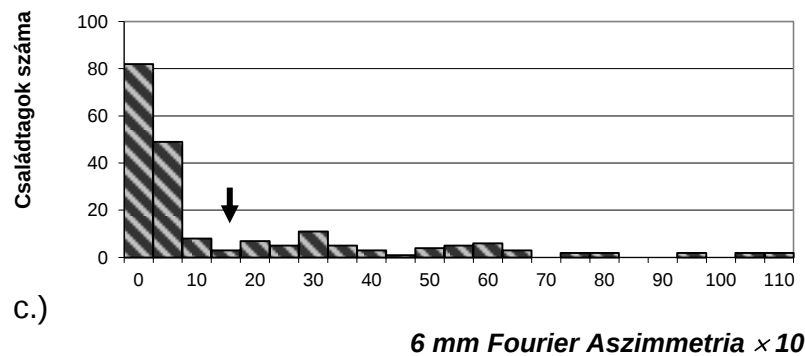
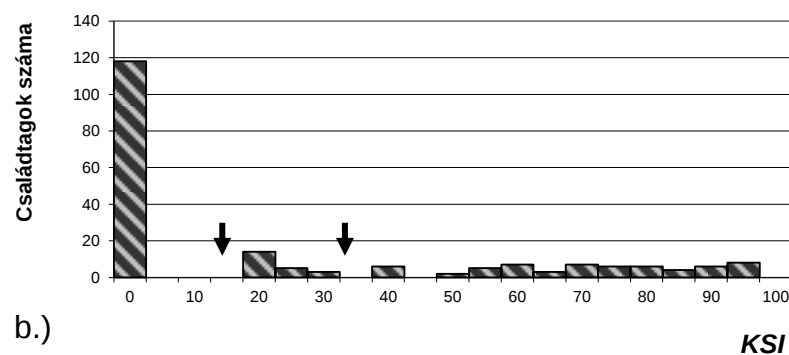
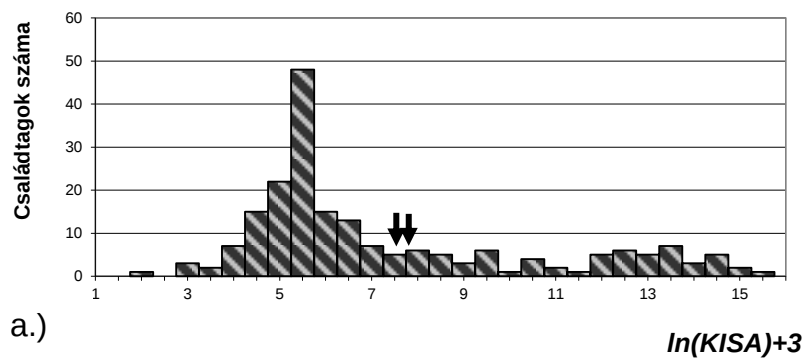
3. táblázat: A KC, nem-KC családtagok és az egészséges kontrollok elkülöníthetősége a *KSI*, *KISA* és a *6 mm Fourier Aszimmetria Index* alapján.

Az egyutas ANOVA mindhárom paraméterben szignifikáns különbséget ($p < 0,05$) mutat a három csoport között. X jelöli a *Dunn* módszerével történő páronkénti post hoc összehasonlítás során kapott $p < 0,001$ szignifikancia szintű különbségeket.

A 8. ábra mutatja a kiválasztott cornea topográfiás indexek eloszlási hisztogramjait a vizsgált populációra nézve:

1.) Közülük az $\ln(KISA)+3$ bimodális eloszlást mutat. A szubklinikai és a manifeszt KC-ra a releváns irodalomban [149] javasolt kritikus értékeket nyilakkal jelöltük az eloszlási hisztogramon (8. ábra a.) része). (Az irodalmi határértékek a *KISA* index esetén: 60 és 100, ugyanezek a transzformált $\ln(KISA)+3$ paraméterre: 7,1 és 7,6).

Látható, hogy nagyon közel vannak egymáshoz a logaritmikus transzformációnak köszönhetően, és mindkettő elválasztja a normált a betegtől. A normál populáció log-normális eloszlást mutat, amint a logaritmikus transzformáció utáni Gauss-hoz hasonló görbe tanúsítja.



8. ábra. A cornea topográfiai indexek eloszlása a vizsgált populációban.
 Eloszlási hisztogramok: a.) $\ln(KISA)+3$,
 b.) KSI ,
 c.) $6 \text{ mm Fourier Aszimmetria} \times 10$.

A $KISA$ és KSI esetében a nyilak a releváns irodalom által javasolt kritikus értékeket jelentik, amelyek elválasztják a normált, a szubklinikai KC-t és manifeszt KC-t. A $\text{Fourier Aszimmetria index} \times 10$ esetén pedig a nyíl a feltételezett kritikus értéket jelöli az egészséges és a beteg populáció között.

2.) Egy ehhez hasonló bimodalitás látható a *6 mm Fourier Aszimmetria index x 10* esetén (8. ábra c.) része). A nyíl az adataink alapján feltételezett kritikus értékre utal, ami elválasztja egymástól a KC betegeket, és a nem-KC egyéneket.

Az eloszlási hisztogramon az első minimum ezen a helyen van, utána ismét emelkedik a relatív gyakoriság. (A 4. oszlop 15 és 20 közötti értékek felel meg a hisztogramon a *6 mm Fourier Aszimmetria index x10* esetén, a feltételezett kritikus értékre utaló nyíl pedig nagyjából 18-nak).

Az eloszlási hisztogramnak az első része, amely a feltételezett kritikus érték elé esik, jelképezi a nem beteg populációt. Ennek a hisztogramról becsülhető átlagértéke jól korrelál a komplex szegregáció analízisben az egészséges populációra illesztett adatokkal (lásd 6. táblázat: a *Fourier* – azaz a *6 mm Fourier Aszimmetria index x 10* – a félkövér számokkal írt sorban $\mu_{BB} = 5,27$), és jó egyezést mutat az eredeti közleményben közölt értékekkel [157]. (Ebben az idézett cikkben a normál tartomány, az átlag ± 2 SD, a *Fourier Aszimmetria Indexre*: 0,02-0,68, ennek a tízszeres értéke: 0,2-6,8.)

Mind a *KISA*, mind a *6 mm Fourier Aszimmetria Index* eloszlása folytonosságot mutat az alacsony és magas, betegségre jellemző értékek között.

3.) Ezzel szemben a *KSI* három csoportot különít el: a normált, a szubklinikai KC-t és a KC-t (8. ábra b.) része), amint Smolek és Klyce definiálták az eredeti közleményükben [31]. Ennek alapján jelöltük be a javasolt kritikus értékeket (15 és 30) az eloszlási hisztogramunkon.

4.1.3. Komplex szegregáció analízis

Mindhárom paraméter (*KSI*, *KISA* és *6 mm Fourier Aszimmetria Index*) folytonosságot mutat az egészségestől a szubklinikai keratoconuson át a betegig, ezért az indexeket folytonos változókként elemeztük. A komplex szegregáció analízis során a Módszerek fejezet megfelelő részei alapján (3.5.1. rész és 1. táblázat) engedélyeztük a programnak, hogy átlagot becsüljön a beteg és nem beteg corneákra nézve azért, hogy a lehetséges legjobb illesztést érjük el minden esetre, a korábban közölt irodalmi kritikus értékektől függetlenül [31] [149] [157]. A 4-6. táblázatok foglalják össze a komplex szegregáció analízis eredményeit.

A *KISA* index esetén a „legtakarékosabb” illesztési modellnek a *nem-Mendeli major gén+környezeti* hatás modellje bizonyult, habár ez nem különbözik szignifikánsan a többi elfogadott és nem-Mendeli major gént (MG) magában foglaló modelltől (kizárólag *MG* vagy *MG poligénes* komponenssel, lásd 4. táblázat).

KISA	qA	τ_{AA}	τ_{AB}	τ_{BB}	μ_{AA}	μ_{AB}	μ_{BB}	σ^2	ρ_{FM}	ρ_{PO}	$-2\ln(L)$	AIC	χ^2 (df)	P_(general)	P_(MG+K)
1.Általános	0,15	0,054	0,019	0,058	11,35	7,29	4,91	0,74	0,096	$\rho_{FO}:0,0009$ $\rho_{MO}:0,24$	456,606	480,606	–	–	–
2.Sporadikus	[0]	[0]	[0]	[0]	5,44	$=\mu_{AA}$	$=\mu_{AA}$	2,1	[0]	[0]	519,234	523,234	62,628 (10)	<0,001	–
3.Környezeti	0,06	$=qA$	$=qA$	$=qA$	11,49	7,56	4,93	0,775	0,06	$\rho_{FO}:0,065$ $\rho_{MO}:0,258$	460,828	478,828	4,222(3)	>0,1	>0,1
4.Mendeli major gén	0,032	[1]	[0,5]	[0]	11,08	5,33	5,23	1,27	[0]	[0]	481,235	491,235	24,629 (7)	<0,001	–
5.Poligénes	[0]	[0]	[0]	[0]	5,18	$=\mu_{AA}$	$=\mu_{AA}$	2,06	[0]	0,064 $h^2=0,128$	515,892	521,892	59,286 (9)	<0,001	–
6.Nem-Mendeli major gén (MG)	0,08	0,054	0,03	0,041	12,34	7,98	5,1	0,8	[0]	[0]	465,001	481,001	8,395 (4)	>0,05	>0,1
7.Kevert modell (MG+poligénes)	0,105	0,048	0,022	0,048	11,37	7,7	4,93	0,79	[0]	0,18 $h^2=0,36$	461,292	479,292	4,686 (3)	>0,1	>0,1
8.MG+ környezeti	0,097	0,153	0,148	0,000	11,2	5,55	5,07	1,22	0,468	[0]	462,210	478,210	5,604 (4)	>0,1	–

4. táblázat: A komplex szegregáció analízis eredménye a *KISA* index esetén arra utal, hogy a „legtakarékosabb” illesztési modell a *keratoconus* öröklődésére a nem-Mendeli major gén+környezeti hatás modellje.

KISA jelen esetben az $\ln(KISA)+3$ -at, a transzformált alakot jelenti. A szögletes zárójel arra utal, hogy az adott paraméter arra az értékre fixált a modellben. Paraméterek a modellekben: qA : az *A* allél frekvenciája, τ_{AA} , τ_{AB} , τ_{BB} : transzmissziós valószínűségek, μ_{AA} , μ_{AB} , μ_{BB} : átlagértékek, σ^2 : variancia, ρ : reziduális familiális korreláció rokonpárok között: ρ_{FM} : házaspárok tagjai között (apa és anya), ρ_{PO} : szülők és gyermekek között, ρ_{FO} : apa és gyermeke, ρ_{MO} : anya és gyermeke között, h^2 : becsült heritabilitás a poligénes hatás révén. $-2\ln(L)$ a valószínűség kétszeres, negatív logaritmus minden egyes modellre, *AIC*: Akaike információs kritériuma, χ^2 a valószínűségi hányados próba statisztikája, amely az adott modellnek a referencia-modelltől való eltérését jellemzi, *df*: a statisztika szabadsági foka, $p_{(general)}$ annak a valószínűsége, hogy az adott modell ugyanolyan jól illeszkedik az adatokra, mint az általános, referencia modell, $p_{(MG+K)}$ pedig annak a valószínűsége, hogy az adott modell ugyanolyan jól illeszkedik az adatokra, mint a „legtakarékosabb” specifikus modell, amit az indexre elfogadtunk (a *KISA* index esetén a nem-Mendeli major gén+környezeti hatás modell). A „legtakarékosabb” modell adatait félkövér, a többi elfogadott, de kevésbé „takarékos” modell adatait pedig dőlt karakterekkel írtuk.

A *KSI* és a *6 mm Fourier Aszimmetria Index* analízise során a nem-Mendeli major gén (MG) modell bizonyult a „legtakarékosabbnak”. Ugyanakkor a *sporadikus*, a *poligénes* és a *Mendeli major gén* modelleket következetesen elvetettük minden egyes indexre nézve ($p<0,001$). A *KISA* és a *6 mm Fourier Aszimmetria Index* esetében a *környezeti* modellt is elfogadtuk.

KSI	qA	τ_{AA}	τ_{AB}	τ_{BB}	μ_{AA}	μ_{AB}	μ_{BB}	σ^2	ρ_{FM}	ρ_{PO}	$-2\ln(L)$	AIC	χ^2 (df)	P_(general)	P_(MG)
1.Általános	0,266	0,048	0,031	0,097	70,96	22,09	0,07	12,03	0,102	$\rho_{FO}:0,072$ $\rho_{MO}:-0,044$	934,755	958,755	–	–	–
2.Sporadikus	[0]	[0]	[0]	[0]	5,93	$=\mu_{AA}$	$=\mu_{AA}$	228,17	[0]	[0]	1198,84	1202,84	264,085 (10)	<0,001	–
3.Környezeti	0,114	$=qA$	$=qA$	$=qA$	70,98	22,08	0,07	12,03	0,102	$\rho_{FO}:0,072$ $\rho_{MO}:-0,044$	944,87	962,87	10,115 (3)	<0,025	–
4.Mendeli major gén	0,044	[1]	[0,5]	[0]	67,96	4,558	4,557	77,09	[0]	[0]	1095,22	1105,22	160,465 (7)	<0,001	–
5.Poligénes	[0]	[0]	[0]	[0]	5,4	$=\mu_{AA}$	$=\mu_{AA}$	227,96	[0]	0,014 $h^2=0,028$	1198,69	1204,69	263,935 (9)	<0,001	–
6.Nem-Mendeli major gén (MG)	0,266	0,048	0,031	0,097	71,24	21,92	0,0014	12,41	[0]	[0]	940,093	956,093	5,338 (4)	>0,1	–
7.Kvert modell (MG+poligénes)	0,266	0,048	0,03	0,097	71,24	21,9	-0,002	12,41	[0]	0,0067 $h^2=0,0134$	940,03	958,03	5,275 (3)	>0,1	>0,1
8.MG+ környezeti	0,266	0,048	0,031	0,097	71,31	21,97	0,003	12,4	0,088	[0]	939,58	957,58	4,825 (3)	>0,1	>0,1

5. táblázat: A komplex szegregáció analízis a *KSI* index esetén azt mutatja, hogy a „legtakarékosabb” illesztési modell a keratoconus öröklődésére a nem-Mendeli major gén modell.

A szögletes zárójel arra utal, hogy az adott paraméter arra az értékre fixált a modellben. Paraméterek a modellekben: qA : az *A* allél frekvenciája, τ_{AA} , τ_{AB} , τ_{BB} : transzmissziós valószínűségek, μ_{AA} , μ_{AB} , μ_{BB} : átlagértékek, σ^2 : variancia, ρ : reziduális familiális korreláció rokonpárok között: ρ_{FM} : házaspárok tagjai között (apa és anya), ρ_{PO} : szülők és gyermekek között, ρ_{FO} : apa és gyermeke, ρ_{MO} : anya és gyermeke között, h^2 : becsült heritabilitás a poligénes hatás révén. $-2\ln(L)$ a valószínűség kétszeres, negatív logaritmus minden egyes modellre, *AIC*: Akaike információs kritériuma, χ^2 a valószínűségi hányados próba statisztikája, amely az adott modellnek a referencia-modelltől való eltérését jellemzi, *df*: a statisztika szabadsági foka, $P_{(general)}$ annak a valószínűsége, hogy az adott modell ugyanolyan jól illeszkedik az adatokra, mint az általános, referencia modell, $P_{(MG)}$ pedig annak a valószínűsége, hogy az adott modell ugyanolyan jól illeszkedik az adatokra, mint a „legtakarékosabb” specifikus modell, amit az indexre elfogadtunk (a *KSI* index esetén a nem-Mendeli major gén modell). A „legtakarékosabb” modell adatait félkövér, a többi elfogadott, de kevésbé „takarékos” modell adatait pedig dőlt karakterekkel írtuk.

Fourier	qA	τ_{AA}	τ_{AB}	τ_{BB}	μ_{AA}	μ_{AB}	μ_{BB}	σ^2	ρ_{FM}	ρ_{PO}	-2ln(L)	AIC	χ^2 (df)	P_(general)	P_(MG)
1.Általános	0,018	0	0,049	0,027	39,52	25,37	5,14	7,7	-0,142	$\rho_{FO}:0,044$ $\rho_{MO}:-0,009$	770,385	792,385	–	–	–
2.Sporadikus	[0]	[0]	[0]	[0]	6,33	$=\mu_{AA}$	$=\mu_{AA}$	32,9	[0]	[0]	918,046	922,046	147,661 (9)	<0,001	–
3.Környezeti	0,028	$=qA$	$=qA$	$=qA$	39,54	25,37	5,14	7,7	-0,142	$\rho_{FO}:0,045$ $\rho_{MO}:-0,009$	771,493	789,493	1,108 (2)	>0,1	<0,05
4.Mendeli major gén	0,042	[1]	[0,5]	[0]	29,34	5,263	5,263	9,25	[0]	[0]	793,141	803,141	22,756 (6)	<0,005	–
5.Poligénes	[0]	[0]	[0]	[0]	5,98	$=\mu_{AA}$	$=\mu_{AA}$	32,77	[0]	0,013 $h^2=0,026$	917,432	923,432	147,047 (8)	<0,001	–
6.Nem-Mendeli major gén (MG)	0,017	0	0,048	0,024	39,92	26,31	5,27	8,09	[0]	[0]	775,430	789,430	5,045 (4)	>0,1	–
7.Kvert modell (MG+poligénes)	0,018	0	0,05	0,025	39,76	26,09	5,19	8,04	[0]	0,006 $h^2=0,012$	775,296	791,296	4,911 (3)	>0,1	>0,1
8.MG+ környezeti	0,017	0	0,047	0,024	39,93	26,49	5,27	8,13	-0,195	[0]	774,339	790,339	3,954 (3)	>0,1	>0,1

6. táblázat: A 6 mm Fourier aszimmetria index esetén, a komplex szegregáció analízis alapján a „legtakarékosabb” illesztési modell a keratoconus öröklődésére a nem-Mendeli major gén modell.

Fourier jelen esetben a 6 mm Fourier Aszimmetria Index x10-et, a transzformált alakot jelenti. A szögletes zárójel arra utal, hogy az adott paraméter arra az értékre fixált a modellben. Paraméterek a modellekben: qA: az A allél frekvenciája, τ_{AA} , τ_{AB} , τ_{BB} : transzmissziós valószínűségek, μ_{AA} , μ_{AB} , μ_{BB} : átlagértékek, σ^2 : variancia, ρ : reziduális familiális korreláció rokonpárok között: ρ_{FM} : házaspárok tagjai között (apa és anya), ρ_{PO} : szülők és gyermekek között, ρ_{FO} : apa és gyermeke, ρ_{MO} : anya és gyermeke között, h^2 : becsült heritabilitás a poligénes hatás révén. $-2\ln(L)$ a valószínűség kétszeres, negatív logaritmus minden egyes modellre, AIC: Akaike információs kritériuma, χ^2 a valószínűségi hányados próba statisztikája, amely az adott modellnek a referencia-modelltől való eltérését jellemzi, df: a statisztika szabadsági foka, $p_{(general)}$ annak a valószínűsége, hogy az adott modell ugyanolyan jól illeszkedik az adatokra, mint az általános, referencia modell, $p_{(MG)}$ pedig annak a valószínűsége, hogy az adott modell ugyanolyan jól illeszkedik az adatokra, mint a „legtakarékosabb” specifikus modell, amit az indexre elfogadtunk (a 6 mm Fourier Aszimmetria Index esetén a nem-Mendeli major gén modell). A „legtakarékosabb” modell adatait félkövér, a többi elfogadott, de kevésbé „takarékos” modell adatait pedig dőlt karakterekkel írtuk.

Annak ellenére, hogy a vizsgálatainkba olyan családokat válogattunk be, ahol a probandon kívül nem volt ismert keratoconus senki másnál, azonosítottunk négy, két generációs családot, ahol mindkét generációban találtunk a betegségben érintett személyeket, így módon feltételezhető volt a Mendeli domináns öröklődés. Annak érdekében, hogy elimináljuk ezeknek a családfáknak az összezavaró hatását, megismételtük a komplex szegregáció analízist ennek a négy családnak a kizárásával. A megmaradó 56 család esetén a nem-Mendeli major gén modell

maradt a „legtakarékosabb” illesztési modell minden indexre nézve egységesen, habár az *AIC* értékek alacsonyabbak voltak, utalva a családok közötti heterogenitás csökkenésére.

56 család	KSI					KISA					Fourier				
Modellek	<i>-2ln(L)</i>	<i>AIC</i>	χ^2 (df)	$p_{(general)}$	$p_{(MG)}$	<i>-2ln(L)</i>	<i>AIC</i>	χ^2 (df)	$p_{(general)}$	$p_{(MG)}$	<i>-2ln(L)</i>	<i>AIC</i>	χ^2 (df)	$p_{(general)}$	$p_{(MG)}$
1.Általános	856,452	880,452	–	–	–	412,32	432,32	–	–	–	659,439	683,439	–	–	–
2.Sporadikus	1094,06	1098,06	237,608 (10)	<0,001	–	464,079	468,079	51,759 (10)	<0,001	–	767,899	771,899	108,46 (10)	<0,001	–
3.Környezeti	868,786	886,786	12,334 (3)	<0,01	–	419,903	437,903	7,583 (3)	>0,05	<0,01	662,879	680,879	3,44 (3)	>0,1	>0,05
4.Mendeli major gén	1012,32	1022,32	155,868 (7)	<0,001	–	440,545	450,545	28,225 (7)	<0,001	–	689,636	699,636	30,197 (7)	<0,001	–
5.Poligén	1093,82	1099,82	237,368 (9)	<0,001	–	457,263	463,263	44,943 (9)	<0,001	–	766,311	772,311	106,872 (9)	<0,001	–
6.Nem-Mendeli major gén (MG)	858,73	874,73	2,278 (4)	>0,1	–	412,98	424,98	0,66 (4)	>0,1	–	659,736	675,736	0,297 (4)	>0,1	–
7.Kevert modell (MG+poligén)	858,705	876,705	2,253 (3)	>0,1	>0,1	412,834	426,834	0,514 (3)	>0,1	>0,1	659,673	677,673	0,234 (3)	>0,1	>0,1
8.MG+ környezeti	858,092	876,092	1,64(3)	>0,1	>0,1	412,843	426,843	0,523 (3)	>0,1	>0,1	659,674	677,674	0,235 (3)	>0,1	>0,1

7. táblázat: A négy család kizárásával, a megmaradó 56 család adatai alapján készült komplex szegregáció analízis valamennyi index esetén azt mutatja, hogy a „legtakarékosabb” illesztési modell a *keratoconus* öröklődésére a nem-Mendeli major gén modell.

KISA az $\ln(KISA)+3$ -at, a *Fourier* pedig a 6 mm *Fourier Aszimmetria Index* x10-et, a transzformált alakot jelenti. $-2\ln(L)$ a valószínűség kétszeres, negatív logaritmus a minden egyes modellre, *AIC*: Akaike információs kritériuma, χ^2 a valószínűségi hányados próba statisztikája, amely az adott modellnek a referencia-modelltől való eltérését jellemzi, *df*: a statisztika szabadsági foka, $p_{(general)}$ annak a valószínűsége, hogy az adott modell ugyanolyan jól illeszkedik az adatokra, mint az általános, referencia modell, $p_{(MG)}$ pedig annak a valószínűsége, hogy az adott modell ugyanolyan jól illeszkedik az adatokra, mint a „legtakarékosabb” specifikus modell, amit az indexre elfogadtunk (minden index esetén a nem-Mendeli major gén modell). A „legtakarékosabb” modell adatait félkövér, a többi elfogadott, de kevésbé „takarékos” modell adatait pedig dőlt karakterekkel írtuk.

A fentebb említett négy családfát, ahol mindkét generációban előfordultak a betegségben érintett személyek, külön is megvizsgáltuk. A négy család összesen 16 tagjára vonatkozóan megkíséreltük lefuttatni a komplex szegregáció analízist, azonban a rendkívül kevés adat miatt nem kaptunk értékelhető eredményeket, tehát nem sikerült bizonyítanunk, hogy ezeknél a családoknál valóban domináns lehet-e a KC öröklődése.

Amikor kizárólag a 20 évet betöltött családtagokat (≥ 20 év) vettük be a komplex szegregáció analízisbe (8. táblázat) – feltételezve, hogy erre a korra már teljes mértékben manifesztálódik a betegség – szintén a *nem-Mendeli major gén* maradt az elfogadott modell. A *KSI* és a *KISA* index esetében a *nem-Mendeli MG* volt a „legtakarékosabb” modell, és ennek a valószínűsége megnövekedett ahhoz az illesztéshez képest, ahol a 20 évesnél fiatalabb családtagokat is bevontuk. Ez összecseng azzal, hogy várhatóan a tünetek jobban manifesztálódnak egy későbbi életkorban. A *6 mm Fourier Aszimmetria Index* esetén a *nem-Mendeli MG+poligén* hatás lett a „legtakarékosabb” modell, habár csökkent annak a valószínűsége, hogy ez ugyanolyan jól illeszkedik az adatokra, mint az általános modell ($p < 0,05$).

20 év alattiak kizárásával	<i>KSI</i>					<i>KISA</i>					<i>Fourier</i>				
Modellek	$-2\ln(L)$	AIC	χ^2 (df)	$p_{(general)}$	$p_{(MG)}$	$-2\ln(L)$	AIC	χ^2 (df)	$p_{(general)}$	$p_{(MG)}$	$-2\ln(L)$	AIC	χ^2 (df)	$p_{(general)}$	$p_{(MG)}$
1.Általános	827,402	851,402	–	–	–	397,26	421,26	–	–	–	653,247	677,247	–	–	–
2.Sporadikus	1033,66	1037,66	206,258 (10)	<0,001	–	449,077	453,077	51,817 (10)	<0,001	–	794,026	798,026	140,779 (10)	<0,001	–
3.Környezeti	831,373	849,373	3,971 (3)	>0,1	>0,1	399,659	417,659	2,399 (3)	>0,1	>0,1	670,3	688,3	17,053 (3)	<0,001	<0,001
4.Mendeli major gén	956,669	966,669	129,267 (7)	<0,001	–	418,751	426,751	21,491 (7)	<0,005	–	696,236	706,236	42,989 (7)	<0,001	–
5.Poligén	1033,51	1039,51	206,108 (9)	<0,001	–	447,398	453,398	50,138 (9)	<0,001	–	794,016	800,016	140,769 (9)	<0,001	–
6.Nem-Mendeli major gén (MG)	831,596	847,596	4,194 (4)	>0,1	–	401,484	417,484	4,224 (4)	>0,1	–	673,521	687,521	20,274 (4)	<0,001	<0,001
7.Kevert modell (MG+poligén)	831,586	849,586	4,184 (3)	>0,1	>0,1	405,907	421,907	8,647 (3)	<0,05	<0,05	661,647	679,647	8,4 (3)	<0,05	–
8.MG+ környezeti	831,047	849,047	3,645 (3)	>0,1	>0,1	405,064	423,064	7,804 (4)	>0,05	>0,05	672,363	688,363	19,116 (3)	<0,001	<0,001

8. táblázat: A 20 éven aluli családtagok kizárása után készült komplex szegregáció analízis azt mutatja, hogy a „legtakarékosabb” illesztési modell a keratoconus öröklődésére a nem-Mendeli major gén modell.

KISA az $\ln(KISA)+3$ -at, a *Fourier* pedig a *6 mm Fourier Aszimmetria Index* $\times 10$ -et, a transzformált alakot jelenti. $-2\ln(L)$ a valószínűség kétszeres, negatív logaritmus minden egyes modellre, AIC: Akaike információs kritériuma, χ^2 a valószínűségi hányados próba statisztikája, amely az adott modellnek a referencia-modelltől való eltérését jellemzi, df: a statisztika szabadsági foka, $p_{(general)}$ annak a valószínűsége, hogy az adott modell ugyanolyan jól illeszkedik az adatokra, mint az általános, referencia modell, $p_{(MG)}$ pedig annak a valószínűsége, hogy az adott modell ugyanolyan jól illeszkedik az adatokra, mint a „legtakarékosabb” specifikus modell, amit az indexre elfogadtunk (a *KSI* és *KISA* index esetén a nem-Mendeli major gén modell). A „legtakarékosabb” modell adatait félkövér, a többi elfogadott, de kevésbé „takarékos” modell adatait pedig dőlt karakterekkel írtuk.

A Fleischer gyűrű jelenléte, mint kovariáns a komplex szegregáció analízisben nagy mértékben növelte a „legtakarékosabb” *nem-Mendeli major gén* modell illeszkedését minden indexünkre nézve (9. táblázat). A *nem* mint kovariáns a *KSI* esetében minimálisan csökkentette a *MG* modell illeszkedését (*AIC* 957,86 vs. 956,093), viszont a *KISA* és a *6 mm Fourier Aszimmetria* indexeknél azt találtuk, hogy a kovariánsként használt *nem* valamelyest elősegítette az illeszkedést (9. táblázat). A Fleischer gyűrű jelenléte ezekben az analízisekben is erőteljes hatással bírt, ez is megerősítette azt a feltételezésünket, hogy érdemes lenne alaposabban utánajárni az esetleges jelentőségének.

Index	Kovariáns	Modell	qA	τ_{AA}	τ_{AB}	τ_{BB}	μ_{AA}	μ_{AB}	μ_{BB}	σ^2	ρ_{FM}	ρ_{PO}	-2ln(L)	AIC
KSI	–	MG	0,27	0,048	0,031	0,097	71,2	21,9	0,0	12,4	[0]	[0]	940,093	956,093
KSI	Nem	MG	0,27	0,048	0,031	0,097	71,1	22,0	0,0	12,4	[0]	[0]	939,86	957,86
KSI	Fleischer	MG	0,25	0,058	0,025	0,069	71,3	21,9	0,2	11,3	[0]	[0]	750,693	768,693
KISA	–	MG+körny	0,10	0,153	0,148	0,000	11,2	5,6	5,1	1,2	0,468	[0]	462,21	478,21
KISA	–	MG+poli	0,11	0,048	0,022	0,048	11,4	7,7	4,9	0,8	[0]	$h^2=0,36$	461,292	479,292
KISA	Nem	MG+poli	0,15	0,048	0,019	0,058	11,1	7,3	4,8	0,8	[0]	$h^2=0,36$	457,944	477,944
KISA	Fleischer	MG+poli	0,11	0,086	0,021	0,052	11,1	7,7	5,1	0,6	[0]	$h^2=0,35$	358,258	378,258
Fourier	–	MG	0,02	0,000	0,048	0,024	39,9	26,3	5,3	8,1	[0]	[0]	775,43	789,43
Fourier	Nem	MG	0,08	0,071	0,019	0,039	34,4	17,5	4,9	4,9	[0]	[0]	743,975	761,975
Fourier	Fleischer	MG	0,11	0,088	0,013	0,031	29,6	14,6	5,1	4,4	[0]	[0]	595,055	613,055

9. táblázat: Összefoglaló táblázat, mely a kovariáns nélküli, illetve a Fleischer gyűrű vagy a *nem* mint kovariáns segítségével végzett komplex szegregáció analízis eredményeit tartalmazza.

A táblázat minden analízisre nézve a „legtakarékosabb” illesztési modellt mutatja. A *KISA* az $\ln(KISA)+3$ -at, a *Fourier* a *6 mm Fourier Aszimmetria Index* $\times 10$ -et, a transzformált alakot jelenti. MG: Nem-Mendeli major gén, körny: a környezeti, poli: a poligénes hatás. A szögletes zárójel arra utal, hogy az adott paraméter arra az értékre fixált a modellben. Paraméterek a modellekben: qA: az A allél frekvenciája, τ_{AA} , τ_{AB} , τ_{BB} : transzmissziós valószínűségek, μ_{AA} , μ_{AB} , μ_{BB} : átlagértékek, σ^2 : variancia, ρ : reziduális familiális korreláció rokonpárok között: ρ_{FM} : házaspárok tagjai között (apa és anya), ρ_{PO} : szülők és gyermekek között, h^2 : becsült heritabilitás a poligénes hatás révén. $-2\ln(L)$ a valószínűség kétszeres, negatív logaritmus minden egyes modellre, AIC: Akaike információs kritériuma.

A „legtakarékosabb” *nem-Mendeli major gén* modellekben a becsült allél frekvencia meglehetősen magas volt (qA: 0,11 és 0,27 közé esik), a penetrancia pedig alacsony volt ($\tau = 0,05$ -0,10). Másrészt viszont azok a fenotípusok, amelyek látszólag nem hordozzák a betegség allélját, mégis bizonyos valószínűséggel továbbadhatják a beteg fenotípust ($\tau_{BB} = 0,024$ -0,097 a MG modellekben, 4-6. táblázatok).

A major gén hatás a poligénes komponenssel (*kevert* modell) szintén minden index esetében elfogadott, habár a poligénes hatásnak köszönhető becsült heritabilitás alacsony volt ($h^2 = 0,012$ -0,36). Ennek megfelelően, a poligénes hatásnak tulajdonítható varianciát elhanyagolható mértékűnek becsültük ($\sigma_v^2 = 0,00001$).

A MG modellekre vonatkozóan, a szigorúan domináns vagy recesszív modellekre korlátozva a paramétereket, nem kaptunk elfogadható átlagértékeket, tehát a háttérben álló major génhatásnak a domináns vagy recesszív voltáról nem sikerült információt szereznünk.

4.2. Klinikai, korrelációs vizsgálat

KC családok (n=47)	KC betegek	KC családtagok	Egészséges kontrollok
Személyek száma	49 (87 szem)	117 (233 szem)	142 (279 szem)
Kor (év) átlag $\pm$ szórás (minimum-maximum)	33,3 $\pm$ 11,7 (15-64)	41,3 $\pm$ 18,6 (9-81)	35,9 $\pm$ 13,7 (14-74)
Személyek száma, akiknél centrális szaruhártya-vastagság mérés történt	15 (27 szem)	45 (89 szem)	26 (52 szem)
Személyek száma, akiknek Fleischer gyűrűjük van	33 (71,7%)	36 (30,8%)	3 (2,1%)
Személyek száma, akiknek prominens corneális idegeik vannak	7 (15,2%)	17 (14,5%)	4 (2,8%)

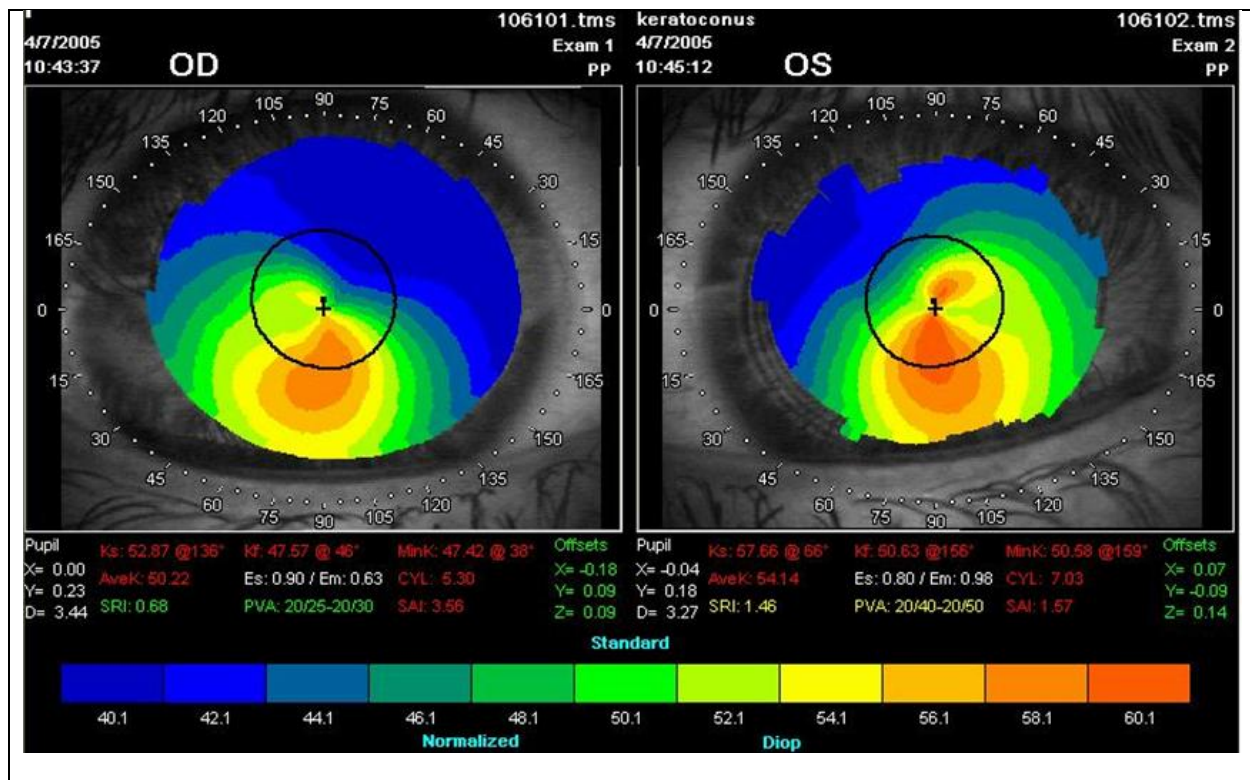
10. táblázat: A vizsgált 47 KC család és kontrolljaik jellemzői.

Minden személy esetén elvégeztük a réslámpás és a szaruhártya topográfiás vizsgálatot, és egy alpopuláción centrális szaruhártya-vastagság mérés is történt. Az operált szemek adatait nem használtuk fel (3 proband kétoldali, 5 pedig egyoldali keratoplasztikán esett át). Korábbi, egyoldali szaruhártya sérülés miatt egy családtag, illetve 5 kontroll esetén a sérült szem adatait nem használtuk fel. A kontrollok nem különböztek szignifikánsan a KC családok tagjaitól, kor- ($p=0,11$), és nembeli ($p=0,153$) eloszlást tekintve.

4.2.1. A vizsgált populáció jellemzői

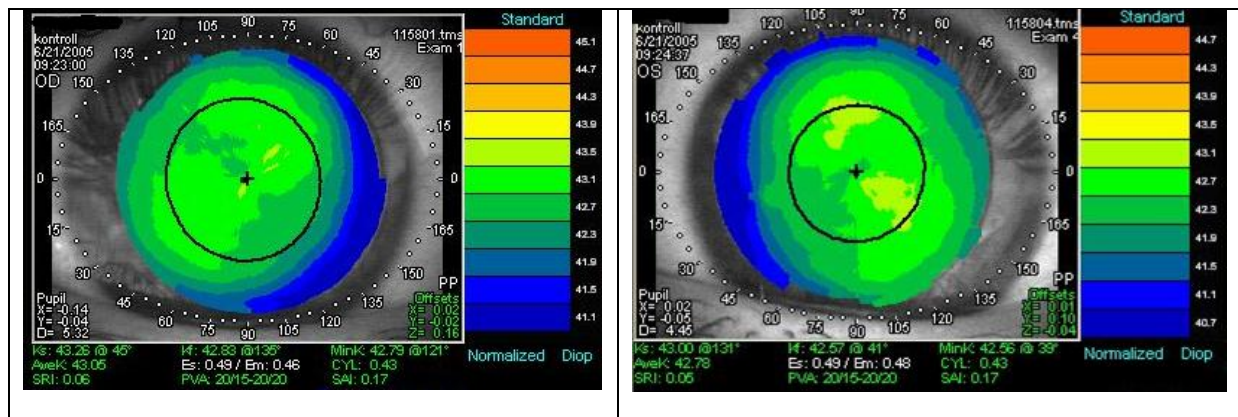
A 10. táblázat mutatja a vizsgálatban részt vevő populáció jellemzőit. A kontrollok nem különböznek szignifikánsan a KC családok tagjaitól kor ($p=0,11$), és nembeli eloszlásukat ($p=0,153$) tekintve. A keratoconusos betegek 71,7%-ában találtunk Fleischer gyűrűt, prominens corneális idegeket pedig 15,2%-ban. A KC betegek családtagjai körében 30,8%-ban figyeltünk meg Fleischer gyűrűt, prominens idegeket pedig 14,5%-ban. A kontroll egyének esetében érdekes módon nem a Fleischer gyűrű és a prominens idegek teljes hiányát észleltük, hanem kis mértékben ugyan, de jelen voltak ezek a klinikai jelek: 2,1%-ban találtunk Fleischer gyűrűt, és 2,8%-ban prominens corneális idegeket (10. táblázat).

A következő ábrákon példákat láthatunk egy keratoconusos, egy egészséges kontroll, és két KC családtag szemének topográfiás felvételeire (9-11. ábrák). Ezeknél a keratoconusos rokonoknál minimális, a KC-ra gyanús corneális mintázat látható, viszont a KSI index a szubklinikai KC-ra vonatkozó küszöbértékét még nem éri el. Az ő esetükben Fleischer gyűrű jelenlétéhez társulnak ezek a jellegzetes, aszimmetrikus mintázatok a szaruhártyán (11. ábra).



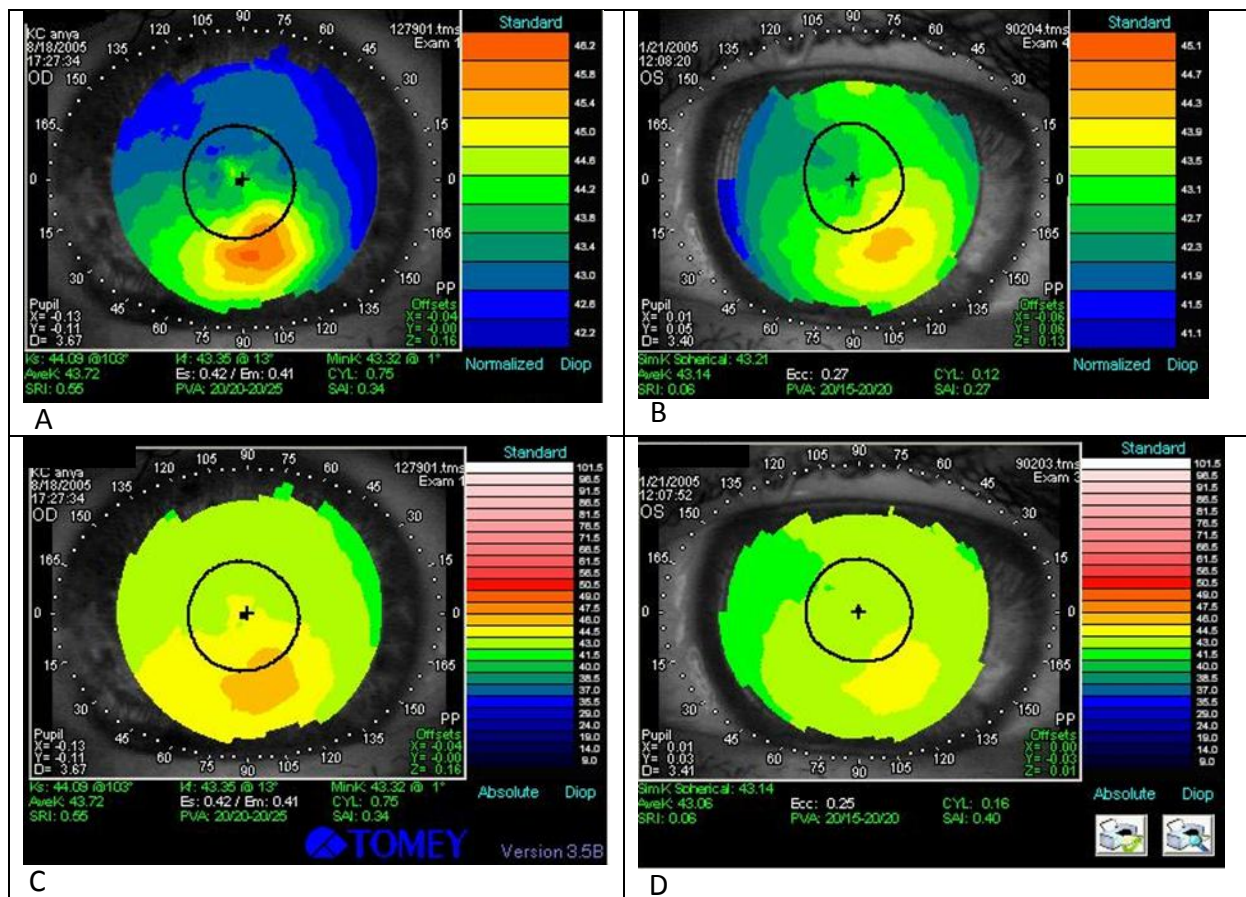
9. ábra: Keratoconusos betegről készült szaruhártya topográfiás felvétel.

A színkódolt skála segítségével jól látható mindkét szemben a cornea alsó részének elölboltosulása, és ennek révén a megnövekedett törőerő, amely a betegsége jellemző. OD a jobb szemet, OS a bal szemet jelenti.



10. ábra: Egészséges kontroll személyről készült szaruhártya topográfiás felvétel.

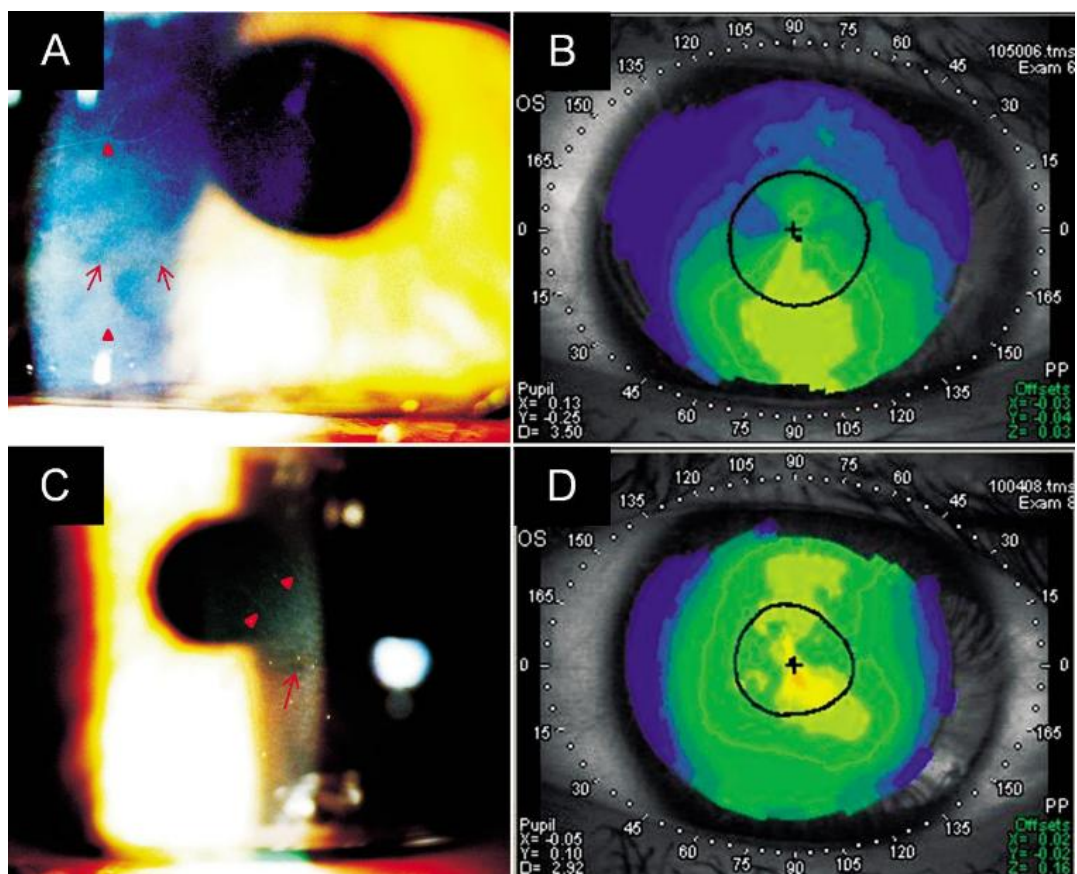
OD a jobb szemet, OS a bal szemet jelenti.



11. ábra: Keratoconusos családtagok corneáiról készült topográfiás felvételek.

Az A és C képeken egy KC beteg édesanyjának a jobb szeméről, a B és D képeken egy másik KC beteg testvérének bal szeméről készült felvételek láthatók. Az A és B kép a normalizált skálával, a C és D kép az abszolút skálával mutatja a topográfiás képeket. A normalizált skála részletesebben mutatja a corneális törőerő változását a szaruhártya felszín mentén, míg ugyanezt az abszolút skála egy jóval tágasabb tartomány mentén teszi, viszont ennek segítségével könnyen összehasonlíthatók a mérési eredmények más mérésekével. Mindkét keratoconusos családtagnál minimális, a KC-ra gyanús corneális mintázat látható, viszont a KSI index a szubklinikai KC-ra vonatkozó küszöbértékét még nem éri el az ő esetükben. Mindkét rokonnál megfigyelhető a Fleischer gyűrű a szaruhártyán.

Néhány kontroll személy szaruhártyáján Fleischer gyűrű fordult elő prominens idegekkel, illetve a Fleischer gyűrű kritériumait el nem érő vaslerakódás prominens corneális idegekkel együtt. Ezeknek az egyéneknek a cornea mintázata aszimmetrikus, és igen kis mértékben ugyan, de a keratoconusra jellemző mintázatokra hasonlít (12. ábra).



12. ábra. Két egészséges kontroll egyén szemének réslámpás- és cornea topográfiás felvétele.

A: Réslámpás felvétel egy 39 éves férfiról, akinek corneális Fleischer gyűrűje (nyilak) és prominens corneális idegei (nyílhegyek) is vannak. B: Ugyanannak a férfinak a cornea topográfiás felvételén aszimmetrikus corneális mintázat látható. C: Egy 32 éves nő réslámpás felvétele, akinek corneális vas depozituma van, ami nem éri el a 2 mm-es hosszúságot, ezért nem minősíthető Fleischer gyűrűnek (nyíl), ugyanakkor vannak prominens corneális idegei (nyílhegyek). D: Ugyanannak a nőnek a videokeratográfiás felvételén aszimmetrikus szaruhártya mintázat mutatkozik elferdült radiális tengellyel.

4.2.2. Korrelációs statisztikák a keratoconusos betegek rokonai körében

Paraméterek	Pearson-féle korreláció	
	r	p
FLEISCHER GYŰRŰ		
Pachymetria	-0,234	0,027
KSI	0,169	0,00958
KISA	0,155	0,0178
3 mm Fourier Aszimmetria	0,214	0,001
6 mm Fourier Aszimmetria	0,272	0,0000261
I-S	0,229	0,000419
PACHYMETRIA		
Prominens idegek	-0,235	0,0265
KSI	-0,377	0,000271
KISA	-0,342	0,00104
3 mm Fourier Aszimmetria	-0,425	0,0000328
6 mm Fourier Aszimmetria	-0,427	0,0000303
I-S	-0,338	0,00119
PROMINENS IDEGEK		
Fleischer gyűrű	0,00437	0,947
KSI	0,237	0,000261
KISA	0,246	0,000148
3 mm Fourier Aszimmetria	0,228	0,000463
6 mm Fourier Aszimmetria	0,234	0,000308
I-S	-0,0287	0,663

11. táblázat: Korrelációs statisztikák a KC betegek rokonai körében.

A keratoconusos betegek rokonai esetében a Fleischer gyűrű jelenléte szignifikáns, de nem túl erős korrelációt mutat a centrális corneális pachymetria adatokkal és minden topográfias indexszel. A centrális corneális pachymetria adatok szignifikáns, de nem túl erős negatív korrelációt adnak a prominens corneális idegek jelenlétével és minden topográfias indexszel. A prominens corneális idegek jelenléte szignifikáns, de nem túl erős korrelációt mutat minden topográfias indexszel, kivéve az I-S-t. r : korrelációs koefficiens. A szignifikáns korrelációs eredményeket dőlt karakterekkel jelöltük.

A KC betegek családtagjai esetén szignifikáns negatív korreláció áll fenn a Fleischer gyűrű jelenléte és a centrális corneális pachymetria adatok között ($r = -0,234$).

Minden topográfiás index szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a Fleischer gyűrűvel (11. táblázat). Ezek a korrelációs eredmények arra utalnak, hogy a Fleischer gyűrű a KC betegek rokonai körében a vékonyabb és aszimmetrikusabb corneákon fordul elő. A prominens corneális idegek esetén szignifikáns pozitív korrelációt kaptunk az összes topográfiás indexre, kivéve az *I-S*-re. A prominens idegek és a centrális szaruhártya pachymetria adatok közötti szignifikáns negatív korreláció azt jelzi, hogy a prominens idegek nagyobb valószínűséggel jelennek meg a vékonyabb corneákon ($r = -0,235$). A centrális cornea pachymetria értékek szignifikáns negatív korrelációt mutattak minden vizsgált topográfiás indexre nézve ($r < -0,3$ minden indexre, és a legerősebb korrelációt a *Fourier Aszimmetria* indexekre kaptuk: a 3 mm-esre $r = -0,425$, a 6 mm-esre $r = -0,427$.) Nem észleltünk szignifikáns korrelációt a Fleischer gyűrű és a prominens idegek között ezekre a szaruhártyákra, ami arra utal, hogy a prominens idegek és a Fleischer gyűrű nem nagy gyakorisággal fordulnak elő ugyanazokon az egyéneken (11. táblázat).

4.2.3. A családtagok csoportonkénti összehasonlítása *t*-próbával

A korrelációs statisztikákkal összhangban szignifikáns különbségeket találtunk *t*-próbával a keratoconusos betegek rokonai között abban a tekintetben, hogy rendelkeznek-e a KC-ra jellemző klinikai tünetekkel, vagy sem.

A 12. táblázat mutatja, hogy azokban a rokonokban, ahol megtalálható a Fleischer gyűrű, szignifikánsan vékonyabb a cornea és magasabbak a topográfiás indexek értékei azokhoz a családtagokhoz képest, akiknél nincs Fleischer gyűrű. A prominens corneális idegekkel rendelkező családtagok esetén szignifikánsan nagyobb a *KSI*, a 3 és 6 mm *Fourier Aszimmetria* indexek értéke, mint azoknál, akiknél nincsenek prominens idegek (12. táblázat). Miután a Fleischer gyűrű és a prominens idegek nem gyakran jelennek meg együttesen a corneán, az a *t*-próba, amelyben a prominens idegekkel rendelkezőket az összes többi családtaggal hasonlítjuk össze –akik magukban foglalják a Fleischer gyűrűvel bíró, vékonyabb és aszimmetrikusabb corneájú egyéneket is– csak a *KSI* és a *Fourier Aszimmetria* indexek esetén eredményez szignifikáns különbséget. Ennek megfelelően, amikor a prominens idegekkel rendelkezőket azokkal hasonlítottuk össze, akiknek a szaruhártyáján nincsenek sem prominens idegek, sem Fleischer gyűrű, szignifikáns különbségeket kaptunk minden paraméterre a *KISA* index kivételével (12. táblázat). (Ennek az indexnek a megoszlása olyan a vizsgált populációban, hogy a prominens idegekkel rendelkezők közül az egyik rokonnak vannak kiugró értékei mindkét szemre, egy másiknak csak az egyik szemére, a másik csoportban pedig valamivel több, de jóval kevésbé kiugró érték szerepel. Ez mind összességében nem mondható szignifikáns különbségnek a statisztikai program szerint.)

A KC családtagok paraméterei (n)	Pachymetria	KSI	KISA	3 mm Fourier Aszimmetria	6 mm Fourier Aszimmetria	I-S
Van Fleischer gyűrű (36)	510,87 (±40,23)	6,20 (±15,94)	261,37 (±1497,80)	0,43 (±0,35)	0,67 (±0,54)	2,48 (±4,91)
Nincs Fleischer gyűrű (81)	530,17 (±32,90)	2,49 (±9,50)	19,02 (±91,67)	0,30 (±0,23)	0,43 (±0,30)	1,06 (±2,50)
<i>p</i>	0,017	0,010	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Vannak prominens idegek (17)	506,72 (±48,44)	10,45 (±23,31)	566,07 (±2163,86)	0,50 (±0,43)	0,74 (±0,74)	1,41 (±2,07)
Nincsenek prominens idegek (100)	527,96 (±31,79)	2,48 (±8,22)	13,24 (±28,19)	0,31 (±0,24)	0,47 (±0,31)	1,51 (±3,67)
<i>p</i>	0,083	0,006	0,467	0,002	0,008	0,349
Vannak prominens idegek (17)	506,72 (±48,44)	10,45 (±23,31)	566,07 (±2163,86)	0,50 (±0,43)	0,74 (±0,74)	1,41 (±2,07)
Nincsenek prominens idegek, sem Fleischer gyűrű (70)	530,55 (±31,86)	2,02 (±8,17)	12,90 (±31,79)	0,28 (±0,21)	0,41 (±0,26)	1,03 (±1,50)
<i>p</i>	0,024	0,001	0,907	<0,001	<0,001	0,029

12. táblázat: A családtagok csoportjainak összehasonlítása a vizsgált populációban.

A corneális Fleischer gyűrűvel rendelkező KC családtagoknak szignifikánsan vékonyabb a corneájuk (*t*-próba), és minden topográfias indexüknek magasabb az értéke (*Mann-Whitney rangösszeg* próba), mint a Fleischer gyűrűvel nem rendelkezőknek. Azoknak a rokonoknak, akiknek prominens corneális idegeik vannak, szignifikánsan magasabb a KSI, 3 és 6 mm Fourier Aszimmetria indexeik értéke, mint akiknek nincsenek prominens idegeik (*Mann-Whitney rangösszeg* próba). Amikor a prominens idegekkel rendelkező családtagokat összehasonlítottuk azokkal, akiknek sem prominens idegeik, sem Fleischer gyűrűjük nincs, azt találtuk, hogy az előbbi csoportban a corneák szignifikánsan vékonyabbak (*t*-próba), és a KISA kivételével minden topográfias index értéke magasabb (*Mann-Whitney rangösszeg* próba). A mért értékek átlag (±SD) formában vannak feltüntetve.

A 142 kontroll egyén közül egynél csak Fleischer gyűrűt találtunk, kettőnél Fleischer gyűrűt és prominens corneális idegeket is, kettőnél pedig csak prominens idegeket. Az esetek ilyen alacsony száma miatt ebben a populációban a korrelációs statisztikák eredményei nem megbízhatóak. Az 5 db, Fleischer gyűrűvel és prominens idegekkel rendelkező kontrollt elkülönítettük a többi 137 kontrolltól, és a két csoportra *t*-próbát (*Mann-Whitney rangösszeg* próbát) végeztünk, melynek eredménye alapján a KSI ($p=0,048$) és a KISA ($p=0,012$) indexek értéke szignifikánsan nagyobb, viszont a szaruhártya nem vékonyabb a Fleischer gyűrűvel és prominens idegekkel rendelkező kontrollokra, mint azokra nézve, akiknek nincsenek ilyen jelei a corneán ($p>0,1$).

5. MEGBESZÉLÉS

A keratoconusos betegek és rokonaik vizsgálata során kapott eredményeink alátámasztják a genetikai faktorok szerepét a betegség patogenezisében.

A genetikai, komplex szegregáció analízis vizsgálat során kimutattuk, hogy a keratoconusos családokban halmozottan fordulnak elő patológiásan magas *KISA*, *KSI* és a *6 mm Fourier Aszimmetria* indexek öröklődésében leginkább a nem-Mendeli major gén (MG) hatás érvényesül. Eredményeink egyértelműen hangsúlyozzák a keratoconus genetikai hátterét és – hasonlóan Wang és kutatócsoportja munkájához [143] – a KC hátterében álló major génhatás szerepére utalnak. Viszont a mi populációnk alapján nem tudtuk megerősíteni, hogy bármely, általunk vizsgált index öröklődése a szabályos Mendeli recesszív szegregációs mintázatot követné. Habár a nem-Mendeli MG volt a „legtakarékosabb” illesztési modell az analízis során, az eredmények kis mértékű eltérést mutattak a vizsgált indexektől függően. A *KSI* egy bonyolult index, amit cornea topográfiás felvételek neurális hálózat analízise alapján hoztak létre [31]. A *KISA* a corneális aszimmetria súlyozott indexe [149] [58], míg a *6 mm Fourier Aszimmetria Index* igen érzékenyen észleli a keratoconus egyik legfontosabb jellemzőjét, a corneális aszimmetriát. Továbbá kimutatták, hogy értéke abnormálisan magas a korai keratoconusban, és a betegség progressziójával korrelál [157] [166]. Az eloszlási hisztogramokon a *KSI* és *KISA* indexek esetében a releváns irodalom által javasolt határértékeket, míg a *6 mm Fourier Aszimmetria Index* esetén az adataink alapján feltételezhető kritikus értéket jelöltük. Ennek meghatározásához a klinikai csoportosítást vettük alapul: az index értékeit összehasonlítottuk a klinikai kép alapján KC betegek, az ő rokonaik és az egészséges kontroll személyek csoportjai között. Az ezek alapján feltételezett kritikus érték a KC beteg-nem beteg között pont oda esett, ahol az összes érték eloszlásának az első minimuma volt (nagyjából 18), és matematikailag a logisztikus regresszió számításával is ide adódik a határérték (cut-off érték=1,59, ennek a tízszerese: 15,9). Tehát a mért cornea topográfiás érték és a klinikai beosztás alapján számolt érték jó egyezést mutat. Ennél is fontosabbak azonban a komplex szegregáció analízis alapján az egészséges ($\mu_{BB}=5,27$) és a beteg populációk ($\mu_{AA}=39,92$) átlagára meghatározott értékek a *6 mm Fourier Aszimmetria Index x 10* esetén, melyek jól egyeznek az idézett cikkben bemutatott tartományokkal [157].

Analízisünkben az eloszlási hisztogramok azt mutatták, hogy minél komplexebb egy index, annál hatékonyabban választja el egymástól a KC és nem KC egyének csoportjait. A *KSI* megkülönböztet egy közbülső csúcsot is, ami valószínűleg a szubklinikai KC eseteknek felel meg. Ezzel pármuzamosan a *KSI* szolgáltatja a leginkább konzekvens, a legkiegyensúlyozottabb szegregációs eredményeket, utalva a nem-Mendeli major génhatásra minden analízisben. A *KISA* és a *6 mm Fourier Aszimmetria* indexek esetén a környezeti modellt is elfogadtuk a MG modellek mellett, de ez kevésbé bizonyult „takarékosnak”. A sporadikus, a poligénes

és a Mendeli major gén modelleket viszont következetesen elvetettük minden egyes indexre nézve. Eredményeink ugyanakkor hangsúlyozzák a KC diagnosztikájában használt vizsgálati módszerek jelentőségét is genetikai tanulmányok tervezése esetén. A modern cornea tomográfiás eljárások, amelyek a szaruhártya-vastagságot és a cornea anterior-poszterior elevációját [84] [35] [167] is számításba veszik, további segítséget nyújthatnak a KC öröklődésének meghatározásában. A Fleischer gyűrű és a *nem* bevonásával végzett kovariáns analízis véleményünk szerint azt mutatta ki, hogy azokat a faktorokat, amelyek befolyásolják a KC topográfiai jellemzőit és a Fleischer gyűrű kialakulását, ugyanazon genetikai determinánsok vezérlik. Másrészt, a *nem* befolyással bírhat a corneális aszimmetriára, mivel javította azoknak az indexeknek az illesztését (*6 mm Fourier Aszimmetria* és *KISA*), amelyek hangsúlyt fektetnek a szaruhártya aszimmetriájára [168] [169]. Mindazonáltal, a KC kialakulásában jelentős, populációtól függő különbségek létezhetnek a *nemek* befolyásoló szerepére nézve is, hiszen bizonyos tanulmányok egyértelműen férfi vagy női dominanciáról számolnak be [15]. Az FPMM analízis során becsült igen alacsony poligénes variancia ($\sigma_v^2 = 0,00001$) arra utal, hogy a KC penetranciájában megfigyelhető variabilitás inkább környezeti, mintsem poligénes hatásnak tulajdonítható. Analízisünkben a MG hatáshoz sem domináns, sem recesszív modellt nem tudtunk illeszteni, ami szintén inkább a környezeti vagy epigenetikus faktorok jelentőségére utal a betegség kialakulásában, mintsem a genetikai interakciókra.

Összességében adataink azt mutatják, hogy a KC háttérében álló komplex, nem-Mendeli major génhatást valószínűleg egy viszonylag gyakori allél-variáns örökítheti át, melynek a penetranciája alacsony, ugyanakkor nagyon nagy mértékben befolyásolják a környezeti faktorok, és csak kis mértékben más egyéb gének hatásai. Eredményeink nem zárják ki a genetikai heterogenitást, ami azt jelenti, hogy a keratoconus öröklődéséért felelős gén családról családra más és más lehet – vagy akár gének családról családra mások és mások lehetnek. Hasonlóan számos komplex betegséghez, itt is feltételezhető, hogy különböző gének károsodása végső soron egy hasonló betegség-fenotípust alakít ki.

Adataink, miszerint a KC egy komplex, nem-Mendeli betegség, összhangban állnak számos kutató és klinikus széles körben elfogadott nézetével [170] [171] [172] [41] [12]. Viszont a mi munkánk az első, amely a KC komplex, nem-Mendeli öröklődését illetően nyilvánvaló bizonyítékkal szolgál. Azt ugyanakkor fontos hangsúlyozni, hogy ez a tanulmány több sporadikus család vizsgálatán alapszik, ezért különbözik a nagy, többgenerációs családok vizsgálatától, mely bevett gyakorlat az örökletes, családfákban előforduló KC esetén. Ennek az örökletes KC-nak valószínűleg másfajta genetikai eredete lehet, és a feltételezett öröklődési módja túlnyomóan autoszomális domináns [76] [22] [40] [6] [47].

Az elmúlt években, nagyrészt a refraktív sebészetre jelentkező személyek minél hatékonyabb szűrése és a komplikációk elkerülése érdekében igen intenzív

kutatások révén jelentős technikai fejlődés történt a szubklinikai KC esetek felderítése terén [33].

Ez nagy mértékben elősegíti a jövőbeli genetikai kutatásokat is, hiszen az egészen enyhe KC formák is egyre inkább azonosíthatóak.

A komplex, nem-Mendeli öröklődés hátterére vonatkozóan számos genetikai mechanizmust közöltek [173]. Egyik ilyen a változó expresszivitás, vagyis az a jelenség, hogy a KC génhatás nemcsak KC-t okozhat, hanem más szaruhártya görbületi vagy fénytörési hibát is (pl. asztigmia, miópia). Kétfézes öröklődést is feltételeztek korábban KC családokban, vagyis azt, hogy két különböző gén hibája egyidejűleg szükséges a betegség kialakításához [174] [175] [84]. Ráadásul, a komplexitás adódhat epigenetikai befolyásból is a genetikai mechanizmusok mellett, ilyen például a szabályozó RNS-ek hatása és a DNS metilációs státusza. Ugyanazon metabolikus útvonal mentén lévő proteinek kereszt-kommunikációja lehet az egyike azoknak a fehérje-interakcióknak, melyek befolyásolják a penetranciát [42].

Jópár éven át a teljes genomra kiterjedő kapcsoltsági analízist alkalmazták nemcsak a Mendeli öröklődésű, hanem a családi halmozódást mutató komplex betegségek genetikai térképezésére is. Ezzel a technikával a világszerte folytatott intenzív kutatások a keratoconusra nézve a következő gén lókusztokat már azonosították (a teljesség igénye nélkül): 1p36.23-36.21, 2p24, 2q13-q14.3, 2q21.1, 2q21.3, 3p14-q13, 3p26, 4q31, 5q14.1-q21.1, 5q15-q21.1, 5q21.2, 5q31, 5q32-q33, 8q13.1-q21.11, 9q21.13, 9q22.2, 9q34, 11p15.5-p15.4, 12p12, 13q32, 13q34, 14p11, 14q11.2, 14q24.3, 15q15.1, 15q22.33-24.2, 16q22.3-q23.1, 17p13, 17q24, 18p11.31, 19q13.3, 20p13-p12.2, 20q12 [176] [177] [12].

A komplex öröklődés, mely viszonylag alacsony genotípus-fenotípus korrelációt eredményez, igen nehezíti a sporadikus KC családokban a kapcsoltsági vizsgálatok értékelését. De Bonis és munkatársai nemrégiben azt a következtetést vonták le, hogy a kapcsoltsági analízishez képest más megközelítések sokkal célravezetőbbek a KC hátterének tanulmányozása céljából a sporadikus családokban [170]. Ennek ellenére a ritka Mendeli öröklődést mutató családokban a kapcsoltsági analízis sikeresen azonosíthat géneket, melyek a keratoconus kialakulásában szerepet játszhatnak [178] [179]; bár az alacsony genotípus-fenotípus korreláció még az ilyen esetekben is megnehezítheti az analízist [180] [177]. A betegség komplexitása miatt a teljes genom szekvenálás, a gondosan megtervezett, a teljes genomra kiterjedő asszociációs tanulmányok [172], az új generációs szekvenálási technikák – mint a WES: teljes exom szekvenálás (whole exome sequencing), WGS: teljes genom szekvenálás (whole genome sequencing), a célzott szekvenálás (targeted sequencing) [177] –, az epigenetikai tanulmányok, és a transzkriptóm, proteóm, vagy útvonal analízisek lehetnének inkább célravezetőek a KC kialakulásához vezető közös útvonalak felderítéséhez [181] [182] [118] [93] [183] [115] [184] [185].

A genetikai kutatások technikai fejlődése révén ma már széles körben alkalmazzák a teljes genomra kiterjedő asszociációs tanulmányokat. Nemrég ilyen vizsgálatok segítségével azonosították azokat a genetikai lokuszokat, melyek a centrális cornea vastagságot [186], illetve a szaruhártya görbületét befolyásolják. Mivel a KC fő jellemzői közé tartozik a cornea centrális részének elvékonyodása és a szaruhártya görbületének fokozódása, feltételezik, hogy ezek a gének a KC-ra is hajlamosíthatnak [187] [185]. A 13. összefoglaló táblázat tartalmazza a keratoconushoz kapcsolódó géneket és beazonosított variánsaikat, azok funkcióját és a vizsgálati módszereket, Y. Bykhovskaya és munkatársai, Eye and Vision 2016-os cikke alapján [176], amit kibővítettünk Karolak és munkatársai eredményeivel, illetve az OMIM # 617928 adataival [177]. A táblázathoz kapcsolódóan fontos kiegészítésként kiemelendők a KC-nak az OMIM adatbázisban megkülönböztetett további, familiális formái, melyekre jellemző a Mendeli öröklődés. Ezekben a formákban a teljes genomra kiterjedő kapcsoltsági analízissel azonosítottak kromoszóma régiókat, általában nagyobb családfákban, de a betegséget okozó gének még nem ismeretesek. A 2. forma (OMIM 608932) kialakulásáért egy 20 finn családot magában foglaló, teljes genomra kiterjedő kapcsoltsági analízis eredménye alapján a 16q22.3-q23.1 kromoszóma régió felelős [188]. A 3. forma (OMIM 608586) háttérben álló 3p14-q13 régiót egy két generációs, 11 fős nagy olasz családfa teljes genomra kiterjedő kapcsoltsági analízise azonosította [189]. A 4. formát (OMIM 609271) 28, különböző populációból származó nagy családfa összesen 253 tagjának vizsgálata alapján írták le, és a teljes genomra kiterjedő kapcsoltsági analízis a betegség háttérére nézve a 2p24 kromoszóma lokuszt azonosította [190]. Az 5. forma (OMIM 614622) egy 27 tagból álló, négy generációs családfa teljes genomra kiterjedő kapcsoltsági vizsgálata alapján írta le a 5q14.3-q21.1 kromoszómális régiót, mely felelős ebben a családban az autoszomális domináns öröklődésért [191]. A 8. formát (OMIM 614628) szintén egy teljes genomra kiterjedő kapcsoltsági analízis alapján azonosították. A háttérben álló genetikai defektusként a 14q24.3 szakaszt jelölték meg, 6 családfa 35 tagjának vizsgálata alapján, ahol 21 fő volt a betegségben érintett, tehát itt is feltételezhető volt az autoszomális domináns öröklődés [192]. A 9. forma (OMIM # 617928) háttérben a 2q21 kromoszómán elhelyezkedő TUBA3D gén (tubulin α 3d gén) heterozigóta nonszensz mutációja áll, melyet egy egypetéjű ikerpár családjának a teljes exom (kódoló régió) szekvenálásával (WES) sikerült felderíteni [193]. Ezt a mutációt egy 23 éves kínai ikerpárnál azonosították, de sem a szüleiknél, sem egy 200 fős kínai kontrollcsoportban, sem a nyilvános variáns-adatbázisban nem fordult elő. 200 sporadikus KC beteg vizsgálata során további két esetben azonosítottak egy másfajta mutációt ugyanebben a génben. Funkcionális vizsgálatok alapján a TUBA3D génnek szerepe lehet a normál cornea struktúrájában és funkciójában, a mutáns fehérje pedig felelős lehet a KC-ban megfigyelhető stroma elvékonyodásért. Az OMIM adatbázisból is látszik, hogy a keratoconus esetén mennyire erőteljesen jelen van a genetikai heterogenitás, még az úgynevezett familiális, Mendeli öröklődési módot követő formákban is.

Gén	Funkció	Kromoszómális lokalizáció	Variáns	Variáns helye	Módszer *	Referencia
LOX	Lizil-oxidáz, szerepet játszik a kollagén keresztkötéseiben	5q23.2	rs10519694	intron	GWLS/LD/FM	Bykhovskaya Y 2012
			rs1800449/rs2288393	exon (misszensz)	GWLS/LD/FM TG	Bykhovskaya Y 2012, Dudakova L 2015
			rs41407546	exon (misszensz)	S	Unpublished
			rs2956540	intron	GWLS/LD/FM TG	Bykhovskaya Y 2012, Dudakova L 2015 Hao XD 2015 Hasanian-Langroudi F 2015
COL5A1	V. típusú kollagén, α -1 lánc, a corneális kollagén rostok alkotóeleme	9q34.2-q34.3	rs1536482	5' gén közeli	GWLS/FM/CCT GWAS	Lu Y 2013 Li X 2013
			rs7044529	intron	GWLS/FM/CCT GWAS	Lu Y 2013 Gao X 2013 Li X 2013
CAST	Kalpain/kalpastatin, proteolitikus degradáció	5q15	rs4434401	intron	GWLS/FM	Li X 2013
RAB3GAP1	Rab GTP-áz aktiváló protein, az exocitózist szabályozza	2q21.3	rs4954218	5' gén közeli	GWAS	Li X 2012 Bae HA 2013
HGF	Hepatocita növekedési faktor, a corneális sebgyógyulásban játszik szerepet	7q21.1	rs3735520	1 KB promoter	GWAS, TG	Dudakova L 2015 Burdon KP 2011
			rs1014091	1 KB promoter	GWAS, S	Burdon KP 2011 Sahebjada S 2014
			rs17501108	1 KB promoter	S	Sahebjada S 2014
			rs2286194	intron	S	Sahebjada S 2014
FNDC3B	Fibronektin, extracelluláris mátrix protein	3q26.31	rs4894535	intron	CCT GWAS	Lu Y 2013
FOXO1	Transzkripció faktor	13q14.1	rs2721051	3' gén közeli	CCT GWAS, LA CCT GWAS	Lu Y 2013 Gao X 2013
TGFBI	Transzformáló növekedési faktor β indukált protein	5q31.1	Multiplex ritka variánsok	exon	S	Guan T 2012 Karolak JA 2016

A táblázat folytatása

Gén	Funkció	Kromoszómális lokalizáció	Variáns	Variáns helye	Módszer *	Referencia
ZNF469	Transzkripció faktor, a corneális kollagén struktúráját és szintézisét szabályozza	16q24.2	rs9938149	3' gén közeli	CCT GWAS, TG	Lu Y 2013 Sahebjada S 2013
			Multiplex ritka variánsok	exon	S	Rabinowitz YS 2005 Kannabiran C 2009 Bustamante M 2008
DOCK9	A citokinézis dedikátora 9, guanin nukleotid-csere faktor	13q32.3	c.2262A > C, p.Gln754His	exon (misszensz)	GWLS/S	Czugala M 2012
MPDZ-NF1B	Nem ismert	9p23	rs1324183	gének közötti	CCT GWAS, TG	Hao XD 2015 Lu Y 2013 Sahebjada S 2013
WNT10A	A WNT géncsalád tagja, terméke a szekretált jelátvivő fehérjék közé tartozik	2q35	rs121908120	exon (misszensz)	CCT GWAS	Cuellar-Partida G 2015
ZEB1	Cink-ujj transzkripció faktor	10p11.22	c.1920G > T, p.Gln640His	exon (misszensz)	S	Lechner J 2013 Mazzotta C 2014
SOD1	Szuperoxid-dizmutáz 1, citoplazmatikus antioxidáns enzim	21q22.11	multiplex SNV-k, deléció	intron	S	Moschos MM 2015 Udar N 2006
IL1A	Interleukin 1 α , citokin	2q13	rs2071376	intron	TG, S	Wang Y 2013 Wang Y 2016
IL1B	Interleukin 1 β , citokin	2q13	rs1143627	promóter	TG, S	Wang Y 2016 Kim SH 2008 Mikami T 2013
IL1B COL4A3	Interleukin 1 β , citokin IV. típusú kollagén, α -3 lánc, a bazális membránok strukturális alkotórésze	2q13	rs16944	promóter	TG, S	Wang Y 2016 Kim SH 2008 Mikami T 2013
		2q36.3	multiplex SNV-k	exon (misszensz)	S	Stabuc-Silih M 2009
COL4A4	IV. típusú kollagén, α -4 lánc, a bazális membránok strukturális alkotórésze	2q36.3	multiplex SNV-k	exon (misszensz)	S	Stabuc-Silih M 2009 Saravani R 2015
VSX1	Vizuális rendszer homeobox 1, transzkripció faktor	20p11.2	multiplex SNV-k	csendes intronikus, misszensz	S	Burdon KP 2013
TUBA3D	Tubulin α 3d	2q21.1	de novo heterozigóta mutáció: c.31C>T (p.Gln11stop)	exon (nonszensz)	WES	Hao X 2017
TUBA3D	Tubulin α 3d	2q21.1	c.201insTT és c.*2G>A	exon	WES	Hao X 2017

13. táblázat: A keratoconus öröklődésében szerepet játszó, azonosított gének és variánsaik

Bykhovskaya és mtsai összefoglaló munkája alapján, kibővítve Karolák és mtsai összefoglaló tanulmányának eredményeivel, illetve az OMIM # 617928 adataival [176] [177]. * Rövidítések a módszerekről: GWLS (genome-wide linkage study): a teljes genomra kiterjedő kapcsoltsági analízis, GWAS (genome-wide association study): a teljes genomra kiterjedő asszociációs tanulmány, LD (linkage disequilibrium): kapcsoltsági egyensúly hiánya, FM (fine mapping): finom térképezés, S (sequencing): szekvenálás, TG (targeted genotyping): célzott genotipizálás, WES (whole exome sequencing): a teljes kódoló régió (exom) szekvenálása, CCT (central corneal thickness): centrális cornea vastagság, CCT GWAS: a centrális cornea-vastagság teljes genomra kiterjedő asszociációs tanulmánya, LA: latin-amerikai személekben, SNV (single nucleotide variant): egyetlen nukleotid variáns.

A folyamatos, intenzív kutatások egyre újabb és újabb géneket azonosítanak, melyek a keratoconushoz köthetők. Ezek közül néhány a teljesség igénye nélkül: COL6A1 (a hatos típusú kollagén alfa 1 láncát kódoló gén), COL8A1 és COL8A2 (a nyolcas típusú kollagén alfa 1 és 2 láncát kódoló gének), COL5A1 és COL1A1 (az ötös, illetve egyes típusú kollagén alfa 1 láncát kódoló gének), RXRA (retinoid X receptor alfa gén), CRX (csap-pálcika, azaz cone-rod homeobox gén), miR184 (mikro RNS 184) [12].

Ebből is látszik, hogy számos különböző gén érintett lehet a folyamatban. Ugyanakkor az eredmények igen heterogének, olykor ellentmondásosak, tehát nem lehet azt mondani, hogy minden analízis egyértelműen igazolná minden egyes génnek a KC patogenezisében betöltött szerepét. Inkább az valószínűsíthető, hogy a KC többféle biokémiai útvonal abnormalitásának eredményeképpen alakulhat ki, melyek interakcióit még nem sikerült tisztázni [176] [194]. A szegregáció analízis alkalmazása során sikerült igen figyelemreméltó genetikai eredményeket elérni (pl. a diabetes, bizonyos rosszindulatú daganatos megbetegedések, Alzheimer-kór, a herpeszvírus 8-ra való fogékonyság öröklődése esetén), ugyanakkor teljességgel nem váltotta be az összes, hozzá fűzött reményt, hiszen a tesztelt modelleknek volt egy kötelező egyszerűsítése a biológiai realitáshoz képest [44].

A keratoconus tehát egy komplex, multifaktoriális betegség, melynek hátterében valószínűleg major génhatás állhat, amit nagyon sok tényező befolyásolhat. A családonként meglévő genetikai faktor, a hordozó állapot manifestálódásához mindenképpen szükség van környezeti hatásra is, amelynek része természetesen a genetikai környezet is, ami magában foglalja a poligénes hatásokat és az epigenetikai faktorokat is. Emiatt gyakran nem, vagy csak részben manifestálódhat a kórkép. Egyértelmű és bizonyított a betegség hátterében a genetikai heterogenitás, ami világosan szembetűnik az elmúlt évek, évtizedek során a keratoconus kialakulásáért felelős gének felderítésére, beazonosítására törekvő genetikai kutatások sokszínű eredményeinek tanulmányozása során [44] [176]. Az intenzív kutatásoknak köszönhetően rövid időn belül újabb és újabb géneket és variánsokat azonosítanak [177] [195] [12] [184] [43] [185].

Valószínűleg igen összetett és bonyolult, soklépcsős, számos ponton befolyásolt biokémiai folyamatok állhatnak a szaruhártya megfelelő alakjának, görbületének és

szerkezetének szabályozása mögött, amelyek számos ponton elromolhatnak, igen sokféle, különböző folyamatokért felelős gének érintettségével. A keratoconus fenotípusának megjelenése így módon tekinthető egyfajta végső közös útvonalnak is, melyhez számos különböző folyamat vezethet. A ritka Mendeli kórképek vizsgálata során látványos és számottevő eredményeket hozó kapcsoltsági analízis a keratoconus kis mértékű penetranciája és változó expresszivitása miatt sajnos nem igazán célravezető. Inkább a korábban említett alternatív módszerektől várhatunk érdemleges eredményeket (teljes genom szekvenálás, teljes genomra kiterjedő asszociációs tanulmányok, új generációs szekvenálási technikák – WES: teljes exom szekvenálás, WGS: teljes genom szekvenálás, célzott szekvenálás –, epigenetikai tanulmányok, transzkriptóm, proteóm, vagy útvonal analízisek) [185] [177] [12]. A KC nem igazán mondható gyakori betegségnek, és nagy kihívást jelent a sok ezer főt magában foglaló beteganyag összegyűjtése, mégis, az elkövetkezendő idők kutatásaiban nagyon nagy jelentőséggel bírhat. A jövőre vonatkozó ígéretes lehetőségek: a sok ezer fős beteg és kontroll populációkra végzett GWAS, azaz a teljes genomra kiterjedő asszociációs tanulmányok, a szintén ilyen nagy populációk új generációs szekvenálási technikákkal végzett vizsgálata, a DNS szegmensek strukturális variációinak tanulmányozása (deléción, inszerción, duplikáción, transzlokáción), illetve a ma még nem ismert, intronikus, nem kódoló régiók vizsgálata modern genetikai módszerekkel [185]. Ezek a jövőbeli tanulmányok minden bizonnyal egyre inkább bepillantást engednek majd a keratoconus komplex patogenezisének részleteibe.

A keratoconusra jellemző klinikai jelek vizsgálata során 47 családból álló adatbázisunkban még a nem beteg rokonok corneáin is megfigyeltük a Fleischer gyűrű és a prominens idegek jelenlétét. A patognómikus klinikai jelek közül a leginkább figyelemre méltó a corneális Fleischer gyűrű volt, amely majdnem minden harmadik családtag esetében előfordult (a nem beteg rokonok 30,8%-ában). Ez az eredmény hasonló a Fleischer gyűrű enyhe keratoconusban észlelt előfordulási arányához: 27,27% a 45 D-nál kisebb keratometriás értéknél [52]. Manifeszt keratoconus esetén a betegek 71,7%-ában találtunk Fleischer gyűrűt, ami a korábbi tanulmányok eredményeivel (57%-87%) jó egyezést mutat [196] [147]. Még az egészséges kontroll populációban is, ugyan ritkán, de előfordultak prominens corneális idegek (2,8%), Fleischer gyűrű (2,1%) és corneális aszimmetria. A vizsgált populációban, különösen a nem beteg családtagok és az egészséges kontrollok corneáján nagyon nagy alapossággal és gondossággal kerestük a Fleischer gyűrű esetleges jelenlétét, és ugyan sokuknál előfordult, de általában halvány volt. A szerzők legjobb tudása szerint ez a tanulmány az első, melyben a Fleischer gyűrű és a prominens idegek jelenlétét vizsgálták KC páciensek nem beteg családtagjainak corneáján.

A korrelációs statisztikák és a *t*-próbák eredményei alapján a Fleischer gyűrű és a prominens idegek jelenléte a keratoconusra jellemző tulajdonságokhoz társul. A Fleischer gyűrűvel és prominens idegekkel rendelkező családtagok corneája vékonyabb és aszimmetrikusabb azokhoz képest, akiknek a corneáján nem találhatóak meg ezek a klinikai jelek. A kontroll egyének közül azoknak a corneája, akiknél megtalálható a Fleischer gyűrű és a prominens idegek, jobban hasonlítanak a KC corneákra (amint a szignifikánsan magasabb *KSI* és *KISA* értékek mutatják), de nem vékonyabbak a többi normál corneához képest.

A corneális Fleischer gyűrű patológiáját illetően bizonyítást nyert, hogy vas depozitumokból áll, melyek a szaruhártya bazális epitelsejtjeinek citoplazmájában és a kiszélesedett intercelluláris térben rakódnak le. Réslámpás vizsgálattal látható a jelenléte, és elektron mikroszkóppal az is kimutatható, hogy a corneális vasvonalban bőségesen jelen van a ferritin [85] [86]. Ami a kóroktanát illeti, a Fleischer gyűrű feltehetőleg a KC epitelsejtek oxidatív stresszre adott, megváltozott válaszreakciójának következményeképpen jön létre [93]. Az oxidatív stressz markerek megnövekedett szintjét, csökkent antioxidáns kapacitást és csökkent védőfaktor (glutathion) szintet mutattak ki KC corneákban, ami arra utal, hogy az oxidatív stressz szerepet játszhat ennek a betegségnek a kialakulásában, sőt még a LASIK műtétek utáni corneális ektáziákban is [57]. A keratektázia általánosságban hasonlónak tekinthető a keratoconushoz abból a szempontból, hogy a cornea teherbíró kapacitásának csökkenése az alakjának progresszív változásához vezet [197].

Sok tanulmány igazolja, hogy az oxidatív stressz fontos szerepet tölt be a keratoconus kialakulásában és progressziójában [198] [199] [114] [200] [194]. A

ferritin egy vaskötő fehérje, melynek alulszabályozottsága bizonyított a KC epitheliumban, ez viszont a vas felhalmozódásához vezethet, ami olyan reakciókat katalizál – Haber-Weiss és Fenton reakciókat –, amelyekben szabadgyökök szabadulnak fel, oxidatív szövetkárosodást okozva [93]. A ferritin egy vasraktározó fehérje, amely védi a DNS-t az oxidatív károsodástól, ezért a ferritin csökkent expressziója ennek a protektív hatásnak a csökkenéséhez vezethet [96]. Keratoconusban mitokondriális komplex-I szekvencia-variánsokat azonosítottak. Ezek lehetnek a legfőbb okai a megnövekedett oxigén-eredetű, reaktív szabadgyökök termelésének, amik oxidatív stresszt eredményezhetnek [95]. A vas metabolizmusában történő változás a corneális epitheliumban feltehetőleg vaslerakódáshoz vezet, ami az események láncreakciójának beindítása révén végül is a keratoconus kialakulását idézheti elő. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a KC-ban a vas felborult homeosztázisa valószínűleg megnövekedett oxidatív károsodáshoz vezet. A corneális Fleischer gyűrű patogenezisének a kutatása során kapott eredmények megerősítik azt a feltételezésünket – amit a komplex szegregáció analízis során a Fleischer gyűrű bevonásával végzett kovariáns analízisünk eredményeire alapoztunk –, ami szerint azokat a faktorokat, amelyek befolyásolják a KC topográfiai jellemzőit és a Fleischer gyűrű kialakulását, ugyanazon genetikai determinánsok vezérlik [201].

A Fleischer gyűrűn kívül másfajta felszíni vasvonalak is kifejlődhetnek a corneán bizonyos fiziológiai és patológiai állapotokban. A Hudson-Stähli vonal az egészséges, öregedő corneán fordul elő, és a vasvonal mind hosszában, mind denzitásában növekszik a kor előrehaladásával [202]. Bizonyos szemészeti betegségek is előidézhetnek jellegzetes, pigmentált corneális íveket: a Stocker-féle vonal pterygiumban, a Ferry-féle vonal a glaucoma műtéti megoldása során kiképzett filtráló párna mellett alakulhat ki [203]. Populációnkban egyik, imént említett corneális vasvonaltípussal sem találkoztunk, csak és kizárólag a jellegzetes Fleischer gyűrűt észleltük és figyeltük meg alaposan a vizsgált egyének szaruhártyáján.

Corneális vasvonalak jelenlétét észlelték számos sebészeti beavatkozást követően, beleértve bizonyos refraktív műtéteket is: például a konduktív [204] és refraktív keratoplasztika [205], radiális keratotómia [165], intrastromális gyűrű corneába való beültetése [88] és szaruhártya-átültetés után [206]. Megfigyelték refraktív sebészeti beavatkozásokat követően kialakult iatrogén keratektáziában: miópiás és hiperópiás PRK (fotorefraktív keratektómia) után [87] [207], valamint miópiás és hiperópiás LASIK (laser-assisted in-situ keratomileusis) után [208] [91] [209] [210] [211] [212] [197] [213] [214] [215]. Corneális epitheliális vasgyűrű megjelenéséről számoltak be ortokeratológiai kezelést követően [216] [217], és szekunder keratoconusban is [94] – ami egy korábbi sérülés vagy gyulladás után kialakuló következményes corneális elvékonyodás.

Az általános értelemben vett corneális vasvonalak még nem teljesen tisztázott kóroktanát illetően számos hipotézist fogalmaztak meg lehetséges magyarázatként: az egyik a felhalmozódó könnytőcsa-hipotézis [218], melynek értelmében a cornea-felszín irregularitása révén kialakuló könnytőcsából a vas az epiteliális rétegeken átdiffundál, viszont ez a könnyben lévő nagy affinitású laktoferrin jelenléte miatt megkérdőjelezi az elmélet érvényességét. Egy alternatív hipotézis szerint a gyorsan osztódó, már nem migráló, és relatíve érett bazális epitelsejtek felelősek a vas felhalmozódásáért [219]. Megfogalmazták a könny felszáradásának elméletét, mely szerint a könny elpárolgásával megnő a vas relatív koncentrációja [88], és az előregedő bazális epitelsejt hipotézisét [88], mely utóbbi feltételezi, hogy a vas a legalacsonyabb turnoverű sejtekben halmozódik fel leginkább. A szaruhártya felszínének megváltozása károsíthatja az epitelsejteket, és a bazális epitelsejteket érő stresszhatás megnövekedett transferrin-, vagy laktoferrin receptor expresszióhoz vezethet, ami megnöveli a vas megkötését és a sejtekbe való felvételét [86]. Hiratsuka és munkatársai Fleischer gyűrűt figyeltek meg néhány nem-KC betegen, és a vas depozitumok jelenlétét a corneális epitheliumot érő zavaró hatással, és annak következményeképpen felszaporodó vassal magyarázták. Az alternatív teóriájuk alapján a corneális epithelium vas metabolizmusában történő változás vezethet a vas lerakódásához [94].

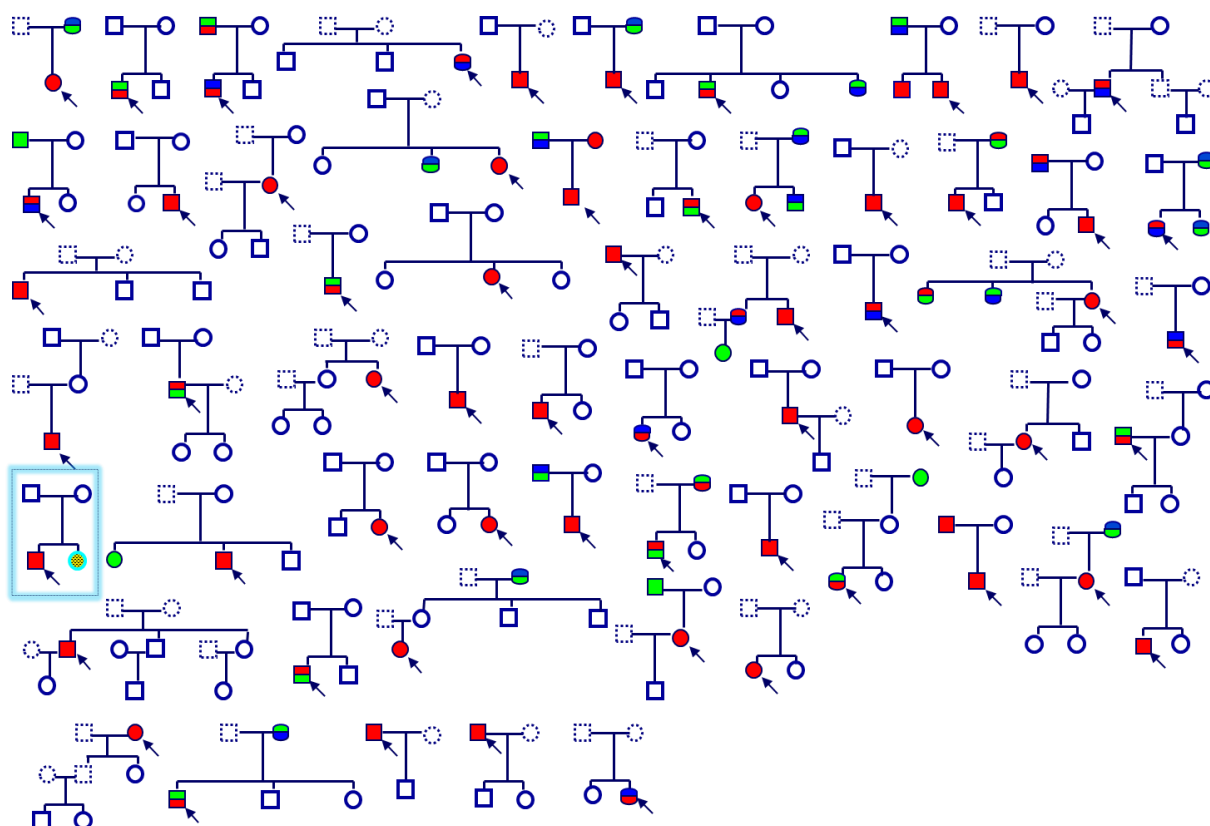
Nagyon sok tanulmány következetesen hangsúlyozza annak a jelentőségét, hogy összefüggés van a vaslerakódás helye és a szaruhártya felszíni epitheliumában történő változások között, mely utóbbiak lehetnek helyi folytonosság-hiányok, a cornea görbületét érintő drámai mértékű változások [34] [87] [88], illetve egy átmeneti zóna jelenléte, amit eltakar a corneális epithelium. Tehát bárhol előfordulhat vaslerakódás, ahol a hám mozgásban van, változás alatt áll. A corneális geometriában és topográfiában történő változás gátolhatja a bazális epitelsejtek mozgását és proliferációját [91]. Ezt az elgondolást támogatják a refraktív sebészek megfigyelései arra vonatkozóan, hogy számos különböző fajta refraktív beavatkozás és ortokeratológiai kezelés után epiteliális vaslerakódás jelent meg a corneán. A szekunder KC betegek vizsgálata alapján feltételezhető, hogy a növekedési időszak alatt a corneát érintő abnormalitások előfordulása az epitheliumban vaslerakódást okozhat, a stromában pedig elvékonyodást [94]. Arról is beszámoltak, hogy az epithelium bizonyos mértékig képes a cornea felszínének irregularitásait kompenzálni [89] [90] [92], és a vaslerakódást ott figyelték meg, ahol a hám hiperplázia révén megvastagodott [91] [92]. Egy újabb tanulmányban elvékonyodott hámot figyeltek meg a conus csúcsa fölött közvetlenül, melyet gyűrű formában körülvevett egy megvastagodott epiteliális rész, egy úgynevezett epiteliális fánk-alakzatot képezve. Igen korai keratoconus esetén úgy tűnt, hogy az epiteliális megvastagodás képes ellensúlyozni a stroma felszínén kialakult conust, tehát a hámnak a kompenzációja el tudja fedni az alatta fekvő conus jelenlétét, ha csak elülső felszín topográfiával vizsgálják [91]. A vizsgálatunkba bevont családtagok esetén jórészt minimális

topográfiás eltéréseket figyeltünk meg, melyek a Fleischer gyűrű jelenlétével társultak, és náluk feltételezhető az epiteliális kompenzáció.

Érdekes módon a Fleischer gyűrű és a prominens idegek nem mindig jelentek meg együtt, ugyanazokon a corneákon. Jól ismert tény, hogy ezek a jelek nem egyenlő gyakorisággal fordulnak elő keratoconusban [6]. Úgy tartják, hogy a KC egy komplex betegség, melynek patogenezisében mind genetikai, mind környezeti faktorok szerepet játszanak [201]. A Fleischer gyűrű feltehetőleg a KC epitelsejtek oxidatív stresszre adott, megváltozott válaszreakciójának következményeképpen jön létre [93]. A KC-ban a corneális idegek számos ponton részesei a betegség patofiziológiai folyamatainak és szerepet játszanak a progresszióban is [97] [98] [99] [100] [101] [220]. Az újabb *in vivo* corneális konfokális mikroszkópiás tanulmányok következetesen azt mutatják, hogy a szubbazális idegek morfológiája erőteljes abnormalitást mutat még az enyhe keratoconusban is [102]. Ez azzal magyarázható, hogy a KC corneában az ideg-növekedési faktor (NGF) receptor expresszió szabályozása módosult [221]. Ezek a különböző etiológiai faktorok magyarázatot adhatnak arra, hogy a Fleischer gyűrű és a prominens corneális idegek miért nem mindig együtt jelennek meg a KC és a szubklinikai KC corneákon.

Nem számítottunk rá, hogy Fleischer gyűrűt találunk egészséges kontrollok corneáján. Mindamellett a szubklinikai KC-ről azt feltételezzük, hogy inkomplett, csak részben kifejlődött KC, tehát az egészséges kontrollok közt lehetséges, hogy előfordul. Egy nemrég megjelent tanulmány beszámol egy esetről, amelyben kétoldali Fleischer gyűrűt figyeltek meg egy vizsgált személynél, akinél csak enyhe aszimmetria mutatkozott topográfiával, a centrális cornea vastagsága átlagos volt, kisméretű miópiája volt stabil fénytöréssel, a legjobb korrigált látásélessége normális volt, csakúgy, mint a retinoszkópiás reflexei. Ennek a szubklinikai KC-nak tekintett páciensnek a példája arra utal, hogy ez az állapot, tehát a corneális vasgyűrű – Fleischer gyűrű – előfordulhat pozitív családi anamnézis és a keratoconusra tipikus topográfiás jelek megléte nélkül is [34].

A vizsgálatunkban részt vevő személyek corneáján nagyon gondosan és alaposan kerestük a Fleischer gyűrűt és a prominens corneális idegeket. A KC családtagok esetében gyakran figyeltünk meg minimális topográfiás eltéréseket, melyek sok esetben nem érték el a KC diagnosztizálásában fontos szerepet játszó indexek (*KSI*, *KISA*) határértékeit, tehát ezek az indexek még szubklinikai esetekként sem azonosították őket. Ezek a minimális topográfiás eltérések ugyanakkor a Fleischer gyűrű és a prominens corneális idegek jelenlétével társultak.



13. ábra. A vizsgálatunkba bevont 60 családfa ábrája. Jelölések: a körök jelentik a nőket, a négyzetek a férfiakat. A nyilak jelzik a probandokat. A pontozott körök és négyzetek azokat a családtagokat jelölik, akik nem tudtak részt venni a vizsgálatunkban. A KSI index alapján osztályoztuk az egyes személyek szemeit: a piros szín jelöli a $KSI > 30$ (manifeszt KC), a zöld szín a $30 > KSI > 15$ (szubklinikai KC) értékeket. Az egyes körök és négyzetek felső része a jobb, alsó része a bal szemet jelöli. Azoknál, akiknél csak az egyik szem érintett a betegségben, a másik szemre vonatkozó ábrarészt kékkel jelöltük. A világoskékkel bekeretezett családfában a sárgás pontozott belső résszel és világoskék körvonallal jelölt személy az egyik proband húga, akinél poszt-LASIK keratektázia alakult ki.

A 13. ábra a családfákat ábrázolja: a vizsgált személyek corneáit a KSI index alapján osztályoztuk betegnek, illetve szubklinikai KC-nak, tehát csak azokat a személyeket jelöltük érintettként, akiknél a KSI index elérte a megfelelő küszöbértéket. Így is látszik az ábrán az erőteljes családi halmozódás a vizsgált populációban: sok esetben a probandon kívül más családtagok is érintettek, a KSI index által rejtve hagyott rokonokról nem is beszélve.

Tanulmányunkban az egyik vizsgált paraméter az ultrahangos pachymeterrel mért centrális cornea-vastagság volt. Kizárólag a centrális szaruhártya-vastagság mérése megbízhatatlan a keratoconus diagnózisát illetően, mindazonáltal a csökkent centrális cornea-vastagság egy jó indikátora lehet a KC-hoz való hasonlóságnak, és a topográfiás indexekkel együtt ez a paraméter megerősíti azt, hogy a Fleischer gyűrű és a prominens idegek hajlamosak a KC-hoz jobban hasonlító corneákon előfordulni, tehát azokat emelik ki a populációból. Ugyanakkor a jövőbeli tanulmányok szempontjából igen hasznos a hátsó corneális felszín vizsgálata pachymetriával együtt, a modern diagnosztikus módszerek segítségével (pl.

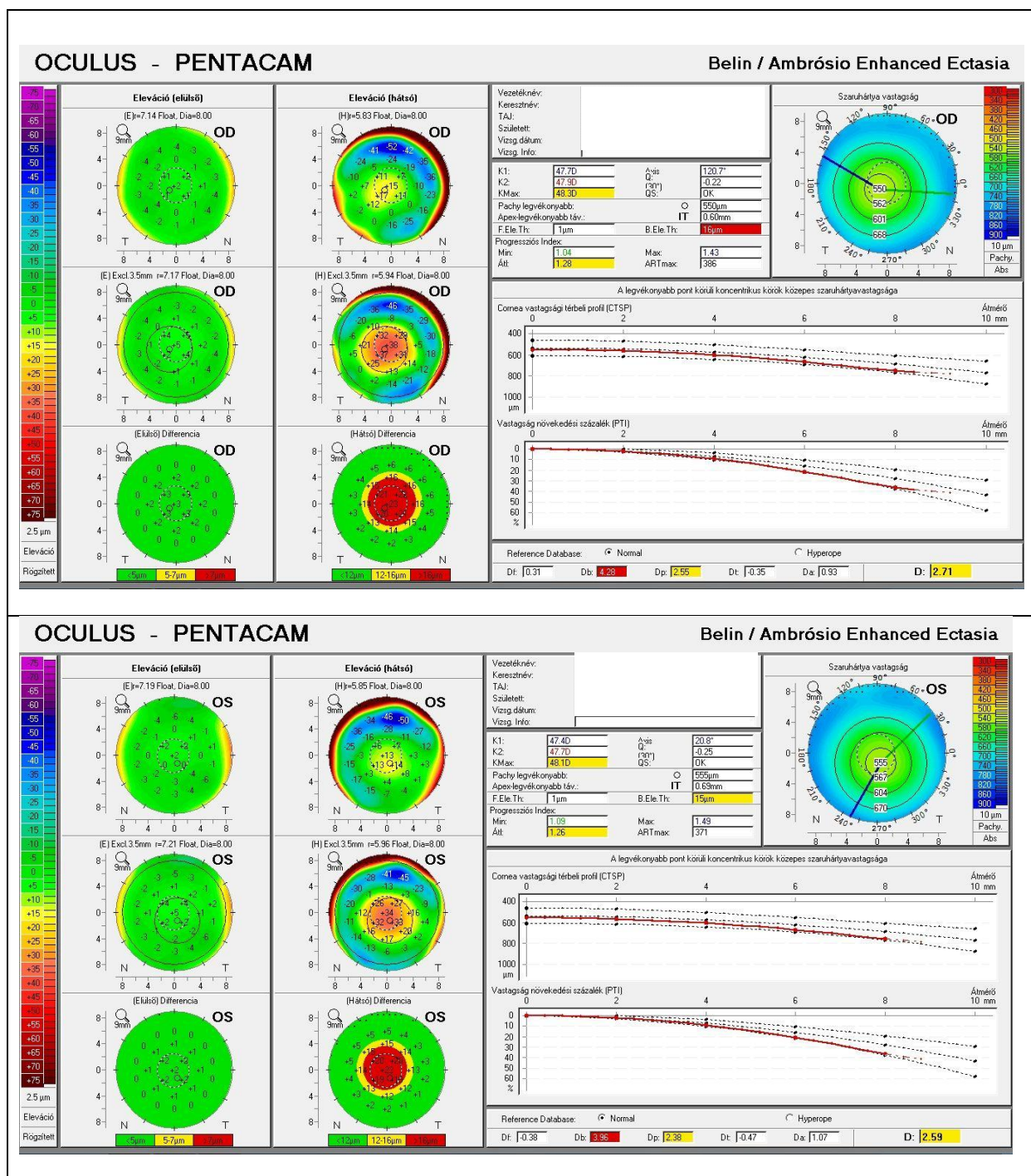
Scheimpflug képalkotás, Orbscan), hiszen a KC legkorábbi jelei ezekkel a technikákkal pontosabban kimutathatóak, és a korrelációk még nagyobb jelentőséget nyernek a poszterior topográfiás információkkal kiegészítve [222] [167] [223] [84] [33].

Az öt, Fleischer gyűrűvel, illetve prominens corneális idegekkel rendelkező kontrollunk közül hármat sikerült hosszú idő után ismételtén megvizsgálnunk, sőt, közülük kettőről a cornea hátsó felszínének vizsgálatára alkalmas Pentacammal is készült felvétel. A Pentacam egy forgó Scheimpflug képalkotás-alapú tomográfiás eszköz, amely a cornea három dimenziós geometriájának széles körű analizésére alkalmas [224].

Az első ilyen kontrollunkat 23 évesen láttuk először. Ekkor réslámpás vizsgálatnál a corneáján íves, szétterülő, a Fleischer gyűrűhöz hasonló, de annak kritériumát (a 2 mm hosszúságot) el nem érő, kisebb vasvonalat láttunk és prominens idegeket, topográfiával pedig aszimmetrikus szaruhártya mintázatot. Ezt a hölgyet 9 év múlva, 32 évesen újra megnézte Dr. Takács Lili tanárnő, és akkor Pentacam vizsgálatot is végzett. Réslámpás vizsgálatnál a vasvonal ekkor már csak egy kis egyenes csíkként látszott, megváltozott az alakja. A prominens idegek láthatóak voltak (12. C és D ábra). A vízusa nem romlott, és a topográfia sem mutatott eltérést a korábbi állapothoz képest.

A Pentacam vizsgálat viszont egyértelműen kimutatta, hogy míg az elülső felszín elevációs térképén nem figyelhető meg semmiféle kóros jel és a szaruhártya vastagsága a normál tartományban van (a legvékonyabb pontján is 550 μm a vastagság a jobb szemben, 555 μm a bal szemben), a hátsó felszín elevációs térképén már mindkét corneán egyértelműen megjelenik a korai, szubklinikai keratoconusra utaló jel ($>16 \mu\text{m}$ eleváció) (14. ábra).

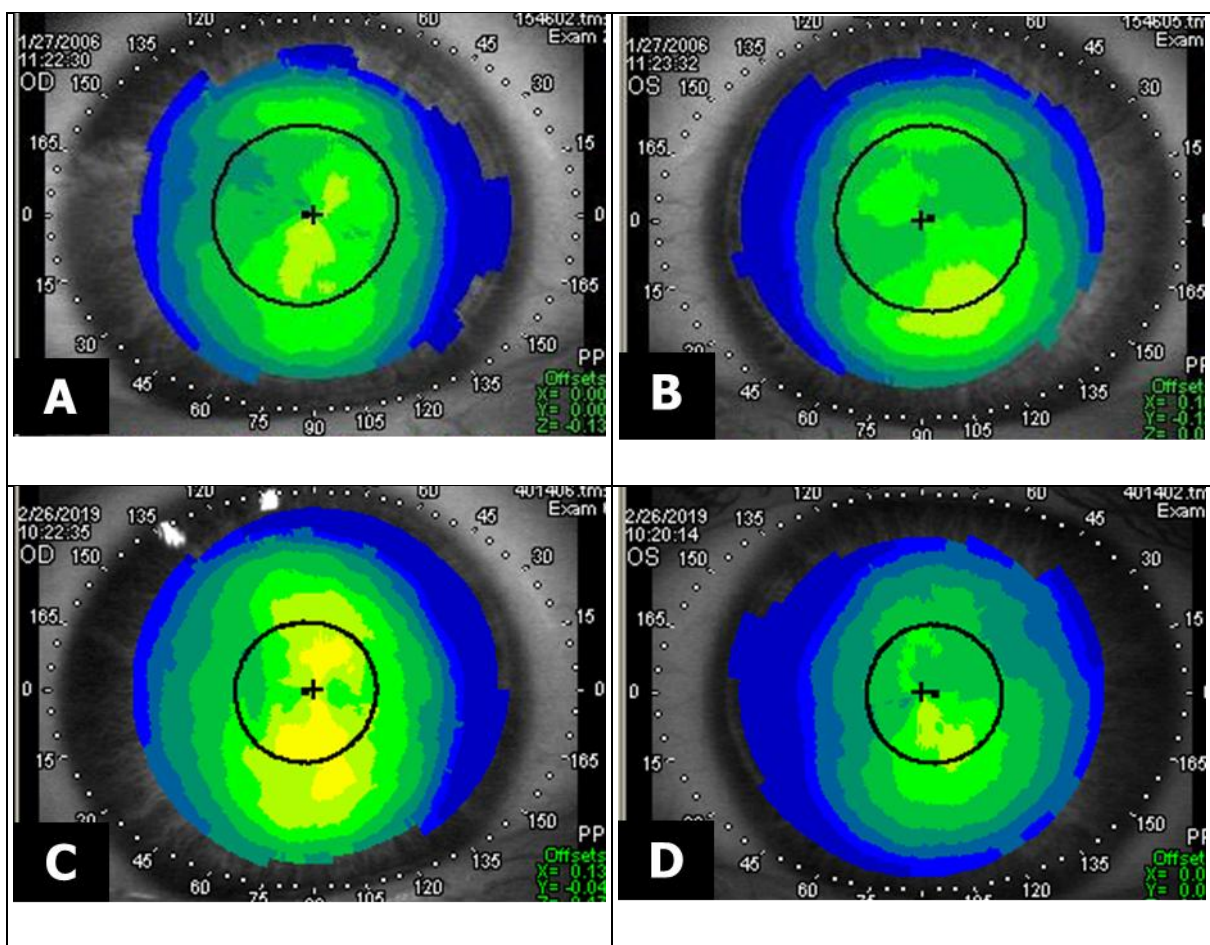
A vastagság növekedési százalék (Percentage Thickness Increase, PTI) és a cornea vastagsági térbeli profil (Corneal Thickness Spatial Profile, CTSP) görbék is szubklinikai keratoconusra utalnak az ő esetében (14. ábra). Ez az eset jól példázza, hogy nagy jelentősége van a hátsó corneális felszín vizsgálatának, különösen kérdéses esetekben.



14. ábra: Pentacam felvétel a 12. ábra C és D képein szereplő kontroll személy mindkét szeméről.

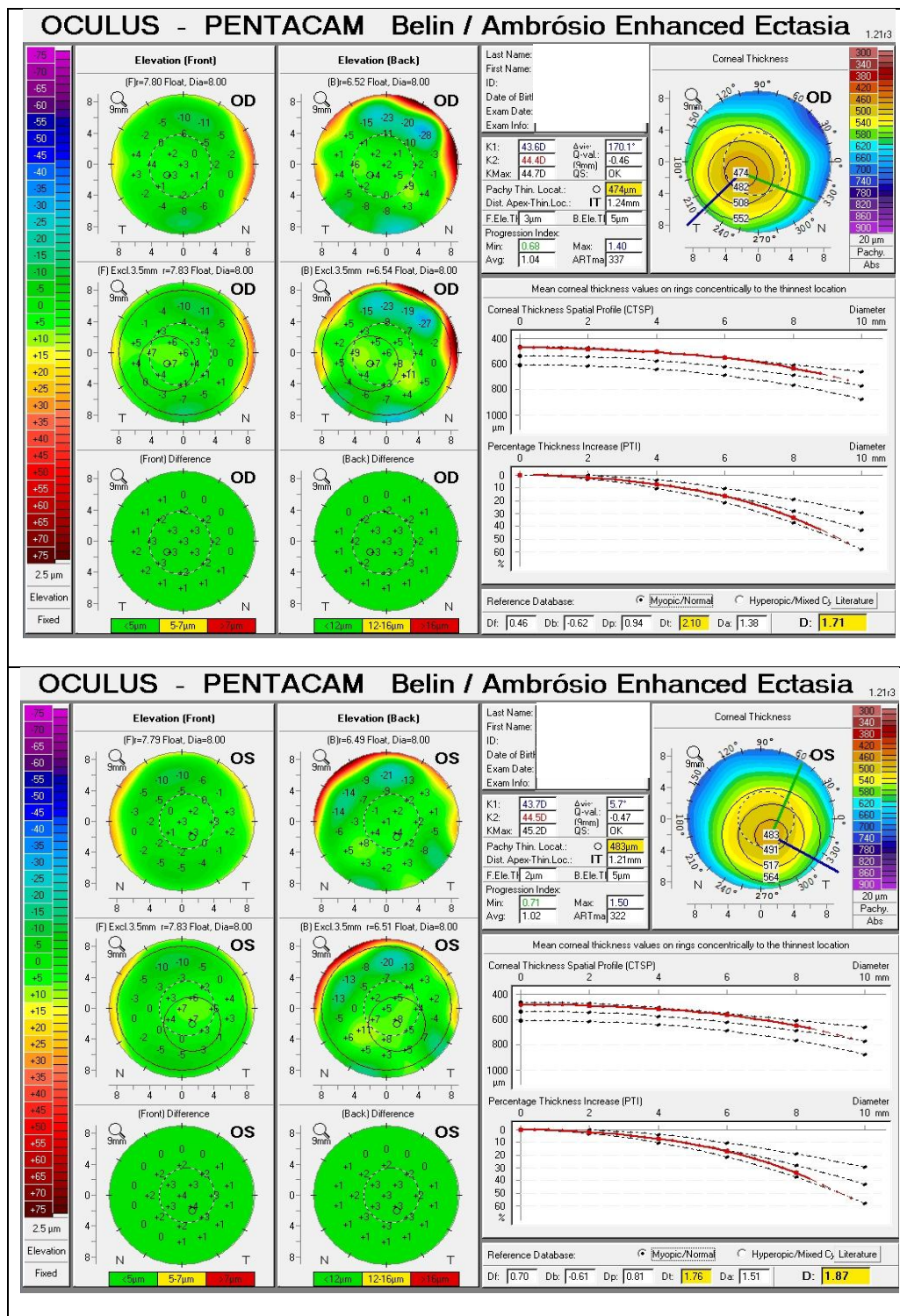
A felvételen jól látható, hogy míg az elülső felszín elevációs térképén nem figyelhető meg semmiféle kóros jel, és a cornea legvékonyabb pontján is 550 µm a vastagság a jobb szemén, 555 µm a bal szemén, a hátsó felszín elevációs térképén már mindkét corneán egyértelműen megjelenik a centrális, >16 µm differencia, ami már kóros, és igen korai, szubklinikai KC-ra utaló jelnek tekinthető.

19 évesen vizsgáltuk először azt a kontrollt, akinek mindkét szemén prominens idegeket találtunk, Fleischer gyűrűje nem volt, de a corneája ultrahangos pachymetriás vizsgálattal mérve az átlagosnál vékonyabbnak bizonyult (477 μm a jobb szemén, 481 μm a bal szemén). Idén, 13 évvel később ismét megvizsgáltuk ezt a hölgyet Dr. Takács Lili tanárnővel együtt. A vízusa kis mértékben romlott, és a bal szemén egy halvány vasvonal jelent meg. A topográfiás felvételen a jobb szemén normál, a bal szemén igen enyhe aszimmetrikus corneális mintázat látható. A 13 év során lényeges változás nem történt a szaruhártya topográfiát illetően, nem figyelhető meg progresszió. (15. ábra).



15. ábra: A 13 év elteltével ismét megvizsgált kontrollunk topográfiás felvétele

Az A és C képek a jobb, a B és D képek a bal szemről készültek. Az A és B felvételek a 2006-os, a C és D pedig a 2019-es vizsgálat eredményei. A jobb szemén normál, a bal szemén igen enyhe aszimmetrikus corneális mintázat figyelhető meg. A 13 év során lényeges változás nem történt a szaruhártya topográfiát illetően, nem mutatkozott progresszió.



16. ábra: Pentacam felvétel a 15. ábrán szereplő, 13 év után ismét megvizsgált kontrollunk mindkét szeméről.

Sem az előlő, sem a hátsó felszín elevációs térképén nem látható semmilyen gyanúra okot adó eltérés (<12 μm eleváció). A szaruhártya viszont a normálhoz képest vékonyabb (474 μm a jobb szemén, 483 μm a bal szemén), illetve a vastagság növekedési százalék (Percentage Thickness Increase, PTI) görbe a határon van, a cornea vastagsági térbeli profil (Corneal Thickness Spatial Profile, CTSP) görbe is gyanúsak bizonyul az ő esetében.

Pentacam vizsgálat is történt, amely a hátsó felszín elevációs térképén nem mutatott semmilyen gyanúra okot adó eltérést ($<12\text{ }\mu\text{m}$ eleváció), és a szaruhártya-vastagságot a korábbihoz képest hasonlóan mérte, ($474\text{ }\mu\text{m}$ a jobb szemén, $483\text{ }\mu\text{m}$ a bal szemén), viszont a vastagság növekedési százalék (Percentage Thickness Increase, PTI) görbe a határon van, a cornea vastagsági térbeli profil (Corneal Thickness Spatial Profile, CTSP) görbe is gyanúsnak bizonyult az ő esetében (16. ábra). A prominens corneális idegek jelenléte, és a később megjelenő vasvonal az ő esetében is felveti a gyanút, amit műszeres vizsgálattal a bal szem enyhén aszimmetrikus corneális mintázata, illetve a Pentacam felvétel PTI és CTSP görbéi megerősítenek.

A harmadik kontroll, egy 31 éves férfi corneáján réslámpás vizsgálat során találtunk Fleischer gyűrűt és prominens idegeket. Topográfias felvétele aszimmetrikus corneális mintázatot mutatott (12. B ábra). A szaruhártya vastagsága a normál tartományban volt ultrahangos pachymetriás vizsgálattal ($565\text{ }\mu\text{m}$ a jobb szemén, $559\text{ }\mu\text{m}$ a bal szemén). 8 évvel később, 39 éves korában ismét megjelent a Klinikán, Dr. Takács Lili tanárnő vizsgálta őt is. A réslámpás felvétel ekkor készült (12. A ábra), ezen kívül más vizsgálatba nem egyezett bele. Nem panaszkodott látásromlásra, tehát jelentős progressziója biztosan nem volt.

Habár ez a három példa nem igazán minősül követéses vizsgálatnak, mégis az a valószínű a fentiek alapján, hogy akik 20 év körül, vagy idősebb korban még a szubklinikai keratoconus stádiumában vannak, azok nagy része nem mutat progressziót, hacsak nem történik náluk a cornea szerkezetét jelentősen befolyásoló hatás, pl. refraktív műtét. Számukra ezt semmiképp nem javasolnánk. A hosszú időtartamú, ismételt vizsgálataink arra is példát adnak, hogy bizonyos esetekben a corneális vas depozitum alakja és mérete megváltozhat, sőt újonnan is megjelenhet vasvonal a szaruhártyán.

Sajnos a többi, vizsgálatunkban részt vevő személyről nem tudtunk szaruhártya tomográfias felvételeket készíteni, mert az adatgyűjtés idején nem állt rendelkezésünkre Pentacam készülék.

Egy újabb, a KC diagnosztikus módszereinek összehasonlítását végző tanulmány azt mutatta ki, hogy ugyan egyetlen paraméter vizsgálata önmagában nem elégséges a kórisme megállapításához, mégis a vizsgált topográfias és tomográfias paraméterek megbízhatóbbak voltak a cornea biomechanikai tulajdonságait vizsgáló paramétereknél a keratoconus diagnosztizálása szempontjából. A vizsgált topográfias paraméterek egyike a *KSI* index volt, amit mi is használtunk statisztikai analíziseink során. A tomográfias, Pentacammal mért paraméterekkel a *KSI* index jól összehasonlíthatónak bizonyult, nagyon jó eredményeket produkált a KC diagnosztizálása során [225]. A szubklinikai keratoconus normál corneától való

elkülönítésében ugyanakkor hatékonynak bizonyult a tomográfiás és a biomechanikai paraméterek kombinációja [226] [33].

A bonyolult képképző technikák ellenére a szubklinikai keratoconus kimutatása még mindig nagy kihívást jelent sok esetben. A szubklinikai esetek felismerése ugyanakkor nagyon fontos egyrészt a genetikai tanulmányok, másrészt a refraktív sebészeti beavatkozások előtt a magas rizikójú egyének kiválasztása szempontjából [82] [215] [213] [33] [32].

A vizsgált populációnkban az egyik proband húgának mindkét szemén refraktív sebészeti, LASIK beavatkozást végeztek, 5 évvel azelőtt, hogy a családot vizsgáltuk volna keratoconus irányában. A 24 éves lánynál progresszív keratektázia alakult ki: a jobb szem vízusa nem sokkal a beavatkozás után fokozatosan romlott, míg a bal szemén ugyanez a folyamat négy és fél év múlva kezdődött. A LASIK beavatkozás után 2 évvel a bátyjánál KC-t diagnosztizáltak, és feltételezhető, hogy a lány LASIK műtete előtt a bátyjánál már előfordulhattak korai keratoconusra utaló enyhe topográfiás vagy klinikai jelek. Az édesapjuknál topográfiával szubklinikai KC-ra gyanús aszimmetrikus mintázatokat találtunk, az édesanyjuknál pedig réslámpával kétoldali, halvány Fleischer gyűrűt figyeltünk meg (14. ábra, a világoskékkel bekeretezett családfa). Ez az eset jól példázza, hogy a családtagok vizsgálatának is komoly jelentősége lehet a refraktív beavatkozások előtti szűrés folyamatában, különösen kérdéses esetekben.

A normál kontroll egyének vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy a szubklinikai KC alkalomadtán előfordul a normál populációban, pozitív családi anamnézis hiányában is. A keratoconus is lehet sporadikus sok esetben, ugyanígy a szubklinikai KC is. A kontrollok közt azonosítottunk olyanokat, akiknek a corneájuk egészségesnek tűnt, ugyanakkor topográfiával gyanúsak bizonyultak, sőt Fleischer gyűrűvel is rendelkeztek. Ennek komoly jelentősége van a refraktív sebészeti beavatkozások szempontjából, ugyanis a már létező corneális ektáziák, köztük a KC alacsony expresszivitású formái az egyik leggyakoribb, és minden valószínűség szerint a legfigyelemreméltóbb kockázati tényezői a iatrogén keratektáziának [227] [82] [207] [213] [214] [215] [228].

Az adataink alapján a Fleischer gyűrű jelenléte a betegek rokonaiban a KC-ra jellemző tulajdonságokkal együtt fordult elő, és ugyanezt tapasztaltuk a kontrollok esetében. A Fleischer gyűrű ugyanakkor nem fordult elő minden egyes gyanús esetben, ugyanúgy, ahogyan a keratoconusos betegek körében sem jelent meg minden személynél. Mindazonáltal a Fleischer gyűrű jelenléte felvetheti a szubklinikai KC gyanúját, és segíthet eldönteni egy kérdéses esetben, hogy van-e kockázata a refraktív sebészeti beavatkozásnak. A refraktív sebészeknek érdemes foglalkozniuk a családi anamnézis tisztázásával az ektatikus szaruhártya betegségeket illetően [84] [81] [229], sőt, bizonyos, kérdéses esetekben a

családtagok vizsgálatát is érdemes megfontolni. Ezt példázza a mi populációnkban talált eset is. Az ektázia kockázatának pontozási rendszere (Ectasia Risk Score System) súlyozottan pontozza a topográfiás cornea mintázatot, a becsült reziduális stroma-ág vastagságot, az életkort, az operáció előtti szaruhártya-vastagságot és a szférikus ekvivalenst [213]. Néhány refraktív sebész szerint a reziduális stroma-ág vastagsága a legfontosabb tényező az ektázia lehetséges kialakulása szempontjából, és kockázatos lehet a kritikus mennyiségű stroma-szövet eltávolítása, ami strukturálisan gyengíti a corneát [230]. Bizonyos személyeknél ugyanakkor felléphet a posztoperatív keratektázia az ismert rizikófaktorok hiányában is, tehát normál preoperatív cornea topográfia, 250 μm -nél nagyobb kalkulált reziduális stroma-ág vastagság, normál szaruhártya-vastagság, kismértékű miópia és 35 év feletti életkor esetén is. Továbbá megfigyeltek késői előfordulású eseteket is, amikor a sikeres LASIK műtét után akár több mint 10 évvel alakult ki az ektázia [211] [214]. Ezekben a tanulmányokban szereplő egyének a mi gyanús kontrolljainkra emlékeztetnek. Feltételezhetően az lehet ennek az oka, hogy a Randleman-féle ektázia-pontozási rendszer kizárólag az elülső corneális felszín vizsgálatán alapszik, így a hátsó felszínen előforduló potenciális elváltozásokat nem képes kiszűrni. A hátsó felszín vizsgálatára is alkalmas modern diagnosztikus eszközök sokkal hatékonyabban képesek szűrni a refraktív sebészeti beavatkozásra jelentkező egyéneket, és azonosítani az esetleges szubklinikai keratoconusos betegeket [231] [228] [33].

Amióta elterjedt a klinikai gyakorlatban a Randleman-féle ektázia-pontozási rendszer, és elérhetővé vált a cornea hátsó felszínének vizsgálata szűrési célból, drámaian lecsökkent a refraktív beavatkozások után a keratektázia kialakulásának aránya [232].

Ritkán még így is előfordulhatnak alapos szűrés, és komplikációmentes beavatkozás után ektáziás esetek, ebből lehet arra következtetni, hogy létezhetnek még fel nem ismert rizikófaktorok.

Kérdéses esetekben ezeknek a faktoroknak nagy jelentősége lehet, és akár a Fleischer gyűrű, illetve a prominens idegek jelenlétét is tekinthetjük az egyik ilyen rizikófaktoroknak. Ezek réslámpa segítségével némi gyakorlattal könnyen és egyszerűen megfigyelhető tényezők, és a jelenlétük felhívhatja a figyelmet a háttérben álló esetleges, enyhe kifejeződési formájú KC-ra, és ezáltal a iatrogén keratektázia kockázatára, még az elülső felszín normális topográfiás mintázatának ellenére is. Ilyenkor mindenképpen érdemes alapos, hátsó felszínre is kiterjedő vizsgálatot végezni, szükség esetén a családi anamnézist is figyelembe venni, és adott esetben a rokonok vizsgálatát is elvégezni.

Kimutatták, hogy bizonyos egyének rendelkeznek ugyan az ektáziára hajlamosító rizikófaktorokkal, mégsem alakul ki náluk ez az állapot [233].

Szükség van tehát a keratektázia szűrésére alkalmas, széles körben használható, nagyon szenzitív és specifikus módszerekre.

Összefoglalásképpen elmondható, hogy eredményeink alapján javasolható a Fleischer gyűrű és a prominens idegek gondos keresése a corneán, mely a kérdéses esetekben segíthet eldönteni, hogy megállapíthatjuk-e a szubklinikai keratoconus tényét.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A keratoconus (KC) a szaruhártya leggyakoribb, primer és progresszív, kétoldali ektáziája, melynek során a cornea alsó vagy középső, körülírt részén a stroma elvékonyodik és kúp alakban előbultul. Kialakulásában a környezeti hatások mellett szerepet játszhatnak a genetikai faktorok is. A feltételezett öröklési mód megállapítása céljából sporadikus KC családok klinikai és szaruhártya topográfiás adatait felhasználva komplex szegregáció analízist végeztünk. 60 proband alapján kiválasztott 212 családtag, és hozzájuk korban és nemben illesztett 212 fős kontrollcsoport adatai alapján vizsgáltuk a családi halmozódás mértékét, és a cornea topográfiás paraméterek eloszlását. A S.A.G.E. statisztikai programcsomag segítségével komplex szegregáció analízist végeztünk, vizsgálva a *KSI*, *KISA* és *6mm Fourier Aszimmetria* indexek szegregációját önállóan, illetve a Fleischer gyűrű és a *nem*, mint kovariánsok felhasználásával. Teszteltünk Mendeli, és nem-Mendeli öröklődési módokat is. A *KISA* index alapján populációnk erőteljes családi halmozódást mutatott. Minden topográfiás paraméter elkülönítette egymástól a KC, a nem-KC családtag és a normál kontrollok csoportjait. A legtakarékosabb illesztési modellként elfogadott hipotézis minden index esetében nem-Mendeli major gén jelenlétére utalt. A Fleischer gyűrű, mint kovariáns javította a nem-Mendeli major gén modell illeszkedését. A Mendeli, a sporadikus és a poligénes modelleket következetesen elvetettük. Megvizsgáltuk a KC jól ismert klinikai jellemzői közül a Fleischer gyűrű, a prominens idegek, és a szaruhártya-elvékonyodás jeleit 117 nem beteg családtagon, és 142 egészséges kontrollon. Pearson-féle korrelációt és *t*-próbát végeztünk, melynek során a Fleischer gyűrű, a prominens idegek és a centrális szaruhártya-vastagság adatait hasonlítottuk össze egymással, és a topográfiás indexekkel (*KSI*, *KISA*, 3 és *6mm Fourier Aszimmetria*, *I-S*). Azoknak a nem beteg KC családtagoknak, akiknek a corneáján Fleischer gyűrűt, vagy prominens idegeket találtunk, vékonyabbnak és aszimmetrikusabbnak bizonyult a szaruhártyájuk, mint azoknak, akiken nem találtuk meg ezeket a klinikai jeleket. Az egészséges családtagok között viszonylag gyakran találtunk Fleischer gyűrűt, és prominens idegeket. A kontrollok között ugyan ritkán, de mégis megtaláltuk ezeket a jeleket, ami arra utal, hogy előfordulnak szubklinikai KC esetek a normál populációban is, és ezeknek a személyeknek a corneája a *t*-próbák alapján jobban hasonlított a KC-ra, mint a többi kontrollé. A komplex szegregáció analízis eredményei szerint az öröklődésnek erőteljes szerepe van a keratoconusban, amely valószínűleg nem-Mendeli major génhatás által valósul meg. A sporadikus KC családokban az alacsony genotípus-fenotípus korreláció megnehezíti a kapcsoltsági vizsgálatokat, ezért a teljes genomra kiterjedő asszociációs tanulmányok, az új generációs szekvenálási technikák, az epigenetikus- és útvonal-analízisek több hasznos információt nyújthatnak a betegség patogenezisééről. A Fleischer gyűrű, és a prominens idegek gondos keresése a corneán segíthet egy kérdéses esetben eldönteni, hogy szubklinikai KC-t diagnosztizáljunk-e, vagy sem.

7. SUMMARY

Keratoconus (KC) is the most common, primary and progressive, bilateral, ectatic disease of the cornea, in which the lower and middle part of the cornea assumes a conical shape because of thinning and protrusion. Along with environmental effects, genetic factors may also play a role in its development. Complex segregation analysis was performed to reveal the presumed mode of inheritance, using clinical and videokeratographic data of sporadic KC families. Based on the data of 212 family members ascertained through 60 probands, and 212 age and gender matched healthy controls, familial aggregation and distribution of videokeratographic parameters were examined. Segregation of *KSI*, *KISA* and *6 mm Fourier Asymmetry* alone or in covariate analysis with gender or the presence of Fleischer ring, exploring mendelian and non-mendelian models of inheritance was tested using complex segregation analysis with the S.A.G.E. statistical program package. Based on *KISA* index, our population showed strong familial aggregation. All examined videokeratography indices were able to differentiate between KC and non-KC family members as well as normal controls. Hypothesis accepted as most parsimonious model of inheritance for all indices indicated the presence of a non-mendelian major gene effect. Inclusion of Fleischer ring as covariate improved the fit of non-mendelian major gene models. Mendelian, sporadic and polygenic models were consistently rejected. Of the commonly known clinical signs of keratoconus, we examined the occurrence of Fleischer ring, prominent corneal nerves and thinning, in 117 unaffected family members of KC patients and in 142 healthy control individuals. With the use of Pearson correlation and *t*-test statistics, Fleischer ring, prominent corneal nerves and central pachymetry data were tested with each other and with videokeratography indices (*KSI*, *KISA*, 3 and 6 mm *Fourier Asymmetry*, and *I-S*). Unaffected KC family members who exhibited Fleischer ring or prominent nerves had thinner and more asymmetric corneas than those without Fleischer ring or prominent corneal nerves. We frequently observed Fleischer ring and prominent nerves on the corneas of unaffected family members. Though rarely, Fleischer ring and prominent corneal nerves occurred among normal controls, indicating the existence of subclinical KC cases in the normal population. Control subjects, who had corneal Fleischer ring or prominent nerves had corneas more similar to KC than other controls, based on *t*-tests. The results of complex segregation analysis indicate a strong genetic contribution to the transmission of keratoconus. Inheritance is most probably due to a non-mendelian major gene effect. Low genotype-phenotype correlation in sporadic KC families can make linkage studies difficult, thus genome wide association studies, new generational sequencing techniques, epigenetic and pathway analyses may provide more information on disease pathogenesis in non-familial keratoconus. Searching for the possible presence of Fleischer ring or prominent nerves on the cornea may help in the decision whether or not to diagnose subclinical KC in a borderline case.

8. TÁRGYSZAVAK

keratoconus

szubklinikai keratoconus

családi halmozódás

cornea topográfiás indexek

komplex szegregáció analízis

nem-Mendeli major gén

komplex, nem-Mendeli betegség

Fleischer gyűrű

prominens corneális idegek

a cornea elvékonyodása

iatrogén keratektázia

9. KEY WORDS

keratoconus

subclinical keratoconus

familial aggregation

videokeratographic indices

complex segregation analysis

non-mendelian major gene

complex, non-mendelian disease

Fleischer ring

prominent corneal nerves

corneal thinning

iatrogenic keratectasia

10. IRODALOMJEGYZÉK

1. Hatami-Marbini, H. and A. Rahimi, *Collagen cross-linking treatment effects on corneal dynamic biomechanical properties*. Exp Eye Res, 2015. **135**: p. 88-92.
2. Massoudi, D., F. Malecaze, and S.D. Galiacy, *Collagens and proteoglycans of the cornea: importance in transparency and visual disorders*. Cell Tissue Res, 2016. **363**(2): p. 337-49.
3. Chen, S., M.J. Mienaltowski, and D.E. Birk, *Regulation of corneal stroma extracellular matrix assembly*. Exp Eye Res, 2015. **133**: p. 69-80.
4. Zhou, H.Y., et al., *Role of corneal collagen fibrils in corneal disorders and related pathological conditions*. Int J Ophthalmol, 2017. **10**(5): p. 803-811.
5. Dua, H.S., et al., *Human corneal anatomy redefined: a novel pre-Descemet's layer (Dua's layer)*. Ophthalmology, 2013. **120**(9): p. 1778-85.
6. Krachmer, J.H., R.S. Feder, and M.W. Belin, *Keratoconus and related noninflammatory corneal thinning disorders*. Surv Ophthalmol, 1984. **28**(4): p. 293-322.
7. Asimellis, G. and E.J. Kaufman, *Keratoconus*, in StatPearls. 2018: Treasure Island (FL).
8. Roberts, C.J. and W.J. Dupps, Jr., *Biomechanics of corneal ectasia and biomechanical treatments*. J Cataract Refract Surg, 2014. **40**(6): p. 991-8.
9. Mihaltz, K., et al., *Mechanism of aberration balance and the effect on retinal image quality in keratoconus: optical and visual characteristics of keratoconus*. J Cataract Refract Surg, 2011. **37**(5): p. 914-22.
10. Zadnik, K., et al., *Biomicroscopic signs and disease severity in keratoconus. Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus (CLEK) Study Group*. Cornea, 1996. **15**(2): p. 139-46.
11. Rabinowitz, Y.S., *Keratoconus*. Surv Ophthalmol, 1998. **42**(4): p. 297-319.
12. Loukovitis, E., et al., *Genetic Aspects of Keratoconus: A Literature Review Exploring Potential Genetic Contributions and Possible Genetic Relationships with Comorbidities*. Ophthalmol Ther, 2018. **7**(2): p. 263-292.
13. Pearson, A.R., et al., *Does ethnic origin influence the incidence or severity of keratoconus?* Eye (Lond), 2000. **14** (Pt 4): p. 625-8.
14. Georgiou, T., et al., *Influence of ethnic origin on the incidence of keratoconus and associated atopic disease in Asians and white patients*. Eye (Lond), 2004. **18**(4): p. 379-83.
15. Millodot, M., et al., *Prevalence and associated factors of keratoconus in Jerusalem: a cross-sectional study*. Ophthalmic Epidemiol, 2011. **18**(2): p. 91-7.
16. Jonas, J.B., et al., *Prevalence and associations of keratoconus in rural maharashtra in central India: the central India eye and medical study*. Am J Ophthalmol, 2009. **148**(5): p. 760-5.
17. Torres Netto, E.A., et al., *Prevalence of keratoconus in paediatric patients in Riyadh, Saudi Arabia*. Br J Ophthalmol, 2018. **102**(10): p. 1436-1441.
18. Godefrooij, D.A., et al., *Age-specific Incidence and Prevalence of Keratoconus: A Nationwide Registration Study*. Am J Ophthalmol, 2017. **175**: p. 169-172.
19. Liu, E. and A.R. Slomovic, *Indications for penetrating keratoplasty in Canada, 1986-1995*. Cornea, 1997. **16**(4): p. 414-9.
20. Bigan, G., et al., *Corneal transplantation trends in France from 2004 to 2015: A 12-year review*. Eur J Ophthalmol, 2018. **28**(5): p. 535-540.
21. Sarezky, D., et al., *Trends in Corneal Transplantation in Keratoconus*. Cornea, 2017. **36**(2): p. 131-137.
22. Ihalainen, A., *Clinical and epidemiological features of keratoconus genetic and external factors in the pathogenesis of the disease*. Acta Ophthalmol Suppl, 1986. **178**: p. 1-64.
23. Fink, B.A., et al., *Differences in keratoconus as a function of gender*. Am J Ophthalmol, 2005. **140**(3): p. 459-68.

24. Ertan, A. and O. Muftuoglu, *Keratoconus clinical findings according to different age and gender groups*. Cornea, 2008. **27**(10): p. 1109-13.
25. Weed, K.H., et al., *The Dundee University Scottish Keratoconus study: demographics, corneal signs, associated diseases, and eye rubbing*. Eye (Lond), 2008. **22**(4): p. 534-41.
26. Hammerstein, W., *[Significance of the sex ratio in the determination of x-chromosomal heredity demonstrated on the clinical picture of keratoconus]*. Klin Monbl Augenheilkd, 1971. **159**(5): p. 602-8.
27. Amsler, M., *[Some data on the problem of keratoconus]*. Bull Soc Belge Ophtalmol, 1961. **129**: p. 331-54.
28. Hwang, S., D.H. Lim, and T.Y. Chung, *Prevalence and Incidence of Keratoconus in South Korea: A Nationwide Population-based Study*. Am J Ophthalmol, 2018. **192**: p. 56-64.
29. Rabinowitz, Y.S., A.B. Nesburn, and P.J. McDonnell, *Videokeratography of the fellow eye in unilateral keratoconus*. Ophthalmology, 1993. **100**(2): p. 181-6.
30. Li, X., et al., *Longitudinal study of the normal eyes in unilateral keratoconus patients*. Ophthalmology, 2004. **111**(3): p. 440-6.
31. Smolek, M.K. and S.D. Klyce, *Current keratoconus detection methods compared with a neural network approach*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1997. **38**(11): p. 2290-9.
32. McMahon, T.T., et al., *A new method for grading the severity of keratoconus: the Keratoconus Severity Score (KSS)*. Cornea, 2006. **25**(7): p. 794-800.
33. Martinez-Abad, A. and D.P. Pinero, *New perspectives on the detection and progression of keratoconus*. J Cataract Refract Surg, 2017. **43**(9): p. 1213-1227.
34. Downie, L.E., *Transiency of Fleischer's rings in Forme-Fruste keratoconus*. Ophthalmology, 2013. **120**(5): p. 1101 e1-8.
35. Saad, A. and D. Gatinel, *Topographic and tomographic properties of forme fruste keratoconus corneas*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2010. **51**(11): p. 5546-55.
36. Sandali, O., et al., *Fourier-domain optical coherence tomography imaging in keratoconus: a corneal structural classification*. Ophthalmology, 2013. **120**(12): p. 2403-12.
37. Li, Y., et al., *Subclinical keratoconus detection by pattern analysis of corneal and epithelial thickness maps with optical coherence tomography*. J Cataract Refract Surg, 2016. **42**(2): p. 284-95.
38. Bao, F., et al., *Consideration of corneal biomechanics in the diagnosis and management of keratoconus: is it important?* Eye Vis (Lond), 2016. **3**: p. 18.
39. Edwards, M., C.N. McGhee, and S. Dean, *The genetics of keratoconus*. Clin Experiment Ophthalmol, 2001. **29**(6): p. 345-51.
40. Rabinowitz, Y.S., *The genetics of keratoconus*. Ophthalmol Clin North Am, 2003. **16**(4): p. 607-20, vii.
41. Nielsen, K., et al., *Update on the keratoconus genetics*. Acta Ophthalmol, 2013. **91**(2): p. 106-13.
42. Eichler, E.E., et al., *Missing heritability and strategies for finding the underlying causes of complex disease*. Nat Rev Genet, 2010. **11**(6): p. 446-50.
43. Gordon-Shaag, A., et al., *The genetic and environmental factors for keratoconus*. Biomed Res Int, 2015. **2015**: p. 795738.
44. Feingold, J., *[Multifactorial diseases: a nightmare for the geneticist]*. Med Sci (Paris), 2005. **21**(11): p. 927-33.
45. Neel, J.V., Fajan, S. S., Conn, J. W., Davidson, R. T., *Diabetes mellitus*. In: *Genetics and epidemiology of chronic diseases*. Amsterdam: Excerpta Medica, 1965: p. 150-132.
46. McMonnies, C.W., *Epigenetic mechanisms might help explain environmental contributions to the pathogenesis of keratoconus*. Eye Contact Lens, 2014. **40**(6): p. 371-5.
47. Davidson, A.E., et al., *The pathogenesis of keratoconus*. Eye (Lond), 2014. **28**(2): p. 189-95.
48. Sugar, J. and M.S. Macsai, *What causes keratoconus?* Cornea, 2012. **31**(6): p. 716-9.

49. McMonnies, C.W. and G.C. Boneham, *Keratoconus, allergy, itch, eye-rubbing and hand-dominance*. Clin Exp Optom, 2003. **86**(6): p. 376-84.
50. McMonnies, C.W., *Mechanisms of rubbing-related corneal trauma in keratoconus*. Cornea, 2009. **28**(6): p. 607-15.
51. Steahly, L.P., *Keratoconus following contact lens wear*. Ann Ophthalmol, 1978. **10**(9): p. 1177-9.
52. Agrawal, V.B., *Characteristics of keratoconus patients at a tertiary eye center in India*. J Ophthalmic Vis Res, 2011. **6**(2): p. 87-91.
53. Bawazeer, A.M., W.G. Hodge, and B. Lorimer, *Atopy and keratoconus: a multivariate analysis*. Br J Ophthalmol, 2000. **84**(8): p. 834-6.
54. Naderan, M., et al., *Effect of Allergic Diseases on Keratoconus Severity*. Ocul Immunol Inflamm, 2016: p. 1-6.
55. Solomon, A., *Corneal complications of vernal keratoconjunctivitis*. Curr Opin Allergy Clin Immunol, 2015. **15**(5): p. 489-94.
56. Gordon-Shaag, A., et al., *Risk factors for keratoconus in Israel: a case-control study*. Ophthalmic Physiol Opt, 2015. **35**(6): p. 673-81.
57. Arnal, E., et al., *Oxidative stress in keratoconus?* Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011. **52**(12): p. 8592-7.
58. Romero-Jimenez, M., J. Santodomingo-Rubido, and J.S. Wolffsohn, *Keratoconus: a review*. Cont Lens Anterior Eye, 2010. **33**(4): p. 157-66; quiz 205.
59. Skeller, E. and J. Oster, *Eye symptoms in mongolism*. Acta Ophthalmol (Copenh), 1951. **29**(2): p. 149-61.
60. Greenfield, G., et al., *Blue sclerae and keratoconus: key features of a distinct heritable disorder of connective tissue*. Clin Genet, 1973. **4**(1): p. 8-16.
61. Robertson, I., *Keratoconus and the Ehlers-Danlos syndrome: a new aspect of keratoconus*. Med J Aust, 1975. **1**(18): p. 571-3.
62. Beardsley, T.L. and G.N. Foulks, *An association of keratoconus and mitral valve prolapse*. Ophthalmology, 1982. **89**(1): p. 35-7.
63. Karel, I., *Keratoconus in congenital diffuse tapetoretinal degeneration*. Ophthalmologica, 1968. **155**(1): p. 8-15.
64. Elder, M.J., *Leber congenital amaurosis and its association with keratoconus and keratoglobus*. J Pediatr Ophthalmol Strabismus, 1994. **31**(1): p. 38-40.
65. Liskova, P., et al., *Variable ocular phenotypes of posterior polymorphous corneal dystrophy caused by mutations in the ZEB1 gene*. Ophthalmic Genet, 2010. **31**(4): p. 230-4.
66. Igarashi, S., et al., *Association of keratoconus and Avellino corneal dystrophy*. Br J Ophthalmol, 2003. **87**(3): p. 367-8.
67. Salouti, R., et al., *Combined anterior keratoconus and Fuchs' endothelial dystrophy: a report of two cases*. Clin Exp Optom, 2010. **93**(4): p. 268-70.
68. Wilson, C.M., et al., *Keratoconus and granular dystrophy*. BMJ Case Rep, 2014. **2014**.
69. Rho, C.R., et al., *A case of concomitant keratoconus and granular corneal dystrophy type II*. Cont Lens Anterior Eye, 2014. **37**(4): p. 314-6.
70. Maatta, M., et al., *Differential expression of collagen types XVIII/endostatin and XV in normal, keratoconus, and scarred human corneas*. Cornea, 2006. **25**(3): p. 341-9.
71. Maatta, M., et al., *Altered expression of type XIII collagen in keratoconus and scarred human cornea: Increased expression in scarred cornea is associated with myofibroblast transformation*. Cornea, 2006. **25**(4): p. 448-53.
72. Mackiewicz, Z., et al., *Collagenolytic proteinases in keratoconus*. Cornea, 2006. **25**(5): p. 603-10.
73. Parker, J., et al., *Videokeratography of keratoconus in monozygotic twins*. J Refract Surg, 1996. **12**(1): p. 180-3.

74. Tuft, S.J., et al., *Keratoconus in 18 pairs of twins*. Acta Ophthalmol, 2012. **90**(6): p. e482-6.
75. Gordon-Shaag, A., et al., *Is consanguinity a risk factor for keratoconus?* Optom Vis Sci, 2013. **90**(5): p. 448-54.
76. Hammerstein, W., *[Genetics of conical cornea (author's transl)]*. Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol, 1974. **190**(4): p. 293-308.
77. Naderan, M., et al., *Association between Family History and Keratoconus Severity*. Curr Eye Res, 2016. **41**(11): p. 1414-1418.
78. Amsler, M., *Keratocone classique et keratocone fruste, arguments unitaires*. Ophthalmologica, 1946. **111**: p. 96-101.
79. Rabinowitz, Y.S., J. Garbus, and P.J. McDonnell, *Computer-assisted corneal topography in family members of patients with keratoconus*. Arch Ophthalmol, 1990. **108**(3): p. 365-71.
80. Gonzalez, V. and P.J. McDonnell, *Computer-assisted corneal topography in parents of patients with keratoconus*. Arch Ophthalmol, 1992. **110**(10): p. 1413-4.
81. Levy, D., et al., *Videokeratographic anomalies in familial keratoconus*. Ophthalmology, 2004. **111**(5): p. 867-74.
82. Seiler, T. and A.W. Quurke, *Iatrogenic keratectasia after LASIK in a case of forme fruste keratoconus*. J Cataract Refract Surg, 1998. **24**(7): p. 1007-9.
83. Karimian, F., et al., *Topographic evaluation of relatives of patients with keratoconus*. Cornea, 2008. **27**(8): p. 874-8.
84. Steele, T.M., et al., *Prevalence of Orbscan II corneal abnormalities in relatives of patients with keratoconus*. Clin Experiment Ophthalmol, 2008. **36**(9): p. 824-30.
85. Iwamoto, T. and A.G. DeVoe, *Electron microscopical study of the Fleisher ring*. Arch Ophthalmol, 1976. **94**(9): p. 1579-84.
86. Loh, A., M. Hadziahmetovic, and J.L. Dunaief, *Iron homeostasis and eye disease*. Biochim Biophys Acta, 2009. **1790**(7): p. 637-49.
87. O'Brart, D.P., et al., *Excimer laser photorefractive keratectomy for hyperopia: 7.5-year follow-up*. J Cataract Refract Surg, 2005. **31**(6): p. 1104-13.
88. Assil, K.K., et al., *Corneal iron lines associated with the intrastromal corneal ring*. Am J Ophthalmol, 1993. **116**(3): p. 350-6.
89. Reinstein, D.Z., T.J. Archer, and M. Gobbe, *Corneal epithelial thickness profile in the diagnosis of keratoconus*. J Refract Surg, 2009. **25**(7): p. 604-10.
90. Alharbi, A. and H.A. Swarbrick, *The effects of overnight orthokeratology lens wear on corneal thickness*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2003. **44**(6): p. 2518-23.
91. Vongthongsri, A., R.S. Chuck, and J.S. Pepose, *Corneal iron deposits after laser in situ keratomileusis*. Am J Ophthalmol, 1999. **127**(1): p. 85-6.
92. Gonzalez-Perez, J., et al., *Long-term changes in corneal structure and tear inflammatory mediators after orthokeratology and LASIK*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012. **53**(9): p. 5301-11.
93. Joseph, R., O.P. Srivastava, and R.R. Pfister, *Differential epithelial and stromal protein profiles in keratoconus and normal human corneas*. Exp Eye Res, 2011. **92**(4): p. 282-98.
94. Hiratsuka, Y., K. Nakayasu, and A. Kanai, *Secondary keratoconus with corneal epithelial iron ring similar to Fleischer's ring*. Jpn J Ophthalmol, 2000. **44**(4): p. 381-6.
95. Pathak, D., et al., *Mitochondrial complex 1 gene analysis in keratoconus*. Mol Vis, 2011. **17**: p. 1514-25.
96. Chwa, M., et al., *Hypersensitive response to oxidative stress in keratoconus corneal fibroblasts*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2008. **49**(10): p. 4361-9.
97. Patel, D.V., et al., *Laser scanning in vivo confocal microscopy and quantitative aesthesiometry reveal decreased corneal innervation and sensation in keratoconus*. Eye (Lond), 2009. **23**(3): p. 586-92.

98. Brookes, N.H., et al., *Involvement of corneal nerves in the progression of keratoconus*. Exp Eye Res, 2003. **77**(4): p. 515-24.
99. Al-Aqaba, M.A., et al., *The morphologic characteristics of corneal nerves in advanced keratoconus as evaluated by acetylcholinesterase technique*. Am J Ophthalmol, 2011. **152**(3): p. 364-376 e1.
100. Bitirgen, G., et al., *In vivo corneal confocal microscopic analysis in patients with keratoconus*. Int J Ophthalmol, 2015. **8**(3): p. 534-9.
101. Cruzat, A., D. Pavan-Langston, and P. Hamrah, *In vivo confocal microscopy of corneal nerves: analysis and clinical correlation*. Semin Ophthalmol, 2010. **25**(5-6): p. 171-7.
102. Spadea, L., S. Salvatore, and E.M. Vingolo, *Corneal sensitivity in keratoconus: a review of the literature*. ScientificWorldJournal, 2013. **2013**: p. 683090.
103. Niederer, R.L., et al., *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**(7): p. 2964-70.
104. Patel, D.V. and C.N. McGhee, *Mapping the corneal sub-basal nerve plexus in keratoconus by in vivo laser scanning confocal microscopy*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2006. **47**(4): p. 1348-51.
105. Weed, K.H., et al., *Quantitative analysis of corneal microstructure in keratoconus utilising in vivo confocal microscopy*. Eye (Lond), 2007. **21**(5): p. 614-23.
106. Ucakhan, O.O., et al., *In vivo confocal microscopy findings in keratoconus*. Eye Contact Lens, 2006. **32**(4): p. 183-91.
107. Song, P., et al., *The Superficial Stromal Scar Formation Mechanism in Keratoconus: A Study Using Laser Scanning In Vivo Confocal Microscopy*. Biomed Res Int, 2016. **2016**: p. 7092938.
108. Tsubota, K., et al., *Corneal epithelium in keratoconus*. Cornea, 1995. **14**(1): p. 77-83.
109. Sherwin, T., et al., *Cellular incursion into Bowman's membrane in the peripheral cone of the keratoconic cornea*. Exp Eye Res, 2002. **74**(4): p. 473-82.
110. Edmund, C., *Corneal elasticity and ocular rigidity in normal and keratoconic eyes*. Acta Ophthalmol (Copenh), 1988. **66**(2): p. 134-40.
111. Patey, A., M. Savoldelli, and Y. Pouliquen, *Keratoconus and normal cornea: a comparative study of the collagenous fibers of the corneal stroma by image analysis*. Cornea, 1984. **3**(2): p. 119-24.
112. Polack, F.M., *Contributions of electron microscopy to the study of corneal pathology*. Surv Ophthalmol, 1976. **20**(6): p. 375-414.
113. Zhou, L., et al., *Expression of degradative enzymes and protease inhibitors in corneas with keratoconus*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1998. **39**(7): p. 1117-24.
114. Chaerkady, R., et al., *The keratoconus corneal proteome: loss of epithelial integrity and stromal degeneration*. J Proteomics, 2013. **87**: p. 122-31.
115. Mace, M., et al., *Comparative transcriptome and network biology analyses demonstrate antiproliferative and hyperapoptotic phenotypes in human keratoconus corneas*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011. **52**(9): p. 6181-91.
116. Cristina Kenney, M. and D.J. Brown, *The cascade hypothesis of keratoconus*. Cont Lens Anterior Eye, 2003. **26**(3): p. 139-46.
117. Wisse, R.P., et al., *Cytokine Expression in Keratoconus and its Corneal Microenvironment: A Systematic Review*. Ocul Surf, 2015. **13**(4): p. 272-83.
118. Burdon, K.P., et al., *Association of polymorphisms in the hepatocyte growth factor gene promoter with keratoconus*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011. **52**(11): p. 8514-9.
119. Nowak, D.M., et al., *Substitution at IL1RN and deletion at SLC4A11 segregating with phenotype in familial keratoconus*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013. **54**(3): p. 2207-15.
120. Galvis, V., et al., *Keratoconus: an inflammatory disorder?* Eye (Lond), 2015. **29**(7): p. 843-59.
121. McMonnies, C.W., *Inflammation and keratoconus*. Optom Vis Sci, 2015. **92**(2): p. e35-41.

122. Pahuja, N., et al., *Differential Molecular Expression of Extracellular Matrix and Inflammatory Genes at the Corneal Cone Apex Drives Focal Weakening in Keratoconus*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2016. **57**(13): p. 5372-5382.
123. Ziaei, M., et al., *Reshaping procedures for the surgical management of corneal ectasia*. J Cataract Refract Surg, 2015. **41**(4): p. 842-72.
124. Ormonde, S., *Refractive surgery for keratoconus*. Clin Exp Optom, 2013. **96**(2): p. 173-82.
125. Parker, J.S., K. van Dijk, and G.R. Melles, *Treatment options for advanced keratoconus: A review*. Surv Ophthalmol, 2015. **60**(5): p. 459-80.
126. Reinhart, W.J., et al., *Deep anterior lamellar keratoplasty as an alternative to penetrating keratoplasty a report by the american academy of ophthalmology*. Ophthalmology, 2011. **118**(1): p. 209-18.
127. Henein, C. and M.A. Nanavaty, *Systematic review comparing penetrating keratoplasty and deep anterior lamellar keratoplasty for management of keratoconus*. Cont Lens Anterior Eye, 2017. **40**(1): p. 3-14.
128. Arnalich-Montiel, F., J.L. Alio Del Barrio, and J.L. Alio, *Corneal surgery in keratoconus: which type, which technique, which outcomes?* Eye Vis (Lond), 2016. **3**: p. 2.
129. Mastropasqua, L., *Collagen cross-linking: when and how? A review of the state of the art of the technique and new perspectives*. Eye Vis (Lond), 2015. **2**: p. 19.
130. Wollensak, G., E. Spoerl, and T. Seiler, *Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus*. Am J Ophthalmol, 2003. **135**(5): p. 620-7.
131. Raiskup, F., et al., *Corneal collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A light in progressive keratoconus: ten-year results*. J Cataract Refract Surg, 2015. **41**(1): p. 41-6.
132. Lim, L. and E.W.L. Lim, *A Review of Corneal Collagen Cross-linking - Current Trends in Practice Applications*. Open Ophthalmol J, 2018. **12**: p. 181-213.
133. Subasinghe, S.K., K.C. Ogbuehi, and G.J. Dias, *Current perspectives on corneal collagen crosslinking (CXL)*. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2018. **256**(8): p. 1363-1384.
134. Alessio, G., et al., *Photorefractive keratectomy followed by cross-linking versus cross-linking alone for management of progressive keratoconus: two-year follow-up*. Am J Ophthalmol, 2013. **155**(1): p. 54-65 e1.
135. Kymionis, G.D., et al., *Simultaneous topography-guided PRK followed by corneal collagen cross-linking for keratoconus*. J Refract Surg, 2009. **25**(9): p. S807-11.
136. Kanellopoulos, A.J. and P.S. Binder, *Collagen cross-linking (CCL) with sequential topography-guided PRK: a temporizing alternative for keratoconus to penetrating keratoplasty*. Cornea, 2007. **26**(7): p. 891-5.
137. Guell, J.L., et al., *Late onset of a persistent, deep stromal scarring after PRK and corneal cross-linking in a patient with forme fruste keratoconus*. J Refract Surg, 2014. **30**(4): p. 286-8.
138. van Dijk, K., et al., *Midstromal isolated Bowman layer graft for reduction of advanced keratoconus: a technique to postpone penetrating or deep anterior lamellar keratoplasty*. JAMA Ophthalmol, 2014. **132**(4): p. 495-501.
139. Dragnea, D.C., et al., *Bowman layer transplantation in the treatment of keratoconus*. Eye Vis (Lond), 2018. **5**: p. 24.
140. van Dijk, K., et al., *Bowman layer transplantation to reduce and stabilize progressive, advanced keratoconus*. Ophthalmology, 2015. **122**(5): p. 909-17.
141. De Miguel, M.P., et al., *Cornea and ocular surface treatment*. Curr Stem Cell Res Ther, 2010. **5**(2): p. 195-204.
142. Alio Del Barrio, J.L. and J.L. Alio, *Cellular therapy of the corneal stroma: a new type of corneal surgery for keratoconus and corneal dystrophies*. Eye Vis (Lond), 2018. **5**: p. 28.
143. Wang, Y., et al., *Genetic epidemiological study of keratoconus: evidence for major gene determination*. Am J Med Genet, 2000. **93**(5): p. 403-9.

144. Elston, R.C. and J. Stewart, *A general model for the genetic analysis of pedigree data*. Hum Hered, 1971. **21**(6): p. 523-42.
145. Jarvik, G.P., *Complex segregation analyses: uses and limitations*. Am J Hum Genet, 1998. **63**(4): p. 942-6.
146. Kara, N., et al., *Biomechanical evaluation of cornea in topographically normal relatives of patients with keratoconus*. Cornea, 2013. **32**(3): p. 262-6.
147. Zadnik, K., et al., *Baseline findings in the Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus (CLEK) Study*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1998. **39**(13): p. 2537-46.
148. Hubbe, R.E. and G.N. Foulks, *The effect of poor fixation on computer-assisted topographic corneal analysis. Pseudokeratoconus*. Ophthalmology, 1994. **101**(10): p. 1745-8.
149. Rabinowitz, Y.S. and K. Rasheed, *KISA% index: a quantitative videokeratography algorithm embodying minimal topographic criteria for diagnosing keratoconus*. J Cataract Refract Surg, 1999. **25**(10): p. 1327-35.
150. Rabinowitz, Y.S. and P.J. McDonnell, *Computer-assisted corneal topography in keratoconus*. Refract Corneal Surg, 1989. **5**(6): p. 400-8.
151. Wilson, S.E. and S.D. Klyce, *Quantitative descriptors of corneal topography. A clinical study*. Arch Ophthalmol, 1991. **109**(3): p. 349-53.
152. Rabinowitz, Y.S., *Videokeratographic indices to aid in screening for keratoconus*. J Refract Surg, 1995. **11**(5): p. 371-9.
153. Li, X., H. Yang, and Y.S. Rabinowitz, *Keratoconus: classification scheme based on videokeratography and clinical signs*. J Cataract Refract Surg, 2009. **35**(9): p. 1597-603.
154. Maeda, N., et al., *Automated keratoconus screening with corneal topography analysis*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1994. **35**(6): p. 2749-57.
155. Hjortdal, J.O., L. Erdmann, and T. Bek, *Fourier analysis of video-keratographic data. A tool for separation of spherical, regular astigmatic and irregular astigmatic corneal power components*. Ophthalmic Physiol Opt, 1995. **15**(3): p. 171-85.
156. Keller, P.R., C.N. McGhee, and K.H. Weed, *Fourier analysis of corneal topography data after photorefractive keratectomy*. J Cataract Refract Surg, 1998. **24**(11): p. 1447-55.
157. Tanabe, T., et al., *Corneal regular and irregular astigmatism assessed by Fourier analysis of videokeratography data in normal and pathologic eyes*. Ophthalmology, 2004. **111**(4): p. 752-7.
158. Bonney, G.E., *On the statistical determination of major gene mechanisms in continuous human traits: regressive models*. Am J Med Genet, 1984. **18**(4): p. 731-49.
159. Elston, R.C., *Segregation and linkage analysis*. Anim Genet, 1992. **23**(1): p. 59-62.
160. Sun, X., *Segregation analysis using the unified model*. Methods Mol Biol, 2012. **850**: p. 211-35.
161. Borecki, I.B., M.A. Province, and D.C. Rao, *Power of segregation analysis for detection of major gene effects on quantitative traits*. Genet Epidemiol, 1994. **11**(5): p. 409-18.
162. Fernando, R.L., C. Stricker, and R.C. Elston, *The finite polygenic mixed model: An alternative formulation for the mixed model of inheritance*. Theor Appl Genet, 1994. **88**(5): p. 573-80.
163. Akaike, H., *A new look at the statistical model identification*. IEEE Trans Automat Control, 1974. **19**: p. 716-723.
164. Elston, R.C. and E. Sobel, *Sampling considerations in the gathering and analysis of pedigree data*. Am J Hum Genet, 1979. **31**(1): p. 62-9.
165. Steinberg, E.B., et al., *Stellate iron lines in the corneal epithelium after radial keratotomy*. Am J Ophthalmol, 1984. **98**(4): p. 416-21.
166. Shirayama-Suzuki, M., et al., *Longitudinal analysis of corneal topography in suspected keratoconus*. Br J Ophthalmol, 2009. **93**(6): p. 815-9.
167. Ishii, R., et al., *Correlation of corneal elevation with severity of keratoconus by means of anterior and posterior topographic analysis*. Cornea, 2012. **31**(3): p. 253-8.

168. Tachibana, M., et al., *Androgen-dependent hereditary mouse keratoconus: linkage to an MHC region*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2002. **43**(1): p. 51-7.
169. Incurvaia, C., et al., *Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency associated with bilateral keratoconus*. Am J Ophthalmol, 2003. **135**(4): p. 557-9.
170. De Bonis, P., et al., *Mutational screening of VSX1, SPARC, SOD1, LOX, and TIMP3 in keratoconus*. Mol Vis, 2011. **17**: p. 2482-94.
171. Nowak, D.M. and M. Gajecka, *The genetics of keratoconus*. Middle East Afr J Ophthalmol, 2011. **18**(1): p. 2-6.
172. Palmer, L.J. and L.R. Cardon, *Shaking the tree: mapping complex disease genes with linkage disequilibrium*. Lancet, 2005. **366**(9492): p. 1223-34.
173. Van Heyningen, V. and P.L. Yeyati, *Mechanisms of non-Mendelian inheritance in genetic disease*. Hum Mol Genet, 2004. **13 Spec No 2**: p. R225-33.
174. Bisceglia, L., et al., *VSX1 mutational analysis in a series of Italian patients affected by keratoconus: detection of a novel mutation*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2005. **46**(1): p. 39-45.
175. Burdon, K.P., et al., *Apparent autosomal dominant keratoconus in a large Australian pedigree accounted for by digenic inheritance of two novel loci*. Hum Genet, 2008. **124**(4): p. 379-86.
176. Bykhovskaya, Y., B. Margines, and Y.S. Rabinowitz, *Genetics in Keratoconus: where are we?* Eye Vis (Lond), 2016. **3**: p. 16.
177. Karolak, J.A. and M. Gajecka, *Genomic strategies to understand causes of keratoconus*. Mol Genet Genomics, 2017. **292**(2): p. 251-269.
178. Hughes, A.E., et al., *Mutation altering the miR-184 seed region causes familial keratoconus with cataract*. Am J Hum Genet, 2011. **89**(5): p. 628-33.
179. Czugala, M., et al., *Novel mutation and three other sequence variants segregating with phenotype at keratoconus 13q32 susceptibility locus*. Eur J Hum Genet, 2012. **20**(4): p. 389-97.
180. Gajecka, M., et al., *Localization of a gene for keratoconus to a 5.6-Mb interval on 13q32*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2009. **50**(4): p. 1531-9.
181. Nielsen, K., et al., *Identification of differentially expressed genes in keratoconus epithelium analyzed on microarrays*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2003. **44**(6): p. 2466-76.
182. Nielsen, K., et al., *Proteome profiling of corneal epithelium and identification of marker proteins for keratoconus, a pilot study*. Exp Eye Res, 2006. **82**(2): p. 201-9.
183. Li, X., et al., *A genome-wide association study identifies a potential novel gene locus for keratoconus, one of the commonest causes for corneal transplantation in developed countries*. Hum Mol Genet, 2012. **21**(2): p. 421-9.
184. Panahi, Y., et al., *An analytical enrichment-based review of structural genetic studies on keratoconus*. J Cell Biochem, 2018.
185. Valgaeren, H., C. Koppen, and G. Van Camp, *A new perspective on the genetics of keratoconus: why have we not been more successful?* Ophthalmic Genet, 2018. **39**(2): p. 158-174.
186. Swierkowska, J. and M. Gajecka, *Genetic factors influencing the reduction of central corneal thickness in disorders affecting the eye*. Ophthalmic Genet, 2017: p. 1-10.
187. Iglesias, A.I., et al., *Cross-ancestry genome-wide association analysis of corneal thickness strengthens link between complex and Mendelian eye diseases*. Nat Commun, 2018. **9**(1): p. 1864.
188. Tyynismaa, H., et al., *A locus for autosomal dominant keratoconus: linkage to 16q22.3-q23.1 in Finnish families*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2002. **43**(10): p. 3160-4.
189. Brancati, F., et al., *A locus for autosomal dominant keratoconus maps to human chromosome 3p14-q13*. J Med Genet, 2004. **41**(3): p. 188-92.
190. Hutchings, H., et al., *Identification of a new locus for isolated familial keratoconus at 2p24*. J Med Genet, 2005. **42**(1): p. 88-94.

191. Tang, Y.G., 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**(6): p. 397-405.
192. Liskova, P., et al., *Evidence for keratoconus susceptibility locus on chromosome 14: a genome-wide linkage screen using single-nucleotide polymorphism markers*. Arch Ophthalmol, 2010. **128**(9): p. 1191-5.
193. Hao, X.D., et al., *De novo mutations of TUBA3D are associated with keratoconus*. Sci Rep, 2017. **7**(1): p. 13570.
194. Nowak, D.M. and M. Gajeka, *Nonrandom Distribution of miRNAs Genes and Single Nucleotide Variants in Keratoconus Loci*. PLoS One, 2015. **10**(7): p. e0132143.
195. Lechner, J., et al., *Mutational analysis of MIR184 in sporadic keratoconus and myopia*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013. **54**(8): p. 5266-72.
196. Edrington, T.B., K. Zadnik, and J.T. Barr, *Keratoconus*. Optom Clin, 1995. **4**(3): p. 65-73.
197. Binder, P.S., *Analysis of ectasia after laser in situ keratomileusis: risk factors*. J Cataract Refract Surg, 2007. **33**(9): p. 1530-8.
198. Lackner, E.M., et al., *Design and analysis of keratoconus tissue microarrays*. Cornea, 2014. **33**(1): p. 49-55.
199. Saijyothi, A.V., et al., *Tear fluid small molecular antioxidants profiling shows lowered glutathione in keratoconus*. Exp Eye Res, 2012. **103**: p. 41-6.
200. Toprak, I., et al., *Increased systemic oxidative stress in patients with keratoconus*. Eye (Lond), 2014. **28**(3): p. 285-9.
201. Kriszt, A., et al., *Segregation analysis suggests that keratoconus is a complex non-mendelian disease*. Acta Ophthalmol, 2014.
202. Rose, G.E. and M.J. Lavin, *The Hudson-Stahli line. I: An epidemiological study*. Eye (Lond), 1987. **1** (Pt 4): p. 466-70.
203. Ferry, A.P., *A "new" iron line of the superficial cornea. Occurrence in patients with filtering blebs*. Arch Ophthalmol, 1968. **79**(2): p. 142-5.
204. Kymionis, G.D., et al., *Corneal iron ring after conductive keratoplasty*. Am J Ophthalmol, 2003. **136**(2): p. 378-9.
205. Koenig, S.B., et al., *Corneal iron lines after refractive keratoplasty*. Arch Ophthalmol, 1983. **101**(12): p. 1862-5.
206. Mannis, M.J., *Iron deposition in the corneal graft. Another corneal iron line*. Arch Ophthalmol, 1983. **101**(12): p. 1858-61.
207. Randleman, J.B., et al., *Risk assessment for ectasia after corneal refractive surgery*. Ophthalmology, 2008. **115**(1): p. 37-50.
208. Ozdamar, A., et al., *Corneal iron ring associated with iatrogenic keratectasia after myopic laser in situ keratomileusis*. J Cataract Refract Surg, 2000. **26**(11): p. 1684-6.
209. Probst, L.E., M.A. Almasswary, and J. Bell, *Pseudo-Fleischer ring after hyperopic laser in situ keratomileusis*. J Cataract Refract Surg, 1999. **25**(6): p. 868-70.
210. Ozdamar, A., et al., *Corneal iron ring after hyperopic laser-assisted in situ keratomileusis*. Cornea, 1999. **18**(2): p. 243-5.
211. Said, A., I.H. Hamade, and K.F. Tabbara, *Late onset corneal ectasia after LASIK surgery*. Saudi J Ophthalmol, 2011. **25**(3): p. 225-30.
212. Rao, S.K., et al., *Photorefractive keratectomy versus laser in situ keratomileusis to prevent keratectasia after corneal ablation*. J Cataract Refract Surg, 2004. **30**(12): p. 2623-8.
213. Randleman, J.B., W.B. Trattler, and R.D. Stulting, *Validation of the Ectasia Risk Score System for preoperative laser in situ keratomileusis screening*. Am J Ophthalmol, 2008. **145**(5): p. 813-8.
214. Winkler von Mohrenfels, C., J.P. Salgado, and R. Khoramnia, *[Keratectasia after refractive surgery]*. Klin Monbl Augenheilkd, 2011. **228**(8): p. 704-11.

215. Moshirfar, M., et al., *Rate of ectasia and incidence of irregular topography in patients with unidentified preoperative risk factors undergoing femtosecond laser-assisted LASIK*. Clin Ophthalmol, 2014. **8**: p. 35-42.
216. Cho, P., et al., *Corneal iron ring associated with orthokeratology lens wear*. Optom Vis Sci, 2002. **79**(9): p. 565-8.
217. Cheung, S.W., P. Cho, and A. Cheung, *White lesion in the corneal pigmented ring associated with orthokeratology*. Ophthalmic Physiol Opt, 2005. **25**(3): p. 264-8.
218. Gass, J.D., *The Iron Lines of the Superficial Cornea*. Arch Ophthalmol, 1964. **71**: p. 348-58.
219. Rose, G.E. and M.J. Lavin, *The Hudson-Stahli line. III: Observations on morphology, a critical review of aetiology and a unified theory for the formation of iron lines of the corneal epithelium*. Eye (Lond), 1987. **1** (Pt 4): p. 475-9.
220. Pahuja, N.K., et al., *An In Vivo Confocal Microscopic Study of Corneal Nerve Morphology in Unilateral Keratoconus*. Biomed Res Int, 2016. **2016**: p. 5067853.
221. Lambiase, A., et al., *Molecular basis for keratoconus: lack of TrkA expression and its transcriptional repression by Sp3*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005. **102**(46): p. 16795-800.
222. Fukuda, S., et al., *Comparison of three-dimensional optical coherence tomography and combining a rotating Scheimpflug camera with a Placido topography system for forme fruste keratoconus diagnosis*. Br J Ophthalmol, 2013. **97**(12): p. 1554-9.
223. Belin, M.W. and S.S. Khachikian, *An introduction to understanding elevation-based topography: how elevation data are displayed - a review*. Clin Exp Ophthalmol, 2009. **37**(1): p. 14-29.
224. Lopes, B.T., et al., *Detection of ectatic corneal diseases based on pentacam*. Z Med Phys, 2016. **26**(2): p. 136-42.
225. Mussig, L., et al., *[A comparison of device-based diagnostic methods for keratoconus]*. Klin Monbl Augenheilkd, 2014. **231**(12): p. 1215-23.
226. Luz, A., et al., *Enhanced Combined Tomography and Biomechanics Data for Distinguishing Forme Fruste Keratoconus*. J Refract Surg, 2016. **32**(7): p. 479-94.
227. Lafond, G., R. Bazin, and C. Lajoie, *Bilateral severe keratoconus after laser in situ keratomileusis in a patient with forme fruste keratoconus*. J Cataract Refract Surg, 2001. **27**(7): p. 1115-8.
228. Luz, A., et al., *Application of corneal tomography before keratorefractive procedure for laser vision correction*. J Biophotonics, 2016. **9**(5): p. 445-53.
229. Binder, P.S., et al., *Keratoconus and corneal ectasia after LASIK*. J Cataract Refract Surg, 2005. **31**(11): p. 2035-8.
230. Spadea, L., et al., *Corneal ectasia after myopic laser in situ keratomileusis: a long-term study*. Clin Ophthalmol, 2012. **6**: p. 1801-13.
231. Ambrosio, R., Jr., et al., *Corneal ectasia after LASIK despite low preoperative risk: tomographic and biomechanical findings in the unoperated, stable, fellow eye*. J Refract Surg, 2010. **26**(11): p. 906-11.
232. Moshirfar, M., et al., *Ectasia following small-incision lenticule extraction (SMILE): a review of the literature*. Clin Ophthalmol, 2017. **11**: p. 1683-1688.
233. Bohac, M., et al., *Incidence and Clinical Characteristics of Post LASIK Ectasia: A Review of over 30,000 LASIK Cases*. Semin Ophthalmol, 2018. **33**(7-8): p. 869-877.

11. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném kifejezni hálámat és köszönetemet mindazoknak, akik segítettek, közreműködtek, és velem együtt munkálkodtak annak érdekében, hogy eljuthassak idáig, és befejezhessem ezt az évek óta folyó, nagy munkát.

Témavezetőmnek, Dr. Takács Lili tanárnőnek, és Dr. Vereb György professzor úrnak különösen is hálás köszönettel tartozom a sok-sok év alatt tőlük kapott segítségért, állandó, kitartó, gondos támogatásért, bátorításért, és mindazokért, amiket tőlük tanultam, és kaptam munkám során. Támogatásuk nagyon sokat jelentett a PhD ösztöndíjas időszakom alatt, különösen annak lejárta után, mikor elkerültem a szeretett városból, ahol felnőttem és ahol tanulmányaimat végeztem. Szakmailag is rendkívül sokat kaptam tőlük és emberileg is, amiért nagyon hálás vagyok.

Köszönöm Dr. Berta András professzor úrnak, hogy bekapcsolódhattam ebbe a kutatásba, és lehetővé tette számomra, hogy intézetében dolgozhassak. Dr. Módos László professzor úrnak köszönöm, hogy munkám során használhattam a TMS-4 szaruhártya topográfót.

Hálás vagyok a Debreceni Egyetem Biofizika és Sejtbiológia Intézet volt és jelenlegi professzorainak, különösképpen Dr. Szöllősi János professzor úrnak, valamint az intézet munkatársainak, hogy PhD ösztöndíjasként befogadtak és személyzeti vonatkozású munkámban segítettek, támogattak. Több ágon folyt a kutatás, nehéz név szerint említeni mindenkit, aki segített a munkámban, de mindannyiójuknak hálásan köszönöm. Külön kiemelem Harangi Istvánné Ancsát, és Kondásné Rozikát, valamint kollégáimat, Dr. Tóth Enikőt, Dr. Losonczi Gergelyt, és Dr. Laczik Renátát, akik a betegek és családtagjaik, illetve az egészséges kontrollok vizsgálatában nyújtottak segítséget. Köszönöm Dr. Robert C. Elstonnak, és Dr. Kevin Cartiernek, hogy megismertették velem a S.A.G.E. statisztikai programcsomag működését, és mindazt az igen értékes és hasznos tanácsot, amit tőlük kaptam az adataim feldolgozásához.

Köszönet illeti azokat a kollégákat, akik vállalkoztak a személyzeti vizsgálatra egészséges kontrollokként. Köszönöm a keratoconusos betegeknek és családtagjaiknak, illetve a klinikán kezelt egészséges corneájú, kontrollokként szereplő betegeknek, hogy vállalták a közreműködést az olykor igen hosszadalmas klinikai vizsgálatunkban.

Végtelen hálával köszönöm a sok szeretetet, segítséget, türelmet, imádságot, bátorítást és támogatást, amit szeretett férjemtől, négy kicsi gyermekümtől, szüleinktől, testvéreinktől, barátainktól kaptam a sok-sok év alatt, míg eljutottam idáig. Köszönöm szépen a Jó Istennek őket és mindazt az erőt, komoly segítséget, amit Tőle kaptam. Nélkületek esélyem sem lett volna mindezt végigcsinálni!

12. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/170/2019.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Kriszt Ágnes
Neptun kód: NO8LTN
Doktori Iskola: Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Kriszt, Á.**, Losonczy, G., Berta, A., Takács, L.: Presence of Fleischer ring and prominent corneal nerves in keratoconus relatives and normal controls.
Int. J. Ophthalmol. 8 (5), 922-927, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3980/j.issn.2222-3959.2015.05.12>
IF: 0.939
2. **Kriszt, Á.**, Losonczy, G., Berta, A., Vereb, G., Takács, L.: Segregation analysis suggests that keratoconus is a complex non-mendelian disease.
Acta Ophthalmol. 92 (7), 562-568, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/aos.12389>
IF: 2.844

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 3,783

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 3,783

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2019.05.02.



13. FÜGGELEK

Az alábbi felsorolásban még a lánykori nevem szerepel: Orosz Ágnes.

13.1. Az értekezés témájában bemutatott posztterek

1.) KERATOCONUSOS CSALÁDOK SZARUHÁRTYA TOPOGRÁFIÁS, KILINIKAI ÉS EPIDEMIOLOGIAI VIZSGÁLATA

V. Magyar Sejtanalitikai Konferencia

Molekuláris medicina: Sejtanalitika – Innováció – Alkalmazás

Budapest, 2006. május 4-6.

Orosz Ágnes^{1,2}, Tóth Enikő^{1,2}, Losonczy Gergely², Vereb György¹, Berta András², Takács Lili²

DE OEC Biofizika és Sejtbiológia Intézet¹, Szemészeti Klinika²

2.) KERATOCONUS GENOMIKAI VIZSGÁLATA

V. Magyar Sejtanalitikai Konferencia

Molekuláris medicina: Sejtanalitika – Innováció - Alkalmazás

Budapest, 2006. május 4-6.

Tóth Enikő^{1,2}, Losonczy Gergely², Orosz Ágnes¹, Berta András², Takács Lili², Vereb György¹

DE OEC Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet ¹, Szemészeti Klinika ²

13.2. Más témában bemutatott posztterek

1.) PRIMER SEJTKULTÚRÁK LÉTREHOZÁSA NORMÁL ÉS 5q31-HEZ KAPCSOLT DYSTROPHIÁS HUMÁN SZARUHÁRTYÁKBÓL

IV. Magyar Sejtanalitikai Konferencia

Budapest, 2004. május 6-8.

Orosz Ágnes¹, Friedländer Elza¹, Tóth Enikő², Juhász Judit¹, Juhász Attila³, Berta András², Vereb György¹ és Takács Lili²

Debreceni Egyetem OEC Biofizika és Sejtbiológia Intézet¹, Szemklinika² és Sejtterápiás Központ³

2.) TGFBI (BIGH3) MUTATIONS IN CORNEAL DYSTROPHIES

G. LOSONCZY^{1,4}, Á. OROSZ², A. JUHÁSZ³, L. MUSZBEK⁴, G. VEREB², A. BERTA¹, L. TAKÁCS¹,

Departments of ¹Ophthalmology, ²Biophysics & Cell Biology, ³Cell Therapy Unit, ⁴Clinical Biochemistry & Molecular Pathology

University of Debrecen, Hungary

XXII. Conference of ISAC, Montpellier, 2004. május

3.) NORMÁL ÉS DISZTRÓFIÁS HUMÁN CORNEÁKBÓL SZÁRMAZÓ PRIMER SEJTKULTÚRÁK JELLEMZÉSE

Orosz Ágnes^{1,2}, Friedlander Elza¹, Tóth Enikő^{1,2}, Juhász Judit¹, Losonczy Gergely², Berta András², Vereb György¹, Takács Lili²

Debreceni Egyetem OEC Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet¹ és Szemklinika²

VI. Magyar Genetikai Kongresszus, XIII. Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok

Eger, 2005. április 10-12.

4.) CORNEA DISZTRÓFIÁK GENETIKAI ELEMZÉSE: A BIGH3 GÉN MAGYARORSZÁGI MUTÁCIÓI

Tóth Enikő^{1,3}, Losonczy Gergely^{1,2}, Orosz Ágnes³, Muszbek László³, Berta András¹, Vereb György³, Takács Lili¹

Debreceni Egyetem OEC Szemklinika¹, Klinikai Kutató Központ², Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet³

VI. Magyar Genetikai Kongresszus, XIII. Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok

Eger, 2005. április 10-12.

5.) CORNEAL TOPOGRAPHICAL ANALYSIS IN FAMILY MEMBERS OF KERATOCONUS PATIENTS

Takács L., Tóth E., Orosz Á., Módos L., Berta A.

University of Debrecen, Medical and Health Science Center, Department of Ophthalmology, Hungary

Berlin, Congress of the German Ophthalmology Society, 2005. október

6.) FACTOR XIII A COULD PLAY A ROLE IN THE VASCULARIZATION OF DISEASED HUMAN CORNEAS

Lili Takács¹, Gergely Losonczy¹, Elza Friedländer², Ágnes Orosz³, Enikő Tóth³, László Muszbek⁴, András Berta¹, György Vereb²

¹University of Debrecen Medical and Health Science Center, Ophthalmology, Debrecen, Hungary; ²University of Debrecen Medical and Health Science Center, Debrecen, Hungary; ³University of Debrecen Medical and Health Science Center, Biophysics and Cell Biology, Debrecen, Hungary; ⁴University of Debrecen Medical and Health Science Center, Clinical Research Center, Debrecen, Hungary

ISAAC XXIII International Congress, 2006. May 20-24. Quebec, Canada

13.3. A következő oldalakon az értekezésem alapjául szolgáló közlemények szerepelnek:

1.) Acta Ophthalmol. 2014 Nov;92(7):e562-8.

SEGREGATION ANALYSIS SUGGESTS THAT KERATOCONUS IS A COMPLEX NON-MENDELIAN DISEASE

2.) Int J Ophthalmol. 2015 Oct 18;8(5):922-7.

PRESENCE OF FLEISCHER RING AND PROMINENT CORNEAL NERVES IN KERATOCONUS RELATIVES AND NORMAL CONTROLS