

**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI  
"FEDERICO II"**



**Facoltà di Medicina e Chirurgia**

Corso di dottorato di ricerca in  
**MORFOLOGIA CLINICA E PATOLOGICA**  
*XXVIII CICLO*

**Tesi di dottorato di ricerca**

*“Studio sull’efficacia e sulla sicurezza dell’utilizzo del  
Cross-linking trans-epiteliale con iontoforesi in pazienti  
di età pediatrica affetti da cheratocono evolutivo”*

**Relatore**  
Chiar.ma Prof.ssa Stefania Montagnani

**Correlatore**  
Chiar.mo Prof. Adriano Magli

**Dottoranda** Dr.ssa Elisabetta Chiariello Vecchio

A.A. 2014/2015

## Abstract

Valutare l'efficacia e la sicurezza della tecnica Cross-linking con Iontoforesi transepiteliale in pazienti di età pediatrica affetti da cheratocono evolutivo a 18 mesi di follow up.

13 pazienti (13 occhi) sono stati arruolati. Gli esami preoperatori e postoperatori sono stati effettuati a 1, 6, 12 e 18 mesi, e sono stati valutati i seguenti parametri: acuità visiva non corretta (UCVA), migliore acuità visiva corretta (BCVA), biomicroscopia alla lampada a fessura, topografia corneale, tomografia ottica e pachimetria con il Pentacam (Oculus Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Germania), biomicroscopia endoteliale (Konan Specular microscopio; Konan Medical, Inc., Hyogo, Giappone).

Il test t Student accoppiato è stato usato per confrontare i dati durante il follow-up. I risultati hanno mostrato una stabilizzazione del visus già a partire dal primo mese post-operatorio, con un leggero miglioramento nel tempo. Il Kmax è rimasto stabile durante il follow-up ( $p = 0,04$ ). Il cross-linking transepiteliale con Iontoforesi a differenza di altre tecniche appare una tecnica efficace nello stabilizzare la progressione del cheratocono nell'arco di un follow-up di 18 mesi.

## INTRODUZIONE

Il cheratocono è una malattia degenerativa caratterizzata da una ectasia non infiammatoria della cornea con un aumento della curvatura corneale, un assottigliamento dello spessore corneale, un progressivo calo del visus e, nei casi più avanzati, un' opacità dei mezzi diottrici.<sup>1,2</sup>

Il termine “cheratocono” deriva dall'unione di due termini greci κέρας (kéras)= cornea e κωνος (konos)= cono ovvero “cornea conica”.

Raramente unilaterale, è quasi sempre *bilaterale*, con interessamento prima di un occhio e poi, anche con vari anni di differenza, dell'altro.

Il cheratocono si manifesta classicamente nella seconda decade di vita con tendenza alla progressione che risulta essere massima nell'adolescenza e nella prima età adulta.<sup>3</sup> La progressione di tale patologia, se non trattata, si può arrestare intorno alla III/IV decade di vita a causa della storia naturale della malattia.<sup>4</sup> La stabilizzazione spontanea può verificarsi per irrigidimento dello stroma corneale causato da un aumento del numero di legami crociati tra fibrille collagene.<sup>5,6</sup> Purtroppo, la progressione del cheratocono, che dura anni prima della stabilizzazione finale, può causare importanti cicatrici corneali e, in tal caso, la cheratoplastica rappresenta l'unica opzione terapeutica.<sup>7</sup>

## Epidemiologia ed eziopatogenesi

---

La prevalenza del cheratocono varia tra le diverse popolazioni, con una stima riportata in letteratura di circa 1 su 2000 persone anche se statistiche condotte più recentemente sulla base di indagini strumentali più moderne e sofisticate quali OCT, topografia e pachimetria corneale hanno evidenziato che valori di 1/600 - 1/320 risultano più aderenti alla realtà.<sup>2,3,8</sup> Si tratta quindi di una condizione relativamente rara, ma che rappresenta la seconda causa più frequente di cheratoplastica nei paesi occidentali.

Il cheratocono è stato descritto per la prima volta in letteratura nel 1854 da Nottingham, ma l'eziologia è ancora oggi poco chiara, si presume sia multifattoriale. I fattori genetici sembrano svolgere un ruolo fondamentale nell'eziologia e nella progressione del cheratocono, ma da soli non riescono a spiegare la maggior parte dei casi.<sup>9</sup> A questi si associano fattori ambientali, quali strofinarsi gli occhi e l'uso di lenti a contatto rigide. Studi recenti hanno evidenziato nelle lacrime di pazienti affetti da tale patologia la presenza di elevati livelli di citochine proinfiammatorie (in particolare IL-6 e TNF- $\alpha$ ), l'accumulo di prodotti citotossici derivanti dal metabolismo dell'ossido nitrico (NO) e dalla perossidazione lipidica e danni al DNA mitocondriale che suggeriscono la presenza, almeno in parte, dell'infiammazione alla base della patologia, contrariamente alla definizione classica.<sup>10, 11, 12</sup>

