

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI CATANIA
FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA
DIPARTIMENTO DI SPECIALITA' MEDICO-CHIRURGICHE
SEZIONE DI OFTALMOLOGIA
DOTTORATO DI RICERCA IN IPOVISIONE E RIABILITAZIONE VISIVA XXIV CICLO
Direttore: Prof. A. Reibaldi

Dott. Lorenzo Motta

**CONFRONTO DEI RISULTATI
VISIVI E TOPOGRAFICI
IN PAZIENTI CON CHERATOCONO SOTTOPOSTI
A CROSS-LINKING CORNEALE:
TECNICA TRADIZIONALE Vs TRANSEPITELIALE**

TESI DI DOTTORATO

Tutor:
Prof. M. Reibaldi

Coordinatore:
Chiar.mo Prof. A. Reibaldi

ANNO ACCADEMICO 2010/2011

Introduzione

Il Cheratocono è una malattia ectasica, degenerativa, non infiammatoria della cornea, caratterizzata da un progressivo assottigliamento dello stroma centrale e paracentrale e da uno sfiancamento conico del profilo corneale che inducono l'insorgenza di un astigmatismo miopico irregolare. Ha un esordio puberale (tra i 12 e i 15 anni) e generalmente bilaterale ed asimmetrico. Si tratta di una malattia progressiva ad andamento capriccioso e generalmente sporadica la cui componente genetica appare evidente solamente nel 10% dei casi, come carattere dominante, ma una trasmissione recessiva va ricercata con maggiore insistenza e con studi di maggiore ampiezza per poter quantificare il reale impatto genetico. Nel 20 % dei casi i pazienti affetti da cheratocono possono andare incontro alla necessità di eseguire un intervento chirurgico per compromissione della trasparenza e regolarità del diottrio corneale¹. Il processo evolutivo tende a concentrarsi fra l'età puberale ed i 25-30 anni per esaurirsi in modo pressoché totale dopo i 35-40 anni anche per l'insorgenza di un fisiologico processo di Cross-linkaggio indotto dalla fisiologica alterazione del metabolismo glucidico (reazione di Maillard). L'incidenza del cheratocono riportata in letteratura è di 1/2000 casi nella popolazione generale¹ tuttavia, secondo statistiche più recenti, tali valori appaiono significativamente sottostimati e alla luce della diffusione delle indagini Topo-Tomografiche e Pachimetriche incidenze sulla popolazione generale di 1/600-1/320 risultano più aderenti alle attuali capacità diagnostiche. Il Cheratocono rappresenta la maggiore causa di Trapianto di Cornea in Italia ed in Europa e la seconda negli USA dopo la cheratopatia bollosa².

La diagnosi, un tempo era basata eminentemente sulla clinica (Oftalmometria di Javal e biomicroscopia, sempre di fondamentale importanza) ma si avvale oggi di strumenti più sofisticati che ci consentono una maggiore precisione e precocità diagnostica anche nel monitoraggio della evoluzione e del comportamento biologico della malattia, quali: Topografia o mappa corneale, Pachimetria ad ultrasuoni od ottica, Topo-Aberrometria, Microscopia confocale. Posta la diagnosi, si procede con la stadiazione che secondo Krumeich e coll. prevede 4 stadi e si basa sulla entità dell'astigmatismo, sul potere diottrico o curvatura corneale, sulla trasparenza e sulla pachimetria corneale. A tal proposito occorre sottolineare la difficoltà, valida per tutti i sistemi classificativi proposti, di "stadiare" la malattia la quale può presentare caratteristiche parametriche differenziali tali da porre in diversi stadi lo stesso cheratocono del medesimo paziente a

seconda del parametro considerato. In questo l'esperienza dell'Oculista è fondamentale per prendere le giuste decisioni terapeutiche. Per i suddetti motivi, gli stadi di Krumeich, illustrati nella tabella I, hanno solo un valore didattico ed esistono innumerevoli varianti e stadi cosiddetti "discrepanti".

STADI DI KRUMEICH
I) Miopia e\o astigmatismo < 5 D; K reading < 48 D; pachimetria > 500 micron
II) Miopia e\o astigmatismo > 5D ma <8D; K reading < 53D; pachimetria > 400 micron
III) Miopia e\o astigmatismo > 8D ma <10D; K reading > 53D; pachimetria 200-400 micron.
IV) Refrazione non misurabile; K reading > 55D; cicatrici corneali; pachimetria < 200 micron

TABELLA I

Si distinguono in generale dunque 2 classi di cheratocono:

- Cheratocono in fase refrattiva in cui è presente un astigmatismo sufficientemente regolare, anche associato a miopia, che può essere corretto con occhiali; se l'astigmatismo diventa più irregolare o l'ametropia aumenta si deve ricorrere all'uso di lenti a contatto per raggiungere un visus ottimale.

- Cheratocono in fase chirurgica per il quale occhiali o lenti a contatto non sono più sufficienti a correggere il deficit visivo o non sono ben tollerati ed è quindi necessario ricorrere all'intervento di cheratoplastica lamellare o perforante a seconda dei casi e dei parametri clinico-diagnostici.

In relazione allo stato evolutivo della malattia, sono presenti alterazioni patologiche di tutti gli strati della cornea; le più precoci sono rappresentate da depositi nella membrana

di Bowman e nello stroma superficiale, che precedono la formazione di discontinuità rimpiazzate poi da cheratociti stromali produttori di collagene. Altre alterazioni riguardano l'epitelio, il cui spessore è ridotto e la membrana basale che risulta ispessita con accumuli di ferritina, i quali producono il quadro biomicroscopico denominato "anello di Fleisher" visibile alla base del cono. Solo nelle fasi tardive sono coinvolti gli strati corneali più profondi (stroma posteriore e membrana di Descemet) in cui si possono verificare fenomeni di diastasi (separazione, scivolamento) fibrillare sotto forma di strie verticali biancastre denominate "strie di Vogt". In alcuni casi possono comparire fenomeni di tipo cicatriziale a partire dallo stroma superficiale sub-epiteliale fino allo stroma profondo pre-descemetico con aspetti compresi tra piccole irregolarità e veri e propri leucomi (opacità) corneali centrali e paracentrali con alterazioni della trasparenza corneale che si aggiungono alle irregolarità di curvatura nel determinismo del deficit visivo secondario. Si parla infine di "idropo corneale" o "cheratocono acuto" quando, per l'appunto acutamente, la membrana di Descemet si fessura provocando il rapido insorgere di edema stromale associato a dolore oculare intenso e fotofobia con opacizzazione corneale diffusa. Tale evenienza clinico-patologica fortunatamente è rara, è appannaggio degli stadi di malattia più avanzati ed è spesso correlata a fattori estrinseci concomitanti (eye rubbing: stropicciamento) anche se è possibile come evento primario. La architettura molecolare e ultrastrutturale dello stroma corneale, ed in particolare la spaziatura ed il calibro delle fibre di collagene giocano un ruolo cruciale nel garantire le caratteristiche di rigidità biomeccanica e trasparenza della cornea. La trasparenza delle fibre di collagene è tanto maggiore quanto più il diametro fibrillare è inferiore alla lunghezza d'onda della radiazione luminosa e l'indice di rifrazione delle fibrille è omogeneo a quello dell'intera matrice. L'opacità della sclera, composta da fibre di collagene che presentano la stessa composizione chimica di quelle corneali ma hanno una diversa e disordinata organizzazione fibrillare, conferma l'importanza della anatomia ultrastrutturale. La trasparenza corneale è conseguenza della architettura molecolare dello stroma (1956 Maurice). Lo stroma corneale ad esclusione della componente acquosa è composto da cellule 2% (cheratociti, fibre nervose), collagene 70% (principalmente di tipo I, in misura minore di tipo III, V e VI), glicosaminoglicani. I cheratociti sintetizzano catene pro-alfa di procollagene idrossilato, glicosilato e successivamente assemblato in una struttura elicoidale a tre eliche chiamata tropocollagene. Il procollagene viene secreto nello spazio extracellulare, i propeptidi presenti alle estremità delle molecole vengono

separati permettendo la formazione di molecole di tropocollagene. Tali molecole si autoassemblano in sottili fibrille di diametro pari a 1.5 nm e lunghezza pari a 300 nm che successivamente vanno a costituire le fibre collagene definitive. Le fibre collagene che compongono lo stroma, presenti in circa 300 strati (lamelle) nella porzione centrale e in circa 500 in periferia (limbus) hanno un diametro estremamente uniforme (da 22.5 a 35 nm), altrettanto uniforme e costante è la distanza tra fibre adiacenti (41.4 ± 0.5 nm). Ogni variazione della uniformità di tale distanza interfibrillare è causa di riduzione o perdita della trasparenza. Ogni lamella è orientata in modo parallelo alla superficie corneale e si estende da limbus a limbus con andamento equatoriale. Tra le fibre collagene sono presenti diversi glicosaminoglicani le cui molecole associandosi formano i proteoglicani. Il glicosaminoglicano più abbondante è il cheratansolfato (circa il 65%), seguono la condroitina e il dermatan solfato. La rigidità strutturale del collagene è garantita da legami covalenti carbonio-azoto conseguenti ad un processo di desaminazione ossidativa che legano strutture molecolari adiacenti. Tali legami (cross-links) sono presenti sia all'interno delle eliche del tropocollagene (intra-elicoideali) sia tra le fibrille del collagene (inter-fibrillari). La architettura molecolare e ultrastrutturale dello stroma corneale nel cheratocono si caratterizza per una diversa distribuzione delle fibrille; le fibrille collagene formano un unico strato nel quale non è possibile differenziare lamelle, lo spazio interfibrillare tra differenti strati è ridotto o assente per un numero ridotto di ponti interfibrillari (cross-links). Sono presenti, inoltre, rotture della membrana di Bowmann, apoptosi dei cheratociti, anomalie della matrice con riduzione della concentrazione di fibronectina, lamellina, entacina, collagene di tipo IV e II, aumento del collagene di tipo III, tenascina c e fibrillina. Ciò determina una riduzione della stabilità corneale ed un raddoppiato tasso di degradazione corneale indotto dalla pepsina se comparato ad una cornea normale. Si definisce *cross-linking corneale* una metodica che incrementa i ponti molecolari tra le fibre del collagene stromale. Vi sono tre metodi per ottenere tale effetto: *Enzimatico* (lisilossidasi), *Chimico* (aldeidi), da *Fotochimico* (UV, Radiazioni Ionizzanti). Il *Cross-Linking Enzimatico* è per lo più fisiologico (lisilossidasi), dipende in larga misura dalla idrossilazione del telopeptide della lisina la quale a sua volta è condizionata dal turnover del collagene, contribuisce al rafforzamento delle fibre; può essere fisiopatologico nel glaucoma (transglutaminasi); si modifica con l'età del paziente. Il *Cross-Linking Chimico* (aldeidi) è presente nella fisiopatologia del diabete, noto come Reazione di Maillard, aumenta con l'età (glicosilazione dei cataboliti) ed è ancora di

natura in parte sconosciuta e può venire inibito. Il *Cross-linking Fotochimico* può venire indotto dall'effetto di UVA, radiazioni ionizzanti. Questo ultimo tipo di cross-linking indotto è alla base degli studi preclinici proposti da Wollensak, Spoerl e Seiler per il trattamento del cheratocono evolutivo alla fine degli anni 90³. Gli autori hanno utilizzato un dinamometro per valutare la resistenza all'elongazione di strisce di cornea di 7x5 mm sottoposte a cross-linking indotto con Riboflavina-UVA. Le cornee sottoposte a cross-linking sono più rigide rispetto alle cornee non trattate e la resistenza è maggiore a carico dei 300 micron più anteriori dello stroma corneale grazie all'assorbimento a questo livello della Riboflavina (Vit. B2) che aumenta l'efficacia dei raggi ultravioletti nel collagene corneale 4. Un ulteriore studio ha dimostrato che il 65-70% dei raggi UVA viene assorbito dai 200 micron più anteriori della cornea 5: nella cornea slamellata in due metà, la porzione più anteriore trattata mostra una rigidità strutturale maggiore di quella anteriore di controllo non trattata, ma anche della porzione posteriore trattata. Nel 2004 Spoerl et al hanno dimostrato su occhi di maiale come il collagene delle cornee trattate sia molto più resistente alla degradazione termica (75 °C) rispetto a quelle non trattate (70 °C). Inoltre, la porzione anteriore, assorbendo la maggior parte delle radiazioni ultraviolette e della Riboflavina, risulta più resistente della porzione posteriore. Ciò è importante per la preservazione dell'endotelio e della curvatura corneale. Inoltre, altri studi hanno evidenziato che le cornee trattate con cross-linking hanno maggiore resistenza all'azione delle collagenasi, rispetto alle cornee non trattate 6. Ciò è molto importante perché l'aumentata attività collagenasica è uno dei meccanismi coinvolti nell'assottigliamento delle cornee con cheratocono. In uno studio pubblicato nel 2004 su 60 occhi porcini, le cornee espianate sottoposte a cross-linking sono state esposte a soluzioni di pepsina, tripsina e collagenasi 7. Le conclusioni evidenziano come le cornee trattate presentino un tempo di digestione enzimatica maggiore rispetto alle cornee non trattate. Wollensak 8 ha valutato il danno apoptotico indotto dalle radiazioni UVA nelle cellule dello stroma corneale dopo cross-linking. Nel suo studio ha evidenziato come il danno apoptotico sia dose-dipendente. La dose di UVA di 3 mW/cm², che viene utilizzata per il cross-linking Riboflavina-UVA, provoca una apoptosi cellulare fino ad una profondità pari a 300 micron. Questo ha stabilito che la dose di 3 mW/cm² è la giusta quantità di UVA da utilizzare per raggiungere la profondità di stroma da irradiare nel cross-linking. Dopo 24 ore l'apoptosi era limitata solo alla porzione anteriore trattata della cornea, con un'assenza totale dei cheratociti mentre la porzione posteriore non trattata presenta una densità

stromale cheratocitaria normale. Anche la popolazione endoteliale corneale è stata studiata a fondo negli studi preclinici, con valutazione della densità cellulare dopo irradiazione di raggi UVA. È noto che l'effetto citotossico sull'endotelio si ha quando viene raggiunta una dose di radiazioni pari a 0.36 mW/cm². Nelle cornee con spessore inferiore a 400 micron, tale livello energetico viene raggiunto con la dose di 3 mW/cm² utilizzata per il cross-linking indotto Riboflavina-UVA. Ciò significa che nelle cornee con spessore inferiore a 400 micron, il cross-linking non può essere effettuato senza provocare danni irreparabili all'endotelio: nei preparati istologici si vede bene come le cellule endoteliali scompaiano se si utilizzano potenze troppo elevate⁹. La valutazione e lo sviluppo dei parametri fisico-chimici di sicurezza ed efficacia eseguiti a Dresda hanno portato alla codifica dei tre cardini fondamentali per il corretto trattamento riassumibili in:

- 1) densità di potenza da trasferire al tessuto (5,4 Joule/cm² pari a 3 mW/cm² per 30 minuti),
- 2) concentrazione della soluzione fotosensibilizzante e del filtro UVA (Riboflavina fosfato allo 0,1% in soluzione di Destrano T 500 al 20%),
- 3) spessore corneale minimo (pari a 400 µm, epitelio compreso).

L'applicazione combinata di Riboflavina + UVA (370 nm) ha lo scopo di attivare radicali liberi di ossigeno (O₂⁻) che inducono una desaminazione ossidativa del collagene ed una conseguente formazione di nuovi ponti molecolari intraelicoideali ed interfibrillari. Tale effetto è quantificabile in un aumento del diametro in nm delle fibre collagene paria al 12 % nello stroma corneale anteriore e del 4.6% in quello posteriore, oltre ad un aumento della regolarità e della rigidità strutturale della cornea. Nel 2004 in Italia presso l'Università di Siena è partita la sperimentazione della metodica del cross-linking per il cheratocono evolutivo (studio Siena Eye Cross), con la novità dell'introduzione di un proprio illuminatore denominato CBM X clinker, primo al mondo certificato CE. Nell'intervento di Cross-linking, la Riboflavina gioca un triplice ruolo: favorisce l'assorbimento e la concentrazione della radiazione UV a livello dello stroma corneale anteriore-intermedio, funge da agente fotosensibilizzante da cui consegue produzione di specie reattive dell'ossigeno, garantisce la protezione dell'endotelio e delle altre strutture sensibili dell'occhio come il cristallino e la retina. Un tempo fondamentale della tecnica di crosslinking consiste nella rimozione dell'epitelio corneale per garantire una adeguata penetrazione della riboflavina in tutta la cornea ed in camera anteriore al fine di mantenere la sicurezza (effetto barriera

per le strutture posteriori dell'occhio) e l'efficacia (cross-linking assicurato per almeno 250-300 microns dello spessore e maggiore rinforzo corneale). Nel 2009 a Siena (Studio C.L.E.S) è stata introdotta una tecnica denominata *cross-linking trans-epiteliale o TE*. Si utilizza una soluzione oftalmica ipotonica contenente Riboflavina (0,1%) e sostanze (enhancer) in grado di facilitare il passaggio della Riboflavina stessa attraverso l'epitelio corneale integro. Tale soluzione permette di eseguire un intervento di cross-linking senza la rimozione dell'epitelio corneale. Diversi studi preliminari concordano sul fatto che tale tecnica rispetta i parametri di sicurezza per l'endotelio e le strutture oculari posteriori (cristallino e macula) 10. Sono stati inseriti tra le indicazioni del cross-linking trans-epiteliale i cheratoconi e le ectasie post lasik in evoluzione con spessore tra 350 e 390 μm di pachimetria (nel thinnest point). I vantaggi di questo nuovo approccio sono: l'eliminazione del dolore postoperatorio del paziente, un recupero più rapido mantenendo l'efficacia della procedura *standard*, ridurre o eliminare i rischi di infezione evitando la rimozione dell'epitelio, eliminare la necessità della sala operatoria.

In conclusione, il cross-linking corneale Riboflavina-UVA, epi-on oppure epi-off, sembra essere davvero capace di stabilizzare le cornee con cheratocono progressivo. E' una procedura scarsamente invasiva, di facile esecuzione e ripetibile nel tempo; è semplice e sicura se si seguono le giuste indicazioni, non danneggia l'endotelio corneale preservando la fisiologica trasparenza della cornea e infine non rappresenta una controindicazione all'esecuzione di eventuali procedure chirurgiche di cheratoplastica. La procedura con epi-off ha effetti limitati localmente: edema corneale transitorio, sensazione di corpo estraneo per 24-48 ore associata a bruciore oculare e lacrimazione fino al completamento della riepitelizzazione, come nel postoperatorio di una chirurgia fotorefrattiva. Al contrario la procedura epi-on non ha evidenziato alcun significativo effetto collaterale postoperatorio; si può presentare, raramente, un leggero senso di corpo estraneo ed una modesta iperemia congiuntivale nelle prime 6 ore dopo l'intervento.

Obiettivi

Confrontare i risultati visivi e topografici nei pazienti affetti da cheratocono in evoluzione, documentato sia clinicamente che strumentalmente, sottoposti a trattamento di cross-linking corneale mediante riboflavina-UVA con procedura epi-off ed epi-on.

Materiali e metodi

Sono state analizzate retrospettivamente le cartelle cliniche di 72 pazienti con cheratocono evolutivo, trattati con cross-linking corneale mediante riboflavina-UVA, 36 di essi sottoposti a tecnica standard e 36 a tecnica transepiteliale, tra il gennaio 2010 e il luglio 2011. Sono stati esclusi dallo studio i pazienti con un periodo di follow-up inferiore a 6 mesi. In caso di interventi bilaterali sono stati inclusi nello studio gli occhi con cheratocono di stadio maggiore. I pazienti non sono stati selezionati per il trattamento in caso di altre patologie corneali ectasiche diverse dal cheratocono, pregressa cheratite erpetica, cicatrici corneali centrali, CCT \leq 400 μ m nel punto piú sottile, interventi chirurgici precedenti, gravidanza e allattamento, dry eye severo. I pazienti sono stati sottoposti durante la valutazione preoperatoria e durante i follow-up successivi al trattamento (1 mese, 3 mesi, 6 mesi) ai seguenti esami: visus naturale e corretto, refrazione, biomicroscopia alla lampada a fessura, topografia corneale.

La tecnica del Cross-Linking corneale Riboflavina+UVA viene effettuata in sala operatoria, in asepsi. Dopo l'apertura sterile in sala operatoria della soluzione di riboflavina 0,1% - destano 20% (Ricrolin® - SOOFT Italia) si passa alla verifica dell'energia dell'illuminatore UVA a stato solido C.B.M. X linker C.S.O., mediante apposito UVA power meter abbinato allo strumento (3 mWatt: range 2,7-3,2 mW on power meter) prima della seduta e prima di ogni trattamento. In pre-medicazione, si instilla una goccia di pilocarpina al 2% in collirio nell'occhio da trattare 30 minuti prima dell'intervento. Per l'anestesia topica si utilizza lidocaina 4% o novesina in collirio (4 instillazioni 15-20 minuti prima dell'inizio della procedura). Dopo il posizionamento del blefarostato, si esegue la marcatura e disepitelizzazione corneale di 9 mm di diametro con spatola smussa o scarificatore epiteliale. Si instilla una goccia di lidocaina al 4% o novesina coll sulla superficie stromale e poi parte l'imbibizione con soluzione di riboflavina fosfato 0,1%, (RICROLIN® - SOOFT Italia) per 30 minuti prima dell'inizio dell'irradiazione UV-A piú volte. Poi inizia l'irradiazione corneale negli 8-9 mm centrali con controllo real time della procedura mediante il monitor LCD del C.B.M. X linker. Questa fase è composta da 6 step di 5 min ciascuno durante i quali si continua ad instillare la soluzione di riboflavina 0,1%. Alla fine si medica con ofloxacina coll., flurbiprofene coll., e bendaggio con lente a contatto terapeutica per 5 giorni. Nei successivi 2-3 giorni il paziente potrà presentare una sintomatologia caratterizzata da dolore e/o sensazione di corpo estraneo, limitati da un eventuale

trattamento con antidolorifici per bocca al bisogno, fino a quando la riepitelizzazione sarà completa. La tecnica transepiteliale utilizzata è identica a quella standard, eccetto per i seguenti punti: assenza della fase di marcatura e disepitelizzazione, mancato utilizzo del bendaggio con lente a contatto. Per l'analisi dei risultati funzionali post-operatori sono stati analizzati i seguenti parametri: acutezza visiva naturale e corretta in decimi, K readings (Kmax, Kmin, Kave).

Risultati

I dati demografici dello studio sono rappresentati nella tabella II.

DATI DEMOGRAFICI GRUPPO I (CCL standard, epi-off)
<ul style="list-style-type: none">• Occhi trattati: 36 (20 OD/16 OS)
<ul style="list-style-type: none">• Sesso: Maschi 26 - Femmine 10
<ul style="list-style-type: none">• Età media: 23.2 (range15-38 anni)
<ul style="list-style-type: none">• 6 pazienti allo stadio I, 15 pazienti allo stadio II, 12 pazienti allo stadio III, 3 pazienti allo stadio IV secondo Krumeich

DATI DEMOGRAFICI GRUPPO II (CCL TE, epi-on)
<ul style="list-style-type: none">• Occhi trattati: 36 (23 OD/13 OS)
<ul style="list-style-type: none">• Sesso: Maschi 28 - Femmine 8
<ul style="list-style-type: none">• Età media: 21.2 (range13-36 anni)
<ul style="list-style-type: none">• 5 pazienti allo stadio I, 13 pazienti allo stadio II, 15 pazienti allo stadio III, 3 pazienti allo stadio IV secondo Krumeich

TABELLA II

Il gruppo I (epi-off) era composto da 10 femmine e 26 maschi, l'età media dei pazienti era pari a 23.2 con un range fra 15 e 38 anni; per quanto riguarda la stadiazione dei casi trattati, erano presenti 6 pazienti allo stadio I, 15 pazienti allo stadio II, 12 pazienti allo stadio III, 3 pazienti allo stadio IV secondo Krumeich. Il gruppo II (epi-on) era composto da 8 femmine e 28 maschi, l'età media era pari a 21.2 con un range fra 13 e 36 anni; per quanto riguarda la stadiazione, erano presenti 5 pazienti allo stadio I, 13 pazienti allo stadio II, 15 pazienti allo stadio III, 3 pazienti allo stadio IV. Per tutti i casi considerati vi è stato un periodo di follow-up di almeno 6 mesi.

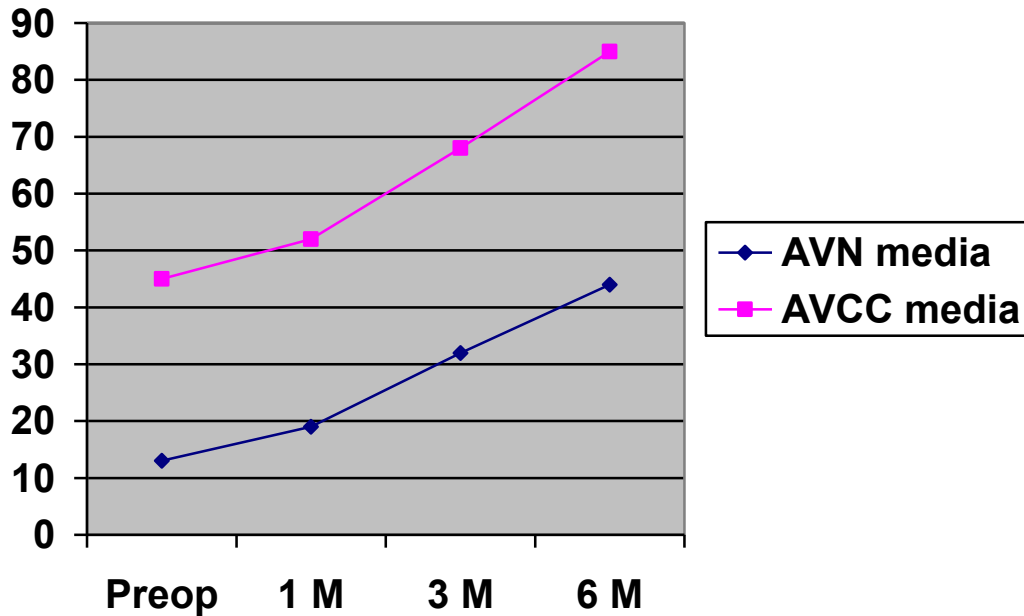
Nel gruppo I (CCL epi-off), preoperatoriamente, l'acutezza visiva naturale media era 0.13 (range 0.03-0.3), mentre quella corretta media era di 0.45 (range 0.1-0.7). I K readings medi preoperatori (Kmax Ave, Kmin Ave e Mean Kave) erano, rispettivamente, 56.8 D, 41.3 D, 50.4 D.

Al primo follow-up, ad 1 mese dal trattamento, l'acutezza visiva naturale media era 0.19 (range 0.05-0.4), quella corretta media era di 0.52 (range 0.2-0.7), il Kmax Ave, Kmin Ave e Mean Kave erano, rispettivamente, 56.2 D, 40.6 D, 50.1D. A 3 mesi post-intervento l'acutezza visiva naturale media era 0.32 (range 0.2-0.5), quella corretta media era di 0.68 (range 0.5-0.8), il Kmax Ave, Kmin Ave e Mean Kave erano, rispettivamente, 55.4 D, 38.7 D, 48.8 D. Il controllo finale a 6 mesi dall'intervento evidenziava un'acutezza visiva naturale media di 0.44 (range 0.2-0.6), corretta media di 0.85 (range 0.7-1), Kmax Ave, Kmin Ave e Mean Kave, rispettivamente, di 54.7 D, 38.2 D, 47.9 D.

Nel gruppo II (CCL epi-on) preoperatoriamente, l'acutezza visiva naturale media era 0.12 (range 0.02-0.2), mentre quella corretta media era di 0.41 (range 0.07-0.6). I K readings medi preoperatori (Kmax Ave, Kmin Ave e Mean Kave) erano, rispettivamente, 57.3 D, 41.8 D, 51.2 D.

Al primo follow-up, ad 1 mese dal trattamento, l'acutezza visiva naturale media era 0.2 (range 0.08-0.6), quella corretta media era di 0.55 (range 0.3-0.7), il Kmax Ave, Kmin Ave e Mean Kave erano, rispettivamente, 55.6 D, 40.3 D, 49.5 D. A 3 mesi post-intervento l'acutezza visiva naturale media era 0.35 (range 0.4-0.8), quella corretta media era di 0.73 (range 0.5-0.9), il Kmax Ave, Kmin Ave e Mean Kave erano, rispettivamente, 54.5 D, 38.8 D, 48.1 D. Il controllo finale a 6 mesi dall'intervento evidenziava un'acutezza visiva naturale media di 0.56 (range 0.5-0.9), corretta media di 0.92 (range 0.8-1), Kmax Ave, Kmin Ave e Mean Kave, rispettivamente, di 53.4 D, 37.9 D, 47.2 D.

**GRAFICO 1: Performances visive medie nel follow-up
(Gruppo I, epi-off)**



**GRAFICO 1bis: Performances visive medie nel follow-up
(Gruppo II, epi-on)**

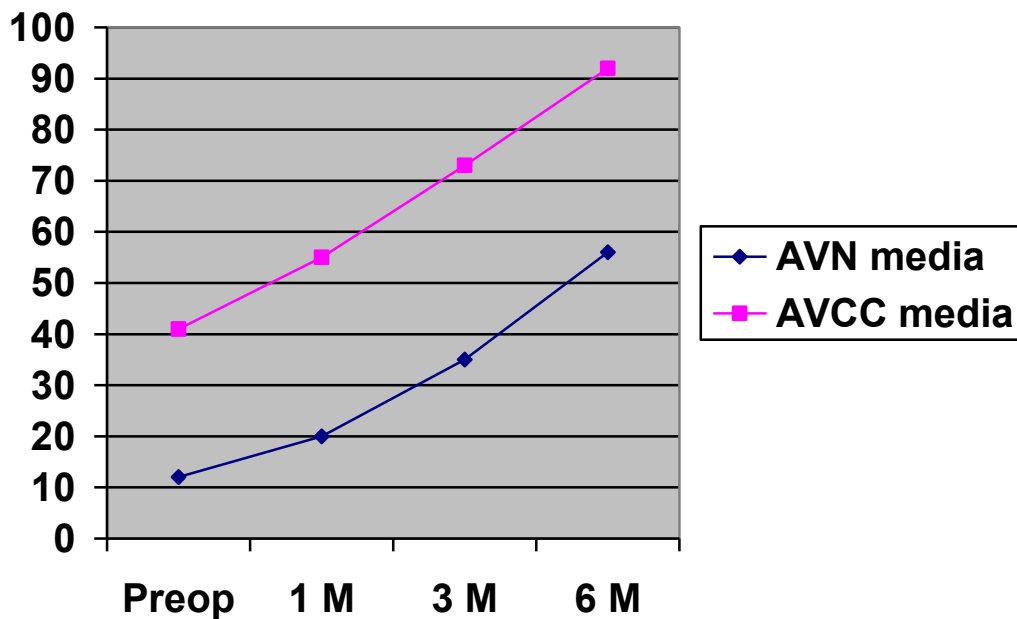


GRAFICO 2: Modificazione della curvatura dopo CCL epi-off

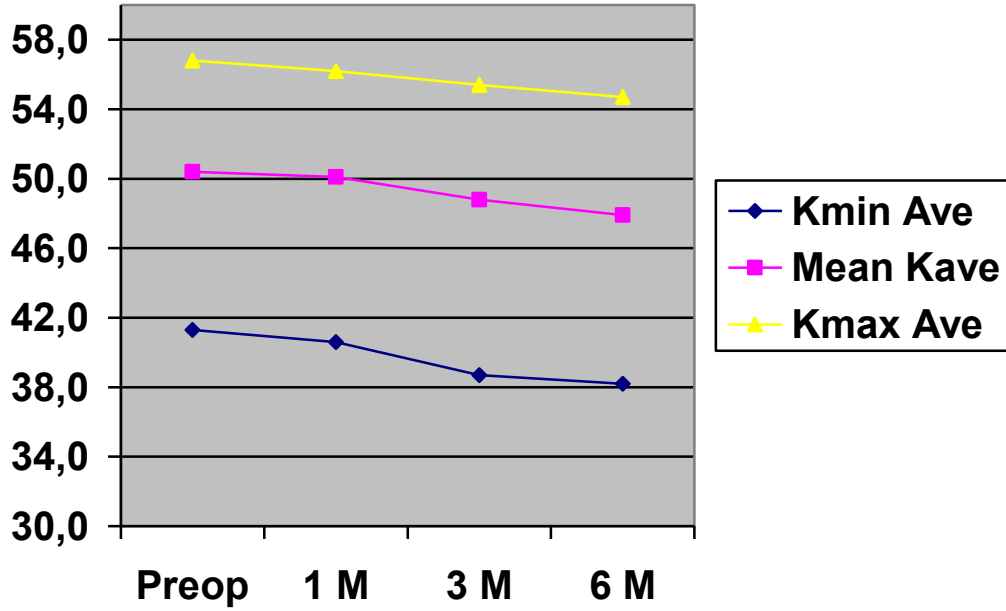
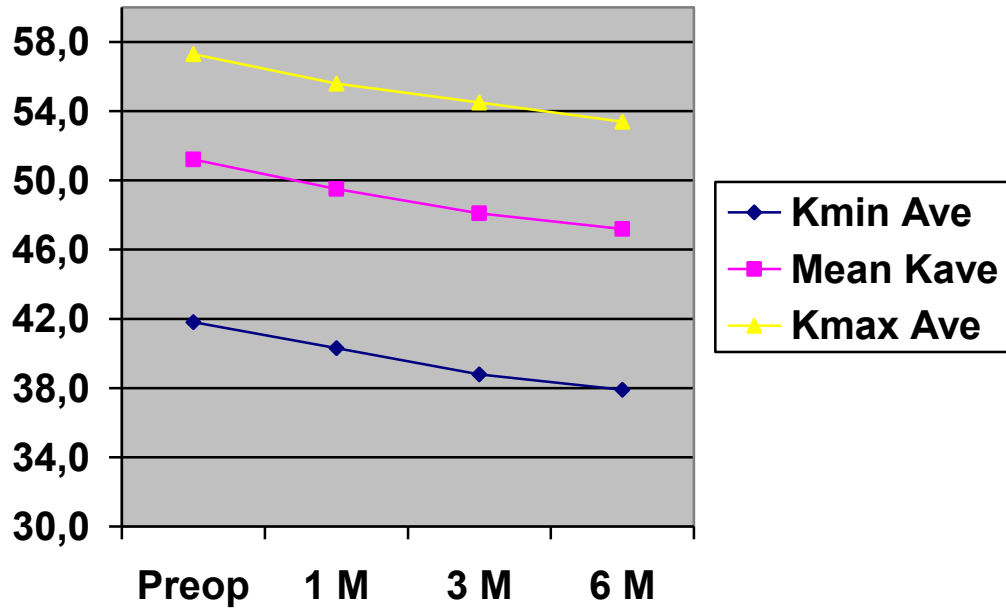


GRAFICO 2bis: Modificazione della curvatura dopo CCL epi-on



Nel gruppo I la valutazione della AVN media e della AVCC media nel post operatorio dimostra pochi cambiamenti nel corso del primo mese a causa della presenza dell'edema e dell'incompleta azione levigatrice svolta dalla stratificazione epiteliale. Tra il secondo e terzo mese si registra un miglioramento anche a parità di difetto cilindrico che continua progredire per tutto il follow-up con un quasi raddoppiamento dell'acutezza visiva finale rispetto a quella di partenza (*Grafico 1*). L'incremento della AVN e della AVCC media si può spiegare con la riduzione, evidente a partire dal secondo mese e maggiormente dal terzo mese in poi, dei K readings (*Grafico 2*). A distanza di 6 mesi l'analisi degli occhi trattati dimostra una stabilizzazione della evoluzione della malattia sul piano rifrattivo, clinico e topografico in tutti i casi trattati (100%), con una riduzione media del Kmax di circa 2 diottrie ed un incremento medio della capacità visiva con occhiali intorno a circa tre decimi. Tra le complicanze è stato evidenziato in 4 casi (circa 10%) un haze transitorio entro i primi 2 mesi che si è sempre risolto dopo terapia locale con steroidi (desametasone coll monodose a scalare per 1 mese). Interessante notare che 2 di questi pazienti, cioè la metà dei casi, facevano parte del sottogruppo di cheratoconi allo stadio IV.

Nel gruppo II, anche partendo da AVN e AVCC medie lievemente inferiori a quelle del gruppo I, si ha un guadagno visivo superiore lungo tutto il periodo del follow-up, fin dal primo mese, mancando gli effetti postoperatori della disepitelizzazione corneale. L'acutezza visiva finale risulta più che raddoppiata rispetto a quella di partenza, con un incremento medio della capacità visiva con occhiali intorno a circa cinque decimi (*Grafico 1bis*). All'ultimo follow-up si ottiene una riduzione media del Kmax di circa 4 diottrie (*Grafico 2bis*). Nel gruppo II non sono state registrate complicanze clinicamente significative, eccetto una lieve sensazione di corpo estraneo riferita da 6 pazienti (16%), risoltasi dopo 24 h dal trattamento.

Discussione

Fino ad oggi non esisteva alcuna terapia in grado di prevenire la progressione del cheratocono e tutte le proposte terapeutiche mini-invasive come gli anelli intrastromali (INTACS) sono rivolte esclusivamente alla cura degli effetti rifrattivi (astigmatismo e miopia) secondari alla malattia. L'individuazione di una "terapia eziopatogenetica" come il cross-linking del collagene corneale potrebbe fortemente ridurre la percentuale dei pazienti che arriverà alla chirurgia, avvalorando ancora di più l'importanza di una diagnosi precoce. La valutazione preoperatoria è la tappa fondamentale per decidere sulla inclusione od esclusione di un paziente per il cross-linking terapeutico¹. L'età del paziente è il primo fattore da considerare e, in generale, si può affermare che all'aumentare dell'età diminuisce l'indicazione al trattamento fotopolimerizzante. Il secondo parametro condizionante la scelta al trattamento è rappresentato soprattutto dalla documentata progressione topografica del cheratocono. Inoltre lo spessore corneale deve essere di almeno 400 μm nel punto più sottile per il CCL epi-off e di almeno 350-390 μm per il CCL epi-on. Controversa, invece, in letteratura, è l'indicazione del range di valori di K_{max} consigliato per l'impiego della metodica. Negli studi pilota che hanno dimostrato l'efficacia del cross-linking sono stati inclusi pazienti con valori di K_{max} compresi tra 48 e 72 diottrie^{10,11}. Caporossi et al.² hanno trattato occhi con valori di K_{max} non superiori alle 55 diottrie; secondo la scuola di Siena il cross-linking del collagene è consigliabile nelle forme di cheratocono in fase rifrattiva (stadio I e II) poiché l'obiettivo primario è di stabilizzare la forma della cornea possibilmente prima che si instaurino le modificazioni refrattive e pachimetriche da evoluzione che rendono insoddisfacente il risultato del trattamento. Nel loro studio Koller et al.¹² concludono che un valore di K_{max} preoperatorio inferiore a 58 diottrie può ridurre la percentuale di occhi in cui il cheratocono continua a progredire dopo cross-linking a meno del 3%. Nel presente studio abbiamo incluso pazienti con K_{max} medio preoperatorio di 56.8 D nel gruppo trattato con CCL standard e di 57.3 D nel gruppo trattato con CCL trans epiteliale. In entrambi i gruppi gli occhi appartenevano prevalentemente a stadi II e III di Krumeich. I risultati funzionali ottenuti all'ultimo follow-up per il CCL epi-off, e cioè una riduzione media della curvatura corneale di circa 2 diottrie ed un incremento medio della capacità visiva con occhiali intorno a circa tre decimi, sono concordi con quelli pubblicati dal Siena Eye Cross Study¹³. In uno studio controllato e randomizzato Wittig-Silva¹⁴ ha osservato un K_{max} ridotto in

media di 1.45 D a 1 anno oltre ad un trend di miglioramento della BCVA nel tempo. Nel lavoro di Fourniè 15 gli autori hanno ottenuto una riduzione media della curvatura corneale di 1.7 diottrie nel primo anno e una BCVA migliore di almeno una linea nel 57% degli occhi. Vinciguerra 16 ha riportato, dopo 12 mesi dall'intervento, un miglioramento di circa 3 diottrie della SIM K media e un guadagno visivo medio di circa due decimi. Lo studio di Hoyer 17, con follow-up a 3 anni, ha evidenziato una riduzione della cheratectasia nel 1° anno di 2.3 diottrie, nel 2° anno di 3.2 diottrie e nel 3° anno di 4.3 diottrie; l'acutezza visiva media è migliorata di almeno una linea o stabile. Per quanto riguarda occhi trattati con CCL transepiteliale, abbiamo avuto un significativo miglioramento sia dell'acutezza visiva naturale e corretta, sia degli indici topografici, in accordo col lavoro di Filippello et al 20. Leccisotti et al hanno riportato un miglioramento della BCVA di circa tre decimi e di circa 0.1 diottrie della SIM K media dopo CCL transepiteliale 21. Nel nostro studio i risultati funzionali finali della tecnica transepiteliale sono stati superiori ai sopracitati, con una riduzione media della curvatura corneale di circa 4 diottrie ed un aumento della BCVA circa cinque decimi. In letteratura non sono stati ancora pubblicati studi prospettici di confronto tra il CCL standard e trans epiteliale. Nonostante i limiti di uno studio retrospettivo, nella nostra casistica abbiamo registrato risultati finali superiori della tecnica transepiteliale rispetto a quella tradizionale, e precisamente il Kmax medio ridotto del doppio ed un miglioramento medio della BCVA di circa tre decimi in più. Per quanto riguarda le complicanze postoperatorie del CCL epi-off, in letteratura sono stati riportati da Raiskup 18 14 casi (8,6% degli occhi trattati) di haze corneale permanente a un anno di distanza dal trattamento. Koppen 19 ha pubblicato 4 casi di cheratite severa post intervento. Nel nostro studio vi è stata la pressoché totale assenza di complicanze o effetti avversi, eccetto un haze transitorio. La terapia postoperatoria con antibiotici per uso topico (fluorochinolonic) e con steroidi (desametasone) per un breve periodo, non superiore a 30 giorni, sostituiti eventualmente da FANS (flurbiprofene, diclofenac) ha dimostrato una buona risposta in tutti i pazienti. In accordo con la letteratura disponibile 20,21 , in tutti i pazienti trattati con CCL epi-on non abbiamo riscontrato alcun effetto collaterale significativo o permanente.

Conclusioni

I risultati confermano l'utilità del cross-linking corneale con riboflavina-UVA come trattamento conservativo per bloccare la progressione del cheratocono. E' una metodica semplice e di basso costo che potrebbe ridurre la necessità di donatori per gli interventi di cheratoplastica con notevoli implicazioni sul piano etico e socio-sanitario. In pazienti con pachimetria $> 400 \mu\text{m}$ il trattamento transepiteliale si è dimostrato superiore a quello standard sia in termini di riduzione media del Kmax, sia in termini di guadagno visivo. Considerando la riduzione dei rischi di infezione, la possibilità di evitare l'utilizzo della sala operatoria e l'assenza di complicanze postoperatorie, sarebbe preferibile adoperare il CCL epi-on in questi casi. Occorrono studi a lungo termine, prospettici, multicentrici, controllati e randomizzati per valutare la maggior efficacia nel tempo del CCL transepiteliale rispetto a quello tradizionale.

Bibliografia

1. YS Rabinowitz. Keratoconus, *Surv Ophthalmol* 1998; 42(4): 297-319
2. Caporossi A, Baiocchi S, Mazzotta C, Traversi C, Caporossi T. Parasurgical therapy for keratoconus by riboflavin-ultraviolet type A rays induced cross-linking of corneal collagen: preliminary refractive results in an Italian study , *J Cataract Refract Surg* 2006; 32 :837-845.
3. Spoerl E, Seiler T. Techniques for stiffening the cornea, *J Refract Surg*, 1999; 15 (6): 711 -713.
4. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Stress-strain measurements of human and porcine corneas after riboflavin-ultraviolet-A-induced crosslinking, *J Cataract Refract Surg*, 2003; 29:1780-1785.
5. Spoerl E, Wollensak G, Dittert D-D, Seiler T. Thermomechanical behaviour of collagen cross-linked porcine cornea, *Ophthalmologica*, 2004; 218: 136-140.
6. Spoerl E, Wollensak G, Seiler T. Increased resistance of cross-linked cornea against enzymatic digestion, *Corr Eye Res*, 2004; 29: 35-40.
7. Wollensak G, Wilsch M, Spoerl E, Seiler T. Collagen fiber diameter in the rabbit cornea after collagen cross-linking by riboflavin/UVA, *Cornea*, 2004; 23 : 503-507.
8. Wollensak G, Spoerl E, Wilsch M, Seiler T. Keratocyte apoptosis after corneal collagen cross-linking using riboflavin/UVA treatment, *Cornea*, 2004; 23: 43-49.
9. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet- A-induced collagen cross-linking for the treatment of keratoconus, *Am J Ophthalmol*, 2003; 135: 620-627.
10. Baiocchi S, Mazzotta C, Cerretani D, Caporossi T, Caporossi A. Corneal crosslinking: riboflavin concentration in corneal stroma exposed with and without epithelium, *J Cataract Refract Surg*. 2009; 35:893-9.
11. Wollensak G, Spörl E, Seiler T. Treatment of keratoconus by collagen cross-linking, *Ophthalmologe*. 2003 Jan; 100(1):44-9.
12. Koller T, Mrochen M, Seiler T. Complication and failure rates after corneal crosslinking, *J Cataract Refract Surg*. 2009 Aug; 35(8):1358-62.

13. Caporossi A, Mazzotta C, Baiocchi S, Caporossi T. Long-term results of riboflavin ultraviolet a corneal collagen cross-linking for keratoconus in Italy: the Siena eye cross study, *Am J Ophthalmol.* 2010 Apr; 149(4):585-93.
14. Wittig-Silva C, Whiting M, Lamoureux E, Lindsay RG, Sullivan LJ, Snibson GR. A randomized controlled trial of corneal collagen cross-linking in progressive keratoconus: preliminary results, *J Refract Surg.* 2008 Sep; 24(7):S720-5.
15. Fournié P, Galiacy S, Arné JL, Malecaze F. Corneal collagen cross-linking with ultraviolet-A light and riboflavin for the treatment of progressive keratoconus, *J Fr Ophtalmol.* 2009 Jan; 32(1):1-7.
16. Vinciguerra P, Albè E, Trazza S, Rosetta P, Vinciguerra R, Seiler T, Epstein D. Refractive, topographic, tomographic, and aberrometric analysis of keratoconic eyes undergoing corneal cross-linking, *Ophthalmology* 2009 Mar; 116(3):369-78.
17. Hoyer A, Raiskup-Wolf F, Spörl E, Pillunat LE. Collagen cross-linking with riboflavin and UVA light in keratoconus. Results from Dresden, *Ophthalmologe.* 2009 Feb; 106(2):133-40.
18. Raiskup F, Hoyer A, Spoerl E. Permanent corneal haze after riboflavin-UVA-induced cross-linking in keratoconus, *J Refract Surg.* 2009 Sep; 25(9):S824-8.
19. Koppen C, Vryghem JC, Gobin L, Tassignon MJ. Keratitis and corneal scarring after UVA/riboflavin cross-linking for keratoconus, *J Refract Surg.* 2009 Sep; 25(9):S819-23.
20. Filippello M, Stagni E, O'Brart D. Transepithelial corneal collagen crosslinking: Bilateral study, *J Cataract Refract Surg.* 2011; Epub ahead of print.
21. Leccisotti A, Islam T. Transepithelial corneal collagen crosslinking in keratoconus, *J Cataract Refract Surg.* 2010; 26(12):942-8.