



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Oftalmologia

Queratocone

Uma revisão sistemática

Andreia Filipa Caetano Viegas nº15211

fevereiro 2018/2019



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Oftalmologia

Queratocone

Uma revisão sistemática

Andreia Filipa Caetano Viegas nº15211

Orientada por:

Dr.ª Ana Inês Gonçalves

fevereiro 2018/2019

Resumo

O queratocone é uma ectasia bilateral da córnea que leva à diminuição da acuidade visual, com início normalmente na puberdade.

No queratocone ocorrem alterações em todas as camadas da córnea, além da típica diminuição da espessura do estroma. O *stress* oxidativo, dano no ADN mitocondrial, apoptose celular e mediadores inflamatórios são alguns dos mecanismos fisiopatológicos descritos em estudos. Nesta patologia multifatorial, a descoberta de vários genes tem vindo a assumir um papel relevante na sua compreensão. Novas técnicas cirúrgicas e não-cirúrgicas têm sido propostas como alternativa à queratoplastia penetrante, técnica que permanece eficaz nos casos avançados de queratocone. Contudo serão necessários mais estudos para analisar a eficácia, a segurança e o tipo de doente a que melhor se adequam estas novas modalidades terapêuticas.

Esta revisão procura documentar as descobertas a nível da fisiopatologia e da genética e expor os avanços mais recentes feitos a nível da terapêutica.

O Trabalho Final exprime a opinião do autor e não da FML.

Abstract

Keratoconus is a bilateral ectasia of the cornea that leads to decreased visual acuity, beginning usually at puberty.

In keratoconus changes occur in all layers of the cornea, in addition to the typical stromal thinning. Oxidative stress, mitochondrial DNA damage, cellular apoptosis and inflammatory mediators are some of the physiopathological mechanisms described in studies. In this multifactorial disease, the discovery of several genes has come to play a relevant role for its understanding. New surgical and non-surgical techniques have been proposed as alternatives to penetrating keratoplasty, a technique that remains effective in advanced cases of keratoconus. However, further studies are needed to analyze the efficacy, safety and the type of patient best suited for these new therapeutic modalities.

This review seeks to document the findings in physiopathology and genetics and to expose the most recent advances in therapy.

The Final Paper expresses the opinion of the author and not of the FML.

Palavras-Chave

- Córnea, queratocone, ectasia, queratoplastia, DALK.
- Cornea, keratoconus, ectasia, keratoplasty, DALK.

Índice

Resumo	3
Abstract	3
Lista de abreviaturas.....	6
1.Introdução.....	8
2.Epidemiologia	8
2.1.Prevalência	8
2.2. Associação com outras patologias	9
2.3. Fatores de risco.....	10
3. Fisiopatologia	10
3.1 Alterações histológicas e estruturais.....	11
3.2. Mecanismos moleculares.....	11
3.2.1 Matriz extracelular (MEC) e moléculas de adesão celular (CAM)	11
3.2.2 Colagénios e proteoglicanos	12
3.2.3 Alterações enzimáticas	12
3.2.4 Apoptose e <i>stress</i> oxidativo.....	12
3.2.5 O papel da inflamação	13
3.2.6 ADN mitocondrial	14
4. Genética.....	14
4.1 Estudo de casos familiares.....	14
4.2 Estudos com gémeos	15
4.3 Estudos genéticos	15
5. Características Clínicas	17
6. Diagnóstico e meios complementares de diagnóstico (MCDs).....	17
7. Tratamento.....	18
7.1 Lentes de contacto e óculos	19
7.2 Cross-linking de colagénio da córnea (CXL)	20
7.3 Segmentos de anel intraestromais (ICRS)	20
7.4 Transplante da córnea.....	21
7.4.1 Queratoplastia Penetrante (PK):	21
7.4.2 Queratoplastia lamelar anterior profunda (DALK):	22
7.4.3 Transplante da camada de Bowman	23

8. Prognóstico e perspectivas futuras	24
9. Conclusão	25
Agradecimentos	26
Bibliografia.....	27

Lista de abreviaturas

ADH1B - Álcool desidrogenase 1B

ADN - Ácido desoxirribonucleico

ALDH3 - Aldeído desidrogenase 3

AQP5 - Aquaporina 5

BCVA - Acuidade visual melhor corrigida

BSCVA - Acuidade visual melhor corrigida com espéculos

CAM - Moléculas de adesão celular

CD34 - Cluster of differentiation 34

COL4A3 - Collagen Type IV Alpha 3 Chain

COL4A4 - Collagen Type IV Alpha 4 Chain

CXL - Corneal cross-linking (Cross-linking da córnea)

DALK - Deep anterior lamellar keratoplasty (queratoplastia lamelar anterior profunda)

DOCK9 - Deducator of cytokinesis 9

DSG3 - Desmogleína 3

FLG - Filagrina

GWAS - Genome-wide association study (estudos de associação do genoma)

H_2O_2 - Peróxido de hidrogénio

ICRS - Intrastromal corneal ring segments (Segmentos de anel intraestromais)

IgE - Imunoglobulina E

IL-1 - Interleucina-1

IL-5 - Interleucina-5

IL-6 - Interleucina-6

IL-8 - Interleucina-8

Kmáx - Queratometria máxima

LAR - Leukocyte common antigen related protein

LASIK - Laser-Assisted in Situ Keratomileusis

LOX - Lysyl oxidase

MCDs - Meios complementares de diagnóstico

MD - Membrana de Descemet
MEC - Matriz extracelular
miRNA - Micro-RNA
MIR184 - microRNA 184
MMP-1 - Metaloproteinase-1
MMP-3 - Metaloproteinase-3
MMP-7 - Metaloproteinase-7
MMP-13 - Metaloproteinase-13
mRNA - RNA mesangeiro
mtDNA - ADN mitocondrial
NADPH - Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Hydrogen
NO - Óxido nítrico
OCT - Optical coherence tomography (Tomografia de coerência ótica)
OCT-SA - Tomografia de coerência ótica do segmento anterior
PK - Penetrating keratoplasty (queratoplastia penetrante)
RNA - Ácido ribonucleico
ROS - Espécies reativas de oxigênio
SOD - superóxido dismutase
SOD1 - Superóxido dismutase 1
TGFBI - Transforming Growth Factor Beta Induced
TIMPs - Inibidores teciduais de metaloproteinases
TIMP3 - Tissue Inhibitor Of Metalloproteinase 3
TNF- α - Tumor necrosis factor-alfa (Fator de necrose tumoral-alfa)
TNF- β - Tumor necrosis factor-beta (Fator de necrose tumoral-beta)
UV - ultravioleta
UVA - ultravioleta A
vs. - versus
ZEB1 - Zinc Finger E-Box Binding Homeobox 1

1.Introdução

O queratocone constitui uma patologia progressiva e bilateral da córnea que se caracteriza por uma diminuição da espessura central e paracentral e por uma protusão cônica da mesma. Estas alterações da estrutura da córnea conduzem a um astigmatismo miópico irregular, resultando numa diminuição da acuidade visual. É uma patologia relativamente comum, com uma prevalência de 54,5 por 100.000 e incidência de 1:2000.

Tipicamente, o desenvolvimento do queratocone tem início na puberdade e progride até à quarta década de vida, altura em que normalmente a sua progressão estabiliza. Raramente constitui uma patologia congénita, existindo também descritos casos de transmissão familiar.

A etiologia do queratocone é considerada multifatorial, existindo um conjunto de fatores genéticos e ambientais que levam ao desenvolvimento desta patologia em indivíduos suscetíveis.

Os sinais e sintomas variam de acordo com o estágio da patologia, sendo o principal sintoma a diminuição da acuidade visual. Com advento de meios completos de diagnóstico específicos, é possível detetar atempadamente as formas subclínicas, altura em que a sintomatologia é escassa e o diagnóstico difícil.

Nos últimos anos, várias opções terapêuticas têm surgido como alternativa ao uso de lentes de contacto e da queratoplastia penetrante, oferecendo tratamentos mais adequados a cada doente e melhorando significativamente a visão e a qualidade de vida dos mesmos.

Para a realização deste trabalho foram pesquisados artigos nas plataformas *PubMed* e *GoogleScholar* recorrendo às palavras-chave córnea, queratocone, ectasia, queratoplastia e DALK.

2.Epidemiologia

2.1.Prevalência

O início do queratocone ocorre tipicamente entre a adolescência e a quarta década da idade adulta, estabilizando durante a restante vida dos doentes. (1)

Os dados epidemiológicos publicados documentam uma grande variabilidade em termos de prevalência e incidência, o que pode traduzir as diferenças geográficas, as características das populações estudadas, os critérios de diagnóstico utilizados nos estudos e a crescente sensibilidade dos meios complementares de diagnóstico (MCDs).

Kennedy et al., num estudo conduzido entre 1935 e 1982, reportou uma prevalência de 54,5 por 100.000. (2) A sua incidência é altamente variável (1:3 000 a 1:80 000 novos casos/ano), sendo o valor mais citado aquele que foi baseado no estudo de Kennedy *et al.* de 1:2000. (1–3)

Alguns estudos iniciais mostravam uma maior incidência em doentes do sexo feminino (4), no entanto, estudos mais recentes têm vindo a reportar uma preponderância masculina (3,5,6), numa proporção de 2:1. (6)

Em relação aos grupos étnicos, têm sido descritas prevalências superiores nas populações asiáticas (Índia, Paquistão e Bangladesh). (5–8) Georgiou et al. demonstrou uma incidência de 25/100.000 por ano (1: 4000) em asiáticos vs. 3,3/100.000 por ano (1: 30.0000) em caucasianos, o que corresponde a uma razão de 7,5:1. (5) Os doentes asiáticos apresentam uma manifestação mais precoce (21,5 vs 26,4 anos), uma forma mais grave da patologia e necessitam de tratamento cirúrgico mais cedo em comparação com os caucasianos. (5,6) Estas diferenças na prevalência entre as diferentes populações devem-se provavelmente a uma combinação de fatores ambientais e genéticos.

2.2. Associação com outras patologias

Apesar de o queratocone se manifestar mais comumente como doença isolada esporádica, têm sido reportadas diversas associações com outras patologias quer oculares quer sistémicas.

Vários estudos demonstram haver uma relação entre o queratocone e doenças do tecido conjuntivo, como a síndrome de Marfan (9), síndrome de Ehlers-Danlos (10) e osteogénese imperfeita (11).

Em casos avançados de queratocone verificou-se uma incidência elevada de prolapso da válvula mitral (12). Desconhece-se a causa concreta desta associação, contudo uma possível explicação pode ser a presença de tipos de colagénio comuns (tipo I e V) na córnea e na válvula cardíaca. (12)

Foram demonstradas também associações com Síndrome de Down (13–15), amaurose congénita de Leber (16) e distrofias da córnea como distrofia endotelial de Fuchs (17).

Dos 143 doentes com síndrome de Down estudados por Cullen et al., 5,5% foram diagnosticados com queratocone. (13) Num estudo posterior, Shapiro et al. demonstrou uma incidência de 15% num grupo de 53 doentes com síndrome de Down. (14) Quer no caso dos doentes com síndrome de Down quer nos com amaurose congénita de Leber, o facto de estes doentes esfregarem com muita frequência os olhos parece contribuir para o desenvolvimento do queratocone, juntamente com a contribuição dos fatores genéticos. (15,16). Uma limitação a ter em conta neste tipo de estudos acerca do queratocone e das respetivas patologias associadas é o número pequeno de populações estudadas, pelo que serão precisos mais estudos para perceber se se tratam apenas de associações esporádicas ou se estas terão um via patogénica comum.

2.3. Fatores de risco

A identificação de fatores de risco pode ser fundamental para a prevenção da patologia. No caso do queratocone, embora não tenham sido identificados fatores de risco concretos, existem algumas condições que parecem estar associadas a uma maior probabilidade do indivíduo vir a desenvolver esta patologia.

Além dos fatores de risco já mencionadas anteriormente, como a etnia e determinadas patologias sistémicas e oculares, a história familiar positiva e consanguinidade são também fatores a ter em conta. (5–7)

Cerca de 6-8% dos casos diagnosticados têm história familiar positiva, o que nos aponta para a presença de transmissão familiar (2,18). Além disso, vários estudos publicados descrevem casos de queratocone em crianças filhas de pais consanguíneos (5–7,19), com estas a terem um risco quatro vezes superior de desenvolverem queratocone comparativamente a crianças filhas de pais não consanguíneos. (19)

O ato crónico de esfregar vigorosamente os olhos (*eye rubbing*), presente em patologias como amaurose congénita de Leber e síndrome de Down (14,16), foi associado pela primeira vez ao queratocone e à doença atópica ocular em 1956 por Ridley et al. (20) Outros estudos mais recentes corroboram a maior tendência para atopia neste grupo de doentes: num estudo com 100 doentes com queratocone, 32% tinham eczema (21); Rahi et al. encontrou uma incidência de 35% de atopia em doentes com queratocone comparativamente com os 2% do grupo controlo, bem como níveis plasmáticos de IgE aumentados no primeiro grupo (22).

O uso crónico de lentes de contacto rígidas também demonstrou promover o trauma mecânico da córnea, aumentando o risco de desenvolver queratocone em determinados doentes, especialmente naqueles com baixa rigidez ocular (23–26) Porém, esta associação necessita de mais estudos para melhor compreensão.

É provável que a combinação do trauma mecânico (induzido pelo esfregar dos olhos e pelo uso crónico de lentes de contacto), da atopia e de determinados fatores genéticos potencie o desenvolvimento do queratocone em indivíduos suscetíveis.

3. Fisiopatologia

A causa subjacente aos mecanismos fisiopatológicos do queratocone ainda não é conhecida. No entanto, é aceite que a etiologia do queratocone é multifatorial, tendo sido associada a um conjunto variado de fatores genéticos e ambientais. (13,16,23–27)

3.1 Alterações histológicas e estruturais

Epitélio: foram descritos depósitos de ferro no interior das células e na membrana basal do epitélio (anel de Fleischer) (9,27–29); deiscências da membrana basal (30); e fibras nervosas espessadas (31).

Camada de Bowman: ocorrem ruturas na camada de Bowman, que são invadidas por tecido colagenoso proveniente do estroma mais superficial subjacente. Perry et al., através da biomicroscopia, descreveu dois tipos de cones: uns redondos (localizados a nível central), os mais comuns, e outros ovais (localizados nos quadrantes inferior e ínfero-temporal), menos comuns e estando estes associados a um maior número de ruturas na camada de Bowman. (30)

Estroma: diminuição da espessura do estroma (30,32–35); divisão das lamelas do estroma em múltiplos feixes de fibrilas de colagénio, com perdas de lamelas anteriores (28); diminuição da densidade de queratócitos, que são substituídos por fibroblastos e tecido cicatricial (27,35,36); e estrias verticais nas camadas mais profundas do estroma (estrias de Vogt). (37)

Membrana de Descemet: raramente apresenta alterações significativas, com excepção da hidrópia aguda. (35) Pode ainda apresentar ruturas e pregas, contribuindo para o pleomorfismo e polimegatismo das células endoteliais. (30,38)

Endotélio: o endotélio normalmente não apresenta alterações. (28,35) Contudo, foram descritas alterações como pleomorfismo e alongamento celulares, com alguns estudos a mostrarem também uma densidade celular maior à periferia da córnea. (39,40)

3.2. Mecanismos moleculares

3.2.1 Matriz extracelular (MEC) e moléculas de adesão celular (CAM)

As CAM são importantes na interação célula-célula e célula-MEC. Alguns estudos reportaram alterações na expressão destas moléculas no queratocone.

Nielsen et al. estudou a desmogleína 3 codificada pelo gene DSG3, uma glicoproteína que participa na adesão das células epiteliais, concluindo no estudo que a sua expressão proteica estava aumentada no grupo com queratocone. (41) Apesar do papel desta proteína na fisiopatologia do queratocone ainda não ser claro, Nielsen et al. chega inclusive a considerar a DSG3 como possível marcador da doença. (41) Toti et al. analisou a expressão do CD34, um anticorpo monoclonal e também uma molécula de adesão celular, através de imunohistoquímica. (42) Concluíram que há uma perda da imunoreatividade do CD34 nas regiões de cicatrização da córnea, o que pode constituir um evento primário não só no queratocone mas também noutras distrofias da córnea. (42)

Outras moléculas de adesão celular implicadas no queratocone são a laminina, a fibronectina e a tenascina. Foi demonstrada em estudos uma sobreexpressão destas três moléculas nas córneas com queratocone.(43,44)

3.2.2 Colagénios e proteoglicanos

O colagénio é um conjunto de proteínas extracelulares da matriz que é responsável pelas forças de tensão do tecido. (45)

A maioria dos estudos demonstra que há uma diminuição da quantidade de colagénio do estroma no queratocone (46), com uma expressão diminuída dos colagénios tipo I, III, V e XII. (47) Em termos de distribuição dos diferentes tipos de colagénio não se encontraram diferenças significativas entre as córneas normais e com queratocone, à exceção da maior distribuição de colagénio tipo III no tecido cicatricial da camada de Bowman. (45)

Contudo, estudos ao microscópio eletrónico permitiram demonstrar que existem diferenças na organização tridimensional das fibrilas de colagénio na camada de Bowman entre córneas normais e córneas com queratocone (32,48), com divisão das lamelas do estroma em múltiplos feixes de fibrilas de colagénio. (28)

O colagénio interage com os proteoglicanos na MEC (como o queratano de sulfato e o sulfato de dermatano), e estes últimos têm uma expressão alterada no queratocone. (47,49,50) Joseph et al. confirmou um aumento da expressão da vimentina, do queratano e da decorina no estroma de doentes com queratocone. (51)

Estes estudos apontam para mecanismos moleculares aberrantes por detrás da regulação da homeostasia dos componentes da MEC no queratocone.

3.2.3 Alterações enzimáticas

Vários estudos que visaram a análise do fluido lacrimal demonstraram a existência de uma alteração da expressão proteica em doentes com queratocone (por exemplo, citocinas e enzimas), comparativamente com os grupos controlo. (47,51–54) Os níveis aumentados de enzimas proteolíticas e catabólicas (55) e/ou os níveis diminuídos de inibidores de proteases (55,56) levam à digestão e perda do estroma da córnea, como também à rutura e fragmentação da camada de Bowman. (32) A diminuição de inibidores de proteases (por exemplo, inibidor da proteinase $\alpha 1$, $\alpha 2$ -macroglobulina, inibidores teciduais de metaloproteinases (TIMPs)) mostra como o processo de degradação pode ser anómalo no queratocone. (57)

3.2.4 Apoptose e stress oxidativo

A interação epitélio-estroma tem assumido importância no desenvolvimento do queratocone. Wilson et al. demonstrou que a interleucina 1 (IL-1) pode agir como modulador desta interação estroma-epitélio, participando na proliferação, diferenciação e apoptose celulares. (58) Quer o epitélio quer o endotélio produzem IL-1 e os queratócitos expressam o recetor para esta interleucina. (58) Além de induzir a apoptose *in vitro* dos queratócitos e a sua quimiotaxia negativa, a IL-1 é também

responsável pela regulação de metaloproteinases, colagenases e fatores do complemento. (59) A perda de queratócitos por apoptose ocorre no estroma anterior (58), mas também noutras camadas da córnea como no epitélio e no endotélio. (60)

Ao longo do tempo, várias hipóteses foram sendo formuladas para procurar explicar a apoptose das células do estroma: Chiplunkar et al. menciona a fosfatase transmembranar LAR (*leukocyte common antigen related protein*), cujo RNA é expresso no queratocone e encontrado em quantidades baixas ou não detetáveis nas córneas normais, e que pode simular a apoptose (61); Brown et al. propõe que os níveis diminuídos de TIMP-1 (um inibidor da apoptose) e a atividade aumentada de gelatinase podem contribuir para o *stress* oxidativo e conseqüente apoptose. (62)

No queratocone, a capacidade de eliminação de radicais livres está alterada, com níveis diminuídos de proteínas e enzimas como oxirredutases (por ex. NADPH desidrogenase), superóxido dismutase (SOD), aldeído desidrogenase 3 (ALDH3) e álcool desidrogenase 1B (ADH1B). (51,63,64) Sem estes mecanismos de proteção, há níveis aumentados de óxido nítrico (NO) e de outras espécies reativas de oxigénio (ROS) (51,62), culminando num aumento do dano oxidativo e contribuindo para as alterações estruturais acima descritas.

3.2.5 O papel da inflamação

Apesar de ser classicamente descrita como uma patologia não inflamatória, estudos recentes têm vindo a demonstrar a contribuição da inflamação.

O trauma mecânico como o uso de lentes de contacto foi associado a um aumento de citocinas no fluido lacrimal, contribuindo para a inflamação da córnea. (26)

A IL-1 tem sido estudada como potencial gene candidato para o queratocone. (58,59,65,66) Como referido anteriormente, Wilson et al. demonstrou que o aumento da expressão do recetor de IL-1 em fibroblastos da córnea aumenta a sensibilização das células a esta citocina, conduzindo a uma perda gradual do estroma em indivíduos suscetíveis. (58) Foi previamente demonstrado noutro estudo por Fabré et al. que os fibroblastos da córnea com queratocone têm quatro vezes mais recetores para a IL-1 que as córneas normais. (65)

Vários estudos analisaram o fluido lacrimal de doentes com queratocone. (29,53,54,67) Lema et al. encontrou níveis aumentados de IL-6, TNF- α e metaloproteinase 9 (MMP-9) no fluido lacrimal de doentes com queratocone. (29)

Num estudo mais recente, Balasubramanian et al. demonstrou um aumento de atividade proteolítica e da expressão de citocinas (IL-1, IL-5, IL-6, IL-8), de MMPs (MMP-1, MMP-3, MMP-7, MMP-13) e de fatores de necrose tumoral (TNF- α e TNF- β) no fluido lacrimal de doentes com queratocone. (67)

3.2.6 ADN mitocondrial

O stress oxidativo tem um papel relevante no dano do ADN mitocondrial (mtDNA) que tem sido descrito nas córneas com queratocone. (68,69)

Atilano et al. demonstrou que no queratocone as córneas apresentavam maior dano no mtDNA comparativamente com as normais. (68)

Chwa et al. em 2008 estudou culturas de fibroblastos das córneas com queratocone, concluindo que estes possuem uma hipersensibilidade a estímulos como pH baixo e peróxido de hidrogénio (H_2O_2), sofrendo danos no mtDNA e disfunção mitocondrial. (69) O dano mitocondrial leva a uma aumento da formação ROS, que, num ciclo vicioso, leva a disfunção mitocondrial, mutações e deleções no mtDNA e apoptose. (69)

Estes estudos apoiam o facto de o stress oxidativo, incluindo o dano no mtDNA, ser um fator importante na fisiopatologia do queratocone, sendo contudo necessários mais estudos que possam confirmar estes dados e procurar eventuais mutações específicas desta patologia no mtDNA.

4. Genética

Nos últimos anos vários genes têm sido apontados como intervenientes no desenvolvimento e progressão do queratocone.

A existência de formas subclínicas (*formes frustes*) entre familiares de pacientes com queratocone demonstra a variabilidade fenotípica desta patologia, complicando a identificação dos defeitos genéticos comuns. (70)

A melhor compreensão desta patologia do ponto de vista genético permitir-nos-á a deteção do queratocone nas suas formas subclínicas, a definição de novos critérios de diagnóstico ao comparar genótipo-fenótipo e o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.

4.1 Estudo de casos familiares

Embora a maioria dos casos de queratocone seja esporádica, estão descritos casos familiares, a maioria com padrão de transmissão autossómico dominante (70–73), penetrância incompleta e expressão variável, o que leva a manifestações clínicas diferentes (por exemplo as formas subclínicas (*formes frustes*) entre familiares de pacientes com queratocone). (71–76). Em alguns casos particulares, em famílias consanguíneas, foram descritos casos de transmissão autossómica recessiva. (6,19,74)

Os familiares de primeiro grau de doentes com queratocone têm um risco mais elevado de desenvolver a doença. (2) Num estudo realizado por Wang et al., a prevalência estimada de

familiares de primeiro grau afetados foi de 3,34%, 15 a 67 mais elevada que na população geral (0,23-0,05%). (74)

Rabinowitz et al. estudou 15 indivíduos com queratocone e respectivas famílias, sendo que, dos 28 familiares, 14 apresentavam alterações topográficas da córnea compatíveis com formas fenotípicas atenuadas de queratocone. (70) Ainda neste estudo, Rabinowitz et al. propõe que as alterações da córnea nos familiares (formas subclínicas) podem ser resultado da expressão incompleta do conjunto de genes responsável por esta patologia. (70)

A construção de um genograma e a identificação dos casos familiares podem ser importantes no acompanhamento do doente e dos familiares e na identificação precoce das formas subclínicas.

4.2 Estudos com gémeos

Estudos com indivíduos gémeos abrem-nos a possibilidade de perceber melhor o peso dos fatores genéticos e da influência ambiental. Estão descritos na literatura vários casos de gémeos monozigóticos e dizigóticos com queratocone. (4,77–81)

Num estudo de 2012, Tuft et al. estudou 18 pares de gémeos (13 pares monozigóticos e 5 pares dizigóticos), recorrendo à topografia querática. (81) Neste estudo, a gravidade do queratocone foi mais concordante nos gémeos monozigóticos que nos dizigóticos e os primeiros apresentavam um início mais precoce da doença (16,4 vs. 20,3 anos). Os gémeos monozigóticos mostram uma maior concordância fenotípica, o que nos aponta para a importância da componente genética desta patologia. (74,81) Contudo, embora a concordância fenotípica entre monozigóticos seja o esperado (81), têm sido descritos na literatura casos discordantes, isto é, córneas sem alterações e córneas com queratocone em monozigóticos. (80)

Apesar destes estudos apontarem para a forte componente genética do queratocone, os casos descritos de gémeos monozigóticos discordantes levam-nos a crer que os fatores ambientais têm também um papel importante.

4.3 Estudos genéticos

Várias abordagens têm sido postas em prática para melhor compreensão das bases moleculares do queratocone, nomeadamente estudo de genes candidatos, estudos *linkage*, estudos de associação do genoma (GWAS) e estudos de expressão genética.

Através de estudos *linkage* foram identificados até agora 17 *loci*, localizações para possíveis genes implicados no desenvolvimento e progressão do queratocone, o que vem a demonstrar a heterogeneidade genética desta patologia. (73,82,83)

Numa família proveniente do norte da Irlanda com queratocone hereditário e catarata capsular anterior, usando análise *linkage*, foi identificada uma mutação no gene MIR184 (15q22-q24a). (84) O MIR184 é o micro-RNA (miRNA) mais expresso no epitélio da córnea e do cristalino, estando envolvido na regulação proteica ao nível destes tecidos. (84) Num outro estudo, de modo a perceber se a mutação no MIR184 estaria associada ao queratocone, 780 doentes foram estudados para a presença desta mutação. (85) Apenas em 2 dos 780 (0,25%) dos casos foram encontradas mutações no MIR184, sugerindo que estas não são causa comum isolada de queratocone. (85)

Numa família do Equador com queratocone, Czugala et al. identificou outro gene, o DOCK9 (*locus* 13q32), que codifica uma proteína que pertence à família das proteínas DOCK (*dedicator of cytokinesis*). Uma das mutações no gene DOCK9 (c.2262A>C; p.Gln754His) não foi observada nos indivíduos controlo, apontando para o facto de este gene poder contribuir para o fenótipo da família. (76)

Nos últimos anos, vários genes candidatos para o queratocone têm sido identificados. A título de exemplo, o gene SOD1 que codifica a isoenzima superóxido dismutase 1 (*locus* 21q22.11) tem sido alvo de interesse por parte de vários estudos, uma vez que o *stress* oxidativo parece ter um papel relevante na fisiopatologia do queratocone. (86) Além disso, o gene SOD1 tem implicação na síndrome de Down (localização comum a nível do cromossoma 21), e por sua vez, esta última é uma das patologias associadas ao queratocone. (86) Apesar de num estudo ter sido detetada uma deleção intrónica no gene SOD1 em dois *pedigrees* com queratocone (86) são necessários mais estudos para estabelecer se este gene está associado com esta patologia.

Outros potenciais genes candidatos identificados em doentes com queratocone são: TIMP3 (87); LOX (87); ZEB1 (88); TGFBI (89); FLG (90) e IL-1. (58,66)

Também os genes do colagénio foram estudados num grupo de 104 doentes com queratocone, sem no entanto terem sido encontradas mutações patológicas (91), à exceção de algumas variantes dos genes COL4A3 e COL4A4 características de doentes com queratocone. (91,92)

Finalmente, estudos de expressão genética revelaram outro gene possivelmente envolvido, o AQP5, que codifica uma porina expressa no epitélio da córnea e cuja expressão está diminuída nos doentes com queratocone. (93)

Em suma, apesar dos diferentes *loci*, genes e suas variantes já identificadas e possivelmente implicados na suscetibilidade genética do queratocone, serão necessários mais estudos para melhor compreensão da sua contribuição na etiologia do queratocone.

5. Características Clínicas

O queratocone é uma doença com início geralmente durante puberdade e com tendência a estabilizar posteriormente. (1) Embora inicialmente apenas um dos olhos possa estar afetado, nos estádios finais, a maioria dos doentes apresentará queratocone bilateral, muitas vezes com apresentação assimétrica. (3,94)

Os sintomas e os sinais clínicos são variáveis e vão depender do estágio da doença. Nos estádios iniciais, a ausência de sintomatologia e semiologia evidentes podem tornar difícil o diagnóstico.

O sintoma principal que os doentes reportam é a diminuição progressiva da acuidade visual. (9)

Em estádios intermédios e avançados, a diminuição da espessura do estroma da córnea a nível central ou paracentral (mais comumente no quadrante ínfero-temporal) trata-se de uma das características clínicas fundamentais desta patologia. Devido à diminuição da espessura do estroma desenvolve-se progressivamente um astigmatismo irregular. A protusão da córnea também pode ser observada nos casos mais avançados. (9)

Outros sinais externos sugestivos de queratocone à inspeção direta são o sinal de Munson (abaulamento da pálpebra inferior em forma de “V” quando o doente realiza infraversão) e o sinal de Rizzuti (reflexo de luz cônico no limbo nasal quando se faz incidir uma fonte luminosa lateralmente na córnea). (9)

O anel de Fleischer (depósitos epiteliais de ferro), rodeando parcial ou completamente o cone, pode estar presente. (9,27–29) Podem também ser observadas as estrias de Vogt, linhas de tensão mecânica verticais no estroma profundo/membrana de Descemet e que desaparecem transitoriamente com a compressão do globo ocular. (27,37) Outros sinais clínicos que podem estar presentes são: cicatrização/fibrose da córnea a nível epitelial e subepitelial; nervos da córnea proeminentes; reflexo em tesoura (reflexo luminoso irregular); e o reflexo em gota de óleo (sinal de Charleux). (9)

Em estádios da doença mais avançados, uma complicação é a hidrópsia aguda que pode causar dor ocular, diminuição abrupta da acuidade visual, fotofobia, olho vermelho e lacrimejo. (9) Deve-se à rutura de porções da membrana de Descemet, com passagem de humor aquoso através destes pontos de rutura e levando ao edema e à opacificação da córnea. (35)

6. Diagnóstico e meios complementares de diagnóstico (MCDs)

O diagnóstico inicial é clínico e pode ser realizado com recurso à biomicroscopia, à retinoscopia e a técnicas de retroiluminação, com posterior confirmação através da topografia, atualmente o método complementar de diagnóstico mais importante para a avaliação das diferentes camadas da córnea.

Nas últimas décadas, os métodos de imagem de rastreio e diagnóstico passaram a basear-se na topografia (Orbscan II e Pentacam) para medir a espessura da córnea e analisar as imagens topográficas quer da superfície anterior quer da posterior. (95,96)

A topografia querática permite uma reconstrução tridimensional fidedigna da córnea, fornecendo uma informação mais completa em relação à localização, forma e tamanho do cone, bem como da extensão da ectasia, em relação à análise topográfica baseada nos discos de Plácido mais usada anteriormente. (95) Esta última não permite a avaliação da porção posterior da córnea, nem fornece um estudo completo da sua espessura, pelo que formas de ectasia subclínicas não eram detetadas atempadamente.

Deste modo, a topografia permite a deteção precoce de ectasia subclínica (*formes frustres*), ganhando particular relevância antes da realização de cirurgia refrativa lamelar (ex: LASIK), já que há um risco aumentado de ectasia pós-cirurgia refrativa. (9,96)

Outras meios complementares de diagnóstico como a tomografia, nomeadamente a tomografia de coerência ótica do segmento anterior (OCT-SA), podem ser úteis para analisar com maior detalhe as camadas individuais da córnea, nomeadamente o epitélio e o estroma. (9,35,95)

Através da topografia é possível obter mapas de queratometria e paquimetria. (9,33,94,96,97) Os mapas de queratometria com um padrão típico em *bow-tie* (laço) assimétrico e sugestivos de astigmatismo irregular são típicos do queratocone. (97)

À biomicroscopia é possível observar a diminuição da espessura e a protusão da córnea, o anel de Fleischer (melhor visível com a luz azul de cobalto), as estrias de Vogt, a cicatrização da córnea e os nervos proeminentes. (9) Nos estádios iniciais, a diminuição da espessura da córnea pode não ser observável ao biomicroscópio. A retinoscopia permite-nos identificar o astigmatismo irregular e o reflexo em tesoura, e, recorrendo à retroiluminação, é possível observar o reflexo em gota de óleo de *Charleux*. (9)

A microscopia confocal também pode ser útil nesta patologia por permitir analisar as diferentes camadas da córnea.

No seguimento e monitorização da patologia, a observação clínica com o biomicroscópio e a topografia querática são fundamentais.

7. Tratamento

Os objetivos principais a alcançar com a terapêutica são a correção do astigmatismo e o atraso a progressão do queratocone.

Um dos passos terapêuticos fundamentais é promover a educação do doente e desencorajá-lo a não esfregar os olhos. Depois da avaliação inicial, procurar-se-á, então, a modalidade terapêutica mais adequada para cada doente consoante o estágio da sua doença, privilegiando inicialmente as terapêuticas mais conservadoras e partindo progressivamente para abordagens mais invasivas, se necessário.

O *follow-up* também irá também estar dependente da sintomatologia e da progressão da patologia, podendo ser de 3 a 12 meses. (9) Em caso de hidrópsia aguda, o doente deverá ser seguido em intervalos de tempo menores até resolução clínica da situação.

7.1 Lentes de contacto e óculos

Quer os óculos e quer as lentes de contacto podem ser benéficos nos estádios iniciais do queratocone. Contudo, os óculos são indicados apenas nos estádios muito iniciais para correção da ametropia em doentes sem ou com formas ligeiras de astigmatismo irregular. Quando o queratocone está estabelecido, poder-se-á recorrer a lentes de contacto como primeira linha terapêutica.

Diferentes tipos de lentes de contacto estão disponíveis no mercado: as gelatinosas, as rígidas gás-permeáveis, as híbridas (com um centro rígido e periferia gelatinosa) e as esclerais. (95) No caso do queratocone, as lentes de contacto gelatinosas, apesar de mais confortáveis para o doente, não são eficazes em corrigir o astigmatismo irregular. Deste modo, as lentes rígidas gás-permeáveis (por exemplo as RoseK®, RoseK2®, RoseK2IC®, Accukone®, CentraCone®, DynaCone®) são as mais utilizadas na prática clínica para esta patologia. (95) Estas lentes de contacto gás-permeáveis, além de permitirem a correção do astigmatismo, também diminuem e/ou adiam a necessidade de cirurgia. (98) Uma lente rígida gás-permeável deve coadaptar-se à região central do queratocone, sendo fundamental determinar anteriormente com os MCDs a localização, dimensões e a forma do cone.

Existe também a possibilidade de recorrer ao sistema de *piggyback*, em que uma lente hidrófila é colocada sob uma lente rígida, quando os doentes não toleram estas últimas. (99)

Também as lentes esclerais, com um diâmetro maior em comparação com as lentes de contacto rígidas, podem ser úteis na reabilitação visual em doentes com queratocone que não toleram estas últimas e/ou não conseguem obter resultados satisfatórios com outros tipos de lentes. (100)

As lentes de contacto híbridas (SynergEyes®) podem também ser utilizadas no queratocone, sendo bem toleradas devido à sua periferia mole. (101)

Com o advento de novos métodos de imagem, como a OCT-SA, é possível escolher que tipo de lentes é mais adequado às exigências visuais de cada doente, considerando o estágio da doença, a localização e o tamanho do cone. (30,35)

7.2 Cross-linking de colagénio da córnea (CXL)

O *cross-linking* de colagénio consiste na utilização de riboflavina (vitamina B2), um agente fotossensibilizador, com posterior aplicação de radiação ultra-violeta A (UVA). Esta interação da radiação UVA com a riboflavina promove o *cross-linking* (fortalecimento das ligações) entre moléculas de colagénio do estroma, conduzindo a uma maior estabilidade biomecânica da córnea. (9) O protocolo de Dresden é o protocolo *standard* no CXL descrito por Wollensack *et al.* em 2003, em que o epitélio da córnea central é removido. (102) Posteriormente é instilada no olho uma solução de riboflavina e aplicada radiação UVA (370 nm) durante 30 minutos. (102) Neste mesmo estudo com 22 doentes, Wollensack *et al.* demonstrou uma diminuição do Kmáx em 2,01 dioptrias em 70% dos casos no *follow-up* pós-operatório, que variou entre 3 meses e 4 anos. (102)

Wittig-Silva *et al.*, num ensaio clínico controlado e randomizado, acompanhou doentes (um total de 46 olhos tratados e 48 olhos no grupo controlo) durante 36 meses após a realização de CXL, demonstrando melhorias da acuidade visual e dos valores queratométricos (queratometria máxima-Kmáx e acuidade visual melhor corrigida-BCVA) no grupo tratado. (103)

Esta terapêutica minimamente invasiva e que tem como objetivo principal estabilizar a progressão da doença parece ser uma boa opção em doentes selecionados, especialmente se combinada com outras técnicas terapêuticas como os segmentos de anel intraestromais (ICRS), permitindo, assim, combinar estratégias que atrasem a progressão da doença (CXL) com as que melhorem a ametropia (ICRS).

7.3 Segmentos de anel intraestromais (ICRS)

Os ICRS têm vindo a ser usados como alternativa terapêutica minimamente invasiva no queratocone para doentes que não toleram óculos ou lentes de contacto, ou ainda naqueles em que se verifica uma progressão importante da ectasia. Estes anéis são implantados no estroma através de técnicas cirúrgicas manuais ou assistidas com LASER femtosegundo, com o objetivo de reduzir a curvatura central da córnea e, conseqüentemente, reduzir o erro refrativo. (95,104) Existem diferentes marcas de ICRS disponíveis (anéis de Ferrara®, Intacts® e Kerarings®), variando em diâmetro, forma, espessura e técnica de colocação. (95,104,105) A correção da ametropia é diretamente proporcional à espessura do ICRS e inversamente proporcional ao seu diâmetro, isto é, quanto mais espesso e menor o diâmetro do ICRS, maiores serão os resultados corretivos conseguidos. (106)

Esta técnica cirúrgica tem demonstrado uma melhoria da acuidade visual em alguns doentes, com resultados de achatamento da córnea que se mantiveram estáveis 10 anos após a implantação do ICRS. (104)

Estudos procuraram avaliar a possibilidade de associação da colocação de ICRS com CXL com o intuito de maximizar o efeito de achatamento da córnea, tendo demonstrado que há melhoria do

astigmatismo e estabilização da evolução da patologia. (105) Esta modalidade terapêutica também pode ser benéfica em alguns doentes, permitindo que estes voltem a tolerar o uso de lentes de contacto e levando ao adiamento ou cancelamento da queratoplastia. (9,104)

7.4 Transplante da córnea

7.4.1 Queratoplastia Penetrante (PK):

A queratoplastia penetrante é o procedimento *standard* para o queratocone realizado há várias décadas. Nesta técnica cirúrgica, todas as camadas da córnea são substituídas por um tecido de um dador homólogo. É considerada terapêutica de última linha para os casos avançados em que o endotélio e a membrana de Descemet poderão ter ruturas devido a episódios de hidrópsia aguda anteriores. (95) É uma boa opção terapêutica com melhoria da acuidade visual a longo prazo. Num estudo que realizou o follow-up de 84 doentes (112 olhos) pós-PK, Pramanik et al. concluiu que 73,2% dos doentes tinha a melhor acuidade visual corrigida com espéculos (BSCVA) igual a 20/40 ou superior na última observação, tendo-se mantido relativamente estável nos 20 anos de *follow-up*. (107) O tempo médio de *follow-up* foi de 13,8 anos, com um intervalo que variou de 0,5 a 30,4 anos. A falência do enxerto reportada foi de 6,3% (em 7 dos 112 olhos), tendo ocorrido em média aos 12,6 anos pós-PK. A taxa estimada de sobrevivência do enxerto aos 20 e 25 anos pós-PK foi de 93,7% e 85,4%, respetivamente. Ainda neste estudo, Pramanik et al. estimou que a probabilidade de recorrência aos 20 e 25 anos após o transplante inicial era de 7,1% e 11,7%, respetivamente, tendo ocorrido em média 17,9 anos pós-PK, o que corresponde a um evento tardio e realça a importância de estudos que sigam os doentes durante grandes intervalos de tempo. (107)

Como é uma técnica cirúrgica que envolve entrada no globo ocular há determinadas potenciais complicações intra e pós-operatórias (endoftealmite, descolamento retiniano, sinéquia anterior, hemorragia intraocular, rejeição endotelial, epitelial e do estroma, falência do enxerto, astigmatismo pós-PK) a ter em conta, sendo necessário ponderar o risco-benefício para cada doente. (108,109)

O LASER femtosegundo pode ser associado à PK, tendo o potencial de diminuir o astigmatismo pós-operatório, diminuir o tempo de reabilitação visual e permitir cortes mais precisos e adequados a cada doente. (95)

Deste modo, apesar das complicações associadas à PK e da maior taxa de rejeição de enxerto, com o advento do LASER femtosegundo, esta continua a ser uma boa opção terapêutica nos casos avançados e com cicatrização extensa da córnea.

7.4.2 Queratoplastia lamelar anterior profunda (DALK):

Nas últimas duas décadas, a PK tem vindo a ser substituída pela DALK, cujo procedimento preserva a MD e o endotélio do doente.

Algumas vantagens deste procedimento em relação à PK é o menor risco de rejeição endotelial e menos complicações pós-operatórias, já que não envolve um ponto de entrada no globo ocular. Contudo, em casos de cicatrização extensa da córnea a PK ainda é preferível face à DALK. (95,109) Existem várias técnicas usadas para criar uma separação entre a MD e o estroma mais profundo, entre elas a técnica da *Big Bubble* de Anwar e a dissecação manual de Melles. (95,110,111)

A técnica da *Big Bubble*, descrita por Anwar e Teichman em 2002, é uma técnica segura e eficaz, porém, caso ocorra rutura da membrana de Descemet no intra-operatório, deve optar-se por converter o procedimento em PK. (108,110)

Vários estudos procuram comparar os resultados clínicos entre a PK e a DALK. Entre eles, Watson et al. comparou um total de 47 doentes, 25 submetidos à PK e 22 submetidos à DALK, concluindo que a BCVA, os resultados refrativos e as taxas de complicações eram idênticos nos dois grupos. (109) Contudo, no grupo submetido à DALK registou-se uma reabilitação visual mais rápida e menos casos de rejeição endotelial e do estroma. (109)

Zhang et al. comparou as taxas de perda endotelial em doentes submetidos a PK (52 olhos de 51 doentes) e a DALK (75 olhos de 64 doentes), concluindo que no grupo submetido a DALK estas foram inferiores (13,9%) comparativamente com o grupo submetido a PK (34,6%). (112) Ainda neste estudo, as taxas de rejeição endotelial do enxerto ocorreram em 7,7% dos doentes submetidos a PK, numa média de 24,7 meses após cirurgia. No grupo sujeito a DALK, a rejeição endotelial não se verificou em nenhum dos doentes. (112)

Mais recentemente, Romano et al. em 2015 concluiu que os resultados visuais e refrativos e a densidade das células endoteliais se mantinham estáveis a longo prazo (10 anos após a cirurgia). (113) No *follow-up* deste grupo de doentes submetido a DALK, a densidade das células endoteliais não se alterou em relação aos valores do pré-operatório. (113)

Apesar de ter vantagens em relação à PK, há que ter em conta que a DALK é um procedimento tecnicamente mais complicado, mais demorado e que ainda carece de resultados a longo prazo. (109) Além disso, é um procedimento que não está isento de complicações pós-operatórias. Num estudo de Feizi et al. que analisou as complicações pós-DALK, 15,1% dos doentes tinha queratite filamentar, 14,3% rejeição do enxerto a nível subepitelial ou endotelial, 11,1% apresentou astigmatismo elevado e uma percentagem mais baixa manifestou neovascularização do local das suturas e da interface. (108) Além disso, é um procedimento cirúrgico cujas técnicas exigem maior experiência por parte do cirurgião e há que ter em conta a curva de aprendizagem deste último. (110)

Em suma, a DALK é uma alternativa relativamente segura e eficaz à PK nos casos de queratocone avançado em que o endotélio e a membrana de Descemet não têm alterações.

7.4.3 Transplante da camada de Bowman

O transplante isolado da camada de Bowman é uma nova técnica terapêutica proposta pela primeira vez em 2014 por van Dijk et al. (114) Neste procedimento há dissecação da porção média do estroma com posterior transplantação da camada de Bowman de um dador.

Num estudo mais recente que seguiu 19 doentes durante uma média de 21 meses, o transplante isolado da camada de Bowman reduziu e estabilizou a ectasia no queratocone avançado e progressivo. (115) Esta terapêutica, com baixo risco de complicações (em 6% dos doentes registou-se perfuração da membrana de Descemet), está recomendado em doentes intolerantes ao uso de lentes de contacto, permitindo adiar ou mesmo evitar procedimentos mais invasivos como a PK e DALK. (115) Após o procedimento, alguns dos doentes podem voltar a tolerar o uso de lentes de contacto. (95,115)

Concluindo, apesar dos dados mostrarem a eficácia deste procedimento no queratocone avançado, estudos clínicos com amostras maiores e maior tempo de follow-up serão necessários.

8. Prognóstico e perspectivas futuras

Apesar das terapêuticas existentes restabelecerem em parte a acuidade visual dos doentes, mais estudos acerca de novas modalidades terapêuticas como o transplante da camada de Bowman serão necessários para a sua posterior implementação.

A terapia genética, com a possibilidade de identificar genes alvo, é uma área com potencial, já que vários estudos provaram a importância da componente genética nesta patologia. Conhecer os genes pode ser de extrema importância para desenvolver terapêuticas-alvo adequadas a cada doente e que nos permitam prever os seus resultados.

É de destacar ainda a importância do *screening* familiar, especialmente quando há um doente com patologia e antecedentes familiares, algo que, no futuro, poderá ser realizado através de testes genéticos.

9. Conclusão

O queratocone é uma patologia relativamente comum e que leva a uma diminuição significativa da acuidade visual e, conseqüentemente, da qualidade de vida dos doentes.

Apesar do número crescente de estudos nas últimas décadas, a causa por detrás da fisiopatologia do queratocone ainda permanece por esclarecer. A compreensão dos mecanismos fisiopatológicos e das bases genéticas é crucial para conhecer a causa e para o desenvolvimento de novos tratamentos. Associadas às terapêuticas já existentes (lentes de contacto, cross-linking de colagénio, segmentos de anel intraestromais, queratoplastia penetrante e DALK), o desenvolvimento de potenciais terapêuticas inovadoras pode contribuir para o atraso da progressão da ectasia, melhorando a qualidade de vida dos doentes.

Em suma, nesta área da oftalmologia, serão necessários mais estudos para promover o desenvolvimento de novas terapêuticas e MCDs, de modo a melhorar o diagnóstico de formas subclínicas e a promover uma abordagem mais personalizada e um prognóstico mais favorável.

Agradecimentos

Antes de mais, gostaria de agradecer à Dr.^a Ana Inês Gonçalves por ter aceitado ser minha orientadora, por me ter mostrado uma área fascinante da Oftalmologia, e pela sua disponibilidade, sugestões e críticas construtivas. O meu muito obrigada.

Ao Dr. Walter Rodrigues, como coorientador e chefe de departamento da área da córnea, pela sugestão de tema e por ter aceitado que eu escrevesse a minha tese nesta área da Oftalmologia.

E finalmente, queria agradecer aos meus pais, irmão pela imensurável paciência ao ouvir os meus desabafos e aos meus amigos e companheiro pelo seu apoio e motivação fundamentais para ultrapassar as provações que foram surgindo durante a escrita deste trabalho.

Bibliografia

1. Godefrooij DA, de Wit GA, Uiterwaal CS, Imhof SM, Wisse RPL. Age-specific Incidence and Prevalence of Keratoconus: A Nationwide Registration Study. *Am J Ophthalmol.* 2017;175:169–72.
2. Kennedy RH, Bourne WM, Dyer JA. A 48-year clinical and epidemiologic study of keratoconus. *Am J Ophthalmol.* 1986;101(3):267–73.
3. Li X, Rabinowitz YS, Rasheed K, Yang H. Longitudinal study of the normal eyes in unilateral keratoconus patients. *Ophthalmology.* 2004;111(3):440–6.
4. Hammerstein W. Konkordanter Keratokonus bei einengen Zwillingen. *Ophthalmologica.* 1972;165:449–52.
5. Georgiou T, Funnell CL, Cassels-Brown A, O’Conor R. Influence of ethnic origin on the incidence of keratoconus and associated atopic disease in Asians and white patients. *Eye.* 2004;18(4):379–83.
6. Pearson AR, Soneji B, Sarvananthan N, Sanford-Smith JH. Does ethnic origin influence the incidence or severity of keratoconus? *Eye.* 2000;14(4):625–8.
7. Cozma I, Atherley C, James N. Influence of ethnic origin on the incidence of keratoconus and associated atopic disease in Asian and white patients. *Eye.* 2005;19(8):923–4.
8. Jonas JB, Nangia V, Matin A, Kulkarni M, Bhojwani K. Prevalence and Associations of Keratoconus in Rural Maharashtra in Central India: The Central India Eye and Medical Study. *Am J Ophthalmol.* 2009;148(5):760–5.
9. Bagheri N, Wadja B, Calvo C, Durrani A. *The Wills Eye Manual: Office and Emergency Room Diagnosis and Treatment of Eye Disease.* 7th ed. Bagheri N, Wadja BN, Calvo C, Durrani A, editors. Philadelphia, United States: Lippincott Williams and Wilkins; 2017. 464 p.
10. Kuming B, Joffe L. Ehlers-Danlos Syndrome Associated with Keratoconus. *S Afr Med J.* 1977;52(10):403–5.
11. Beckh U, Schönherr U, Naumann G. Autosomal dominanter Keratokonus als okuläres Leitsymptom bei Osteogenesis imperfecta tarda Lobstein. *Klin Monbl Augenheilkd.* 1995;206(04):268–72.
12. Sharif K, Casey T, Colart J. Prevalence of mitral valve prolapse in keratoconus patients. *J R Soc Med.* 1992;85(8):446–8.
13. Cullen J, Butler H. Mongolism (Down’s Syndrome) and Keratoconus. *Br J Ophthalmol.* 1963;47:321–30.
14. Shapiro MB, France TD. The ocular features of Down’s syndrome. *Am J Ophthalmol.* 1985;99(6):659–63.
15. Alio JL, Vega-Estrada A, Sanz P, Osman AA, Kamal AM, Mamoon A, et al. Corneal morphologic characteristics in patients with down syndrome. *JAMA Ophthalmol.* 2018;136(9):971–8.

16. Elder MJ. Leber congenital amaurosis and its association with keratoconus and keratoglobus. *JPediatrOphthalmolStrabismus*. 1994;31(1):38–40.
17. Lipman RM, Rubenstein JB, Torczynski E. Keratoconus and Fuchs' Corneal Endothelial Dystrophy in a Patient and her Family. *Arch Ophthalmol*. 1990;108(7):993–4.
18. Wollensak G, Green WR, Temprano J. Keratoconus associated with corneal granular dystrophy in a patient of Italian origin. *Cornea*. 2002;21(1):121–2.
19. Gordon-Shaag A, Millodot M, Essa M, Garth J, Ghara M, Shneor E. Is consanguinity a risk factor for keratoconus? *Optom Vis Sci*. 2013;90(5):448–54.
20. Ridley F. Contact lenses in treatment of keratoconus. *Br J Ophthalmol*. 1956;40(5):295–304.
21. P.W. C. Eczema and keratoconus. *Br Med J*. 1965;2(5468):977–9.
22. Amjad R, Davies P, Montague R, Lobascher D, Menon J. Keratoconus and coexisting atopic disease. *Br J Ophthalmol*. 1977;61(12):761–4.
23. Hartstein J. Keratoconus That Developed in Patients Wearing Corneal Contact Lenses: Report of Four Cases. *Arch Ophthalmol*. 1968;80(3):345–6.
24. Gasset AR, Houde WL, Garcia-Bengochea M. Hard contact lens wear as an environmental risk in keratoconus. *Am J Ophthalmol*. 1978;85(3):339–41.
25. Macsai MS, Varley GA, Krachmer JH. Development of Keratoconus After Contact Lens Wear: Patient Characteristics. *Arch Ophthalmol*. 1990;108(4):534–8.
26. Lema I, Durán JA, Ruiz C, Díez-Feijoo E, Acera A, Merayo J. Inflammatory response to contact lenses in patients with keratoconus compared with myopic subjects. *Cornea*. 2008;27(7):758–63.
27. Zadnik K, Barr J, Edrington T, Everett D, Jameson M, McMahon T, et al. Baseline findings in the collaborative longitudinal evaluation of keratoconus (CLEK) study. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 1998;39(13):2537–46.
28. Mathew JH, Goosey JD, Söderberg PG, Bergmanson JPG. Lamellar changes in the keratoconic cornea. *Acta Ophthalmol*. 2015;93(8):767–73.
29. Lema I, Durán JA. Inflammatory molecules in the tears of patients with keratoconus. *Ophthalmology*. 2005;112(4):654–9.
30. Perry HD, Buxton JN, Fine BS. Round and Oval Cones in Keratoconus. *Ophthalmology*. 1980;87(9):905–9.
31. Burdon KP, Coster DJ, Charlesworth JC, Mills RA, Laurie KJ, Giunta C, 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):379–86.
32. Sawaguchi S, Fukuchi T, Abe H, Kaiya T, Sugar J, Yue BYJT. Three-Dimensional Scanning Electron Microscopic Study of Keratoconus Corneas. *ArchOphthalmol*. 1998;116(1):62–8.
33. Hayes S, Boote C, Tuft SJ, Quantock AJ, Meek KM. A study of corneal thickness, shape and collagen organisation in keratoconus using videokeratography and X-ray scattering techniques. *Exp Eye Res*. 2007;84(3):423–34.

34. Zhou L, Sawaguchi S, Twining SS, Sugar J, Feder RS, Yue BYJT. Expression of degradative enzymes and protease inhibitors in corneas with keratoconus. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 1998;39(7):1117–24.
35. Sandali O, El Sanharawi M, Temstet C, Hamiche T, Galan A, Ghouali W, et al. Fourier-domain optical coherence tomography imaging in keratoconus: A corneal structural classification. *Ophthalmology*. 2013;120(12):2403–12.
36. Mathew JH, Goosey JD, Bergmanson JPG. Quantified histopathology of the keratoconic cornea. *Optom Vis Sci*. 2011;88(8):988–97.
37. Grieve K, Ghoubay D, Georgeon C, Latour G, Nahas A, Plamann K, et al. Stromal striae: A new insight into corneal physiology and mechanics. *Sci Rep*. 2017;7(1):1–11.
38. Uçakhan ÖÖ, Kanpolat A, Yılmaz N, Özkan M. In vivo confocal microscopy findings in keratoconus. *Eye Contact Lens*. 2006;32(4):183–91.
39. Schimmelpfennig B. Direct and indirect determination of nonuniform cell density distribution in human corneal endothelium. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 1984;25(2):223–9.
40. Amann J, Holley GP, Lee SB, Edelhauser HF. Increased endothelial cell density in the paracentral and peripheral regions of the human cornea. *Am J Ophthalmol*. 2003;135(5):584–90.
41. Nielsen K, Heegaard S, Vorum H, Birkenkamp-Demtröder K, Ehlers N, Orntoft TF. Altered expression of CLC, DSG3, EMP3, S100A2, and SLPI in corneal epithelium from keratoconus patients. *Cornea*. 2005;24(6):661–8.
42. Toti P, Tosi GM, Traversi C, Schürfeld K, Cardone C, Caporossi A. CD-34 stromal expression pattern in normal and altered human corneas. *Ophthalmology*. 2002;109(6):1167–71.
43. Tuori A. The expression of tenascin and fibronectin in keratoconus, scarred and normal human cornea. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1997;235(4):222–9.
44. Kenney MC, Nesburn AB, Burgeson RE, Butkowski RJ, Ljubimov a V. Abnormalities of the extracellular matrix in keratoconus corneas. *Cornea*. 1997;16(3):345–51.
45. Zimmermann DR, Fischer RW, Winterhalter KH, Witmer R, Vaughan L. Comparative studies of collagens in normal and keratoconus corneas. *Exp Eye Res*. 1988;46(3):431–42.
46. Critchfield JW, Calandrat AJ, Boulevard B, Angeles L. Keratoconus: I. Biochemical Studies. *Exp Eye Res*. 1988;46(6):953–63.
47. Chaerkady R, Shao H, Scott SG, Pandey A, Jun AS, Chakravarti S. The keratoconus corneal proteome: Loss of epithelial integrity and stromal degeneration. *J Proteomics*. 2013;87:122–31.
48. Teng CC. Electron microscope study of the pathology of keratoconus: Part I. *Am J Ophthalmol*. 1963;55(1):18–47.
49. Cheng EL, Maruyama I, SundarRaj N, Sugar J, Feder RS, Yue BY. Expression of type XII collagen and hemidesmosome-associated proteins in keratoconus corneas. *Curr Eye Res*. 2001;22(5):333–40.

50. Wentz-Hunter K, Cheng EL, Ueda J, Sugar J, Yue BY. Keratocan expression is increased in the stroma of keratoconus corneas. *Mol Med*. 2001;7(7):470–7.
51. Joseph R, Srivastava OP, Pfister RR. Differential epithelial and stromal protein profiles in keratoconus and normal human corneas. *Exp Eye Res*. 2011;92(4):282–98.
52. Zhou L, Zhao SZ, Koh SK, Chen L, Vaz C, Tanavde V, et al. In-depth analysis of the human tear proteome. *J Proteomics*. 2012;75(13):3877–85.
53. Lema I, Sobrino T, Durán JA, Brea D, Díez-Feijoo E. Subclinical keratoconus and inflammatory molecules from tears. *Br J Ophthalmol*. 2009;93(6):820–4.
54. Jun AS, Cope L, Speck C, Feng X, Lee S, Meng H, et al. Subnormal cytokine profile in the tear fluid of keratoconus patients. *PLoS One*. 2011;6(1):1–8.
55. Sawaguchi S, Yue BYJT, Sugar J, Gilboy JE. Lysosomal Enzyme Abnormalities in Keratoconus. *Arch Ophthalmol*. 1989;107(10):1507–10.
56. Fukuchi T, Yue BYJT, Sugar J, Lam S. Lysosomal enzyme activities in conjunctival tissues of patients with keratoconus. *Arch Ophthalmol*. 1994;112(10):1363–74.
57. Sawaguchi S, Twining SS, Yue BYJT, Chang SHL, Zhou X, Loushin G, et al. alpha2-Macroglobulin levels in normal human and keratoconus corneas. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 1994;35(12):4008–14.
58. Wilson SE, He YG, Weng J, Li Q, McDowall AW, Vital M, et al. Epithelial injury induces keratocyte apoptosis: Hypothesized role for the interleukin-1 system in the modulation of corneal tissue organization and wound healing. *Exp Eye Res*. 1996;62(4):325–37.
59. Girard MT, Matsubara M, Fini ME. Transforming growth factor-beta and interleukin-1 modulate metalloproteinase expression by corneal stromal cells. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 1991;32(9):2441–54.
60. Kaldawy RM, Wagner J, Ching S, Seigel GM. Evidence of apoptotic cell death in keratoconus. *Cornea*. 2002;21(2):206–9.
61. Chiplunkar S, Chamblis K, Chwa M, Rosenberg S, Kenney MC, Brown DJ. Enhanced expression of a transmembrane phosphotyrosine phosphatase (LAR) in keratoconus cultures and corneas. *Exp Eye Res*. 1999;68(3):283–93.
62. Brown DJ, Lin B, Chwa M, Atilano SR, Kim DW, Kenney MC. Elements of the nitric oxide pathway can degrade TIMP-1 and increase gelatinase activity. *Mol Vis*. 2004;10:281–8.
63. Behndig A, Karlsson K, Johansson BO, Brännström T, Marklund SL. Superoxide dismutase isoenzymes in the normal and diseased human cornea. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2001;42(10):2293–6.
64. Mootha V V, Kanoff JM, Shankardas J, Dimitrijevic S. Marked reduction of alcohol dehydrogenase in keratoconus corneal fibroblasts. *Mol Vis*. 2009;15(October 2008):706–12.
65. Fabre E, Bureau J, Pouliquen Y, Lorans G. Binding sites for human interleukin-1 α , γ -interferon and tumor necrosis factor on cultured fibroblasts of normal cornea and keratoconus. *Curr Eye Res*. 1991;10(7):585–92.

66. Mikami T, Meguro A, Teshigawara T, Takeuchi M, Uemoto R, Kawagoe T, et al. Interleukin 1 beta promoter polymorphism is associated with keratoconus in a Japanese population. *Mol Vis*. 2013;19(April):845–51.
67. Balasubramanian SA, Mohan S, Pye DC, Willcox MDP. Proteases, proteolysis and inflammatory molecules in the tears of people with keratoconus. *Acta Ophthalmol*. 2012;90(4):303–9.
68. Atilano SR, Coskun P, Chwa M, Jordan N, Reddy V, Le K, et al. Accumulation of mitochondrial DNA damage in keratoconus corneas. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46(4):1256–63.
69. Chwa M, Atilano SR, Hertzog D, Zheng H, Langberg J, Kim DW, et al. Hypersensitive response to oxidative stress in keratoconus corneal fibroblasts. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49(10):4361–9.
70. Rabinowitz YS, Garbus J, McDonnell PJ. Computer-assisted corneal topography in family members of patients with keratoconus. *ArchOphthalmol*. 1990;108(0003–9950 (Print)):365–71.
71. Hughes AE, Dash DP, Jackson AJ, Frazer DG, Silvestri G. Familial Keratoconus with Cataract: Linkage to the Long Arm of Chromosome 15 and Exclusion of Candidate Genes. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44(12):5063–6.
72. Tyynismaa H, Sistonen P, Tuupanen S, Tervo T, Dammert A, Latvala T, et al. A locus for autosomal dominant keratoconus: Linkage to 16q22.3-q23.1 in Finnish families. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43(10):3160–4.
73. Bisceglia L, De Bonis P, Pizzicoli C, Fischetti L, Laborante A, Di Perna M, et al. Linkage analysis in keratoconus: Replication of locus 5q21.2 and identification of other suggestive loci. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50(3):1081–6.
74. Wang Y, Rabinowitz YS, Rotter JI, Yang H. Genetic epidemiological study of keratoconus: Evidence for major gene determination. *Am J Med Genet*. 2000;93(5):403–9.
75. Gajicka M, Radhakrishna U, Winters D, Nath SK, Rydzanicz M, Ratnamala U, et al. Localization of a gene for keratoconus to a 5.6-Mb interval on 13q32. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50(4):1531–9.
76. Czugala M, Karolak JA, Nowak DM, Polakowski P, Pitarque J, Molinari A, et al. Novel mutation and three other sequence variants segregating with phenotype at keratoconus 13q32 susceptibility locus. *Eur J Hum Genet*. 2012;20(4):389–97.
77. Weed KH, MacEwen CJ, McGhee CNJ. The variable expression of keratoconus within monozygotic twins: Dundee University Scottish Keratoconus Study (DUSKS). *Contact Lens Anterior Eye*. 2006;29(3):123–6.
78. Bechara SJ, Waring GO, Insler MS. Keratoconus in two pairs of identical twins. Vol. 15, *Cornea*. 1996. p. 90–3.
79. Zadnik K, Mannis MJ, Johnson CA. An Analysis of Contrast Sensitivity in Identical Twins with Keratoconus. *Cornea*. 1984;3(2):99–103.
80. McMahon T, Shin J, Newlin A, Edrington T, Sugar J, K Z. Discordance for keratoconus in

two pairs of monozygotic twins. *Cornea*. 1999;18(4):444–51.

81. Tuft SJ, Hassan H, George S, Frazer DG, Willoughby CE, Liskova P. Keratoconus in 18 pairs of twins. *Acta Ophthalmol*. 2012;90(6):482–6.
82. Tang YG, Rabinowitz YS, Taylor KD, Li X, Hu M, Picornell Y, et al. Genomewide linkage scan in a multigeneration Caucasian pedigree identifies a novel locus for keratoconus on chromosome 5q14.3-q21.1. *Genet Med*. 2005;7(6):397–405.
83. Li X, Rabinowitz YS, Tang YG, Picornell Y, Taylor KD, Hu M, et al. Two-stage genome-wide linkage scan in keratoconus sib pair families. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47(9):3791–5.
84. Hughes AE, Bradley DT, Campbell M, Lechner J, Dash DP, Simpson DA, et al. Mutation altering the miR-184 seed region causes familial keratoconus with cataract. *Am J Hum Genet*. 2011;89(5):628–33.
85. Lechner J, Bae HA, Guduric-Fuchs J, Rice A, Govindarajan G, Siddiqui S, et al. Mutational analysis of MIR184 in sporadic keratoconus and myopia. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(8):5266–72.
86. Udar N, Atilano SR, Brown DJ, Holguin B, Small K, Nesburn AB, et al. SOD1: A candidate gene for keratoconus. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47(8):3345–51.
87. Laborante A, Pizzicoli C, Stallone R, Barbano R, Longo C, Mazzilli E, et al. Mutational screening of VSX1, SPARC, SOD1, LOX, and TIMP3 in keratoconus. *Mol Vision*. 2011;1(July):2482–94.
88. Lechner J, Dash DP, Muszynska D, Hosseini M, Segev F, George S, et al. Mutational spectrum of the ZEB1 gene in corneal dystrophies supports a genotype-phenotype correlation. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(5):3215–23.
89. Guan T, Liu C, Ma Z, Ding S. The point mutation and polymorphism in keratoconus candidate gene TGFBI in Chinese population. *Gene*. 2012;503(1):137–9.
90. Droitcourt C, Touboul D, Ged C, Ezzedine K, Cario-André M, De Verneuil H, et al. A prospective study of filaggrin null mutations in keratoconus patients with or without atopic disorders. *Dermatology*. 2011;222(4):336–41.
91. Stabuc-Silih M, Ravnik-Glavac M, Glavac D, Hawlina M, Strazisar M. Polymorphisms in COL4A3 and COL4A4 genes associated with keratoconus. *Mol Vis*. 2009;15(December):2848–60.
92. Karolak J a, Kulinska K, Nowak DM, Pitarque J a, Molinari A, Rydzanicz M, et al. Sequence variants in COL4A1 and COL4A2 genes in Ecuadorian families with keratoconus. *Mol Vis*. 2011;17(March):827–43.
93. Rabinowitz YS, Dong L, Wistow G. Gene expression profile studies of human keratoconus cornea for NEIBank: A novel cornea-expressed gene and the absence of transcripts for aquaporin 5. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46(4):1239–46.
94. Rabinowitz YS, Nesburn AB, McDonnell PJ. Videokeratography of the Fellow Eye in Unilateral Keratoconus. *Ophthalmology*. 1993;100(2):181–6.

95. Alió JL. *Keratoconus: Recent Advances in Diagnosis and Treatment*. 1st ed. Alió JL, editor. Cham, Switzerland: Springer International Publishing AG; 2017. 371 p.
96. Ambrósio R, Alonso RS, Luz A, Coca Velarde LG. Corneal-thickness spatial profile and corneal-volume distribution: Tomographic indices to detect keratoconus. *J Cataract Refract Surg*. 2006;32(11):1851–9.
97. Rabinowitz YS, Brickman Y, Akkina J, Riley C, Jerome I, Elashoff J. Videokeratography database of normal human corneas. *Br J Ophthalmol*. 1996;80(7):610–6.
98. Bilgin LK, Yilmaz Ş, Araz B, Yüksel SB, Sezen T. 30 years of contact lens prescribing for keratoconic patients in Turkey. *Contact Lens Anterior Eye*. 2009;32(1):16–21.
99. Porcar E, Montalt JC, España-Gregori E, Peris-Martínez C. Corneo-scleral contact lens in a piggyback system for keratoconus: A case report. *Contact Lens Anterior Eye*. 2017;40(3):190–4.
100. Pullum KW, Buckley RJ. A Study of 530 Patients Referred for Rigid Gas Permeable Scleral Contact Lens Assessment. *Cornea*. 1997;16(6):612–22.
101. Abdalla Y, Elsahn A, Hammersmith K, Cohen E. Synergeyes lenses for keratoconus. *Cornea*. 2010;29(1):5–8.
102. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-A-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol*. 2003;135(5):620–7.
103. Wittig-Silva C, Chan E, Islam FMA, Wu T, Whiting M, Snibson GR. A randomized, controlled trial of corneal collagen cross-linking in progressive keratoconus: Three-year results. *Ophthalmology*. 2014;121(4):812–21.
104. Torquetti L, Ferrara G, Almeida F, Cunha L, Araujo LPN, Machado AP, et al. Intrastromal Corneal Ring Segments Implantation in Patients With Keratoconus: 10-Year Follow-Up. *J Refract Surg*. 2014;30(1):22–6.
105. Chan CCK, Sharma M, Wachler BSB. Effect of inferior-segment Intacs with and without C3-R on keratoconus. *J Cataract Refract Surg*. 2007;33(1):75–80.
106. Torquetti L, Berbel RF, Ferrara P. Long-term follow-up of intrastromal corneal ring segments in keratoconus. *J Cataract Refract Surg*. 2009;35(10):1768–73.
107. Pramanik S, Musch DC, Sutphin JE, Farjo AA. Extended Long-term Outcomes of Penetrating Keratoplasty for Keratoconus. *Ophthalmology*. 2006;113(9):1633–8.
108. Feizi S, Javadi MA, Jamali H, Mirbabaee F. Deep Anterior Lamellar Keratoplasty in Patients with Keratoconus: Big-Bubble Technique. *Cornea*. 2010;29(2):177–82.
109. Watson SL, Ramsay A, Dart JKG, Bunce C, Craig E. Comparison of deep lamellar keratoplasty and penetrating keratoplasty in patients with keratoconus. *Ophthalmology*. 2004;111(9):1676–82.
110. Anwar M, Teichmann KD. Big-bubble technique to bare Descemet's membrane in anterior lamellar keratoplasty. *J Cataract Refract Surg*. 2002;28(3):398–403.
111. Binder PS, Lander F, Rietveld FJ, Remeijer L, Houdijn Beekhuis W, J Melles GR. A new

- surgical technique for deep stromal, anterior lamellar keratoplasty. *Br J Ophthalmol.* 1999;83(3):327–33.
112. Zhang Y, Wu S, Yao Y. Long-term comparison of full-bed deep anterior lamellar keratoplasty and penetrating keratoplasty in treating keratoconus. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2013;14(5):438–50.
 113. Romano V, Iovieno A, Parente G, Soldani AM, Fontana L. Long-term clinical outcomes of deep anterior lamellar keratoplasty in patients with keratoconus. *Am J Ophthalmol.* 2015;159(3):505–11.
 114. Van Dijk K, Parker J, Tong CM, Ham L, Lie JT, Groeneveld-Van Beek EA, 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):495–501.
 115. Van Dijk K, Liarakos VS, Parker J, Ham L, Lie JT, Groeneveld-Van Beek EA, et al. Bowman layer transplantation to reduce and stabilize progressive, advanced keratoconus. *Ophthalmology.* 2015;122(5):909–17.