Ulteriori evidenze hanno mostrato ridotti livelli dell'enzima SOD – superossidodismutasi - in pazienti affetti da cheratocono.<sup>13</sup>

L'ereditarietà sembra avere un ruolo nello sviluppo del cheratocono solo in una piccola percentuale, approssimativamente il 10% dei casi. Probabilmente però si tratta di una percentuale sottostimata circa la reale incidenza familiare del cheratocono in quanto non tiene conto della forma subclinica conosciuta come "forma frusta", che corrisponde ad un cheratocono asintomatico in fase iniziale che può essere rilevata esclusivamente mediante la moderna analisi di topografia corneale e senza evidenza di progressione nel tempo. Se si prendessero in considerazione le forme subcliniche, i parenti di primo grado avrebbero una prevalenza stimata da 15 a 67 volte più alta di quella riscontrata nella popolazione generale.<sup>14</sup>

Ad oggi, i geni responsabili di tale patologia non sono stati ancora identificati. Tra i diversi geni candidati sono stati indagati quelli che codificano per diversi tipi di inibitori di proteasi e collagene così come i geni antiossidanti.<sup>15</sup> Si ritiene che, con meccanismi ancora non chiariti, tali geni interverrebbero sull'equilibrio di produzione/degradazione delle fibre collagene dello stroma corneale che sottoposte alle forze tensionali sarebbero responsabili della formazione di un "locus minoris resistentiae" corneale che, nel corso degli anni, si sfianca.

Il cheratocono generalmente si presenta come patologia isolata, in alcuni pazienti tuttavia si può associare ad altre malattie sistemiche e/o oculari.

E' stata riconosciuta una associazione con la sindrome di Down (0,5-15% dei casi), oltre ad altre patologie in cui vi è un difetto del metabolismo del collagene, come nella sindrome di Marfan, la sindrome di Ehlers-Danlos, l'osteogenesi imperfetta, la sindrome di Rieger, la sindrome di Crouzon (disostosi cranio-facciale). Altre patologie più frequentemente associate sono la dermatite atopica, la retinite pigmentosa, l'amaurosi congenita di Leber. Per esempio, pazienti con cheratocono

hanno una forte incidenza di prolasso della valvola mitrale (58%), dermatite atopica, presentano sfregamento degli occhi e spesso sono portatori di lenti a contatto gas permeabili.<sup>2,3,7</sup>

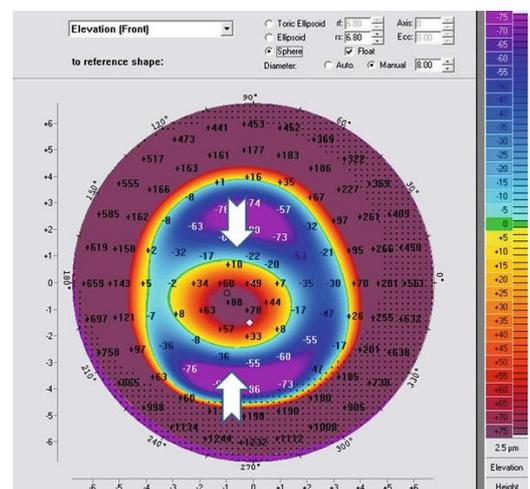
La malattia di solito inizia durante la pubertà. Tuttavia, secondo lo studio CLEK (Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus), l'età media alla diagnosi è di  $27,3 \pm 9,5$  anni.<sup>16</sup> L'espressività del cheratocono è molto variabile con una piccola percentuale di pazienti (circa l'1%) con "forme fruste" non progressive per tutta la vita con una buona acuità visiva e altri pazienti a cui viene diagnosticato il cheratocono evoluto in stadio IV mentre ancora sono poco più che ventenni.<sup>17</sup>

## Classificazione

La classificazione del cheratocono rappresenta il primo step nell'approccio alla patologia perché la gravità e lo stadio in cui si trova il paziente al momento della diagnosi ne influenzano il trattamento. Le classificazioni per il cheratocono proposte in letteratura sono numerose. Il cheratocono può essere classificato in base alla morfologia del cono e al quadro di topografia corneale.

Topograficamente, il cheratocono può essere classificato in base alle mappe di elevazione, di spessore o di curvatura.

**Fig. 1** Mappa di elevazione che mostra un cono centrale (indicato dalle frecce).



La prima classificazione proposta in letteratura fu quella di Amsler nel 1938. Tale classificazione prevede quattro stadi evolutivi tenendo conto del progressivo aumento della curvatura corneale e della variazione dell'angolo formato dagli assi orizzontali delle mire oftalmometriche deformate. (tab.1)

**Tabella 1.** Classificazione di Amsler

STADIO	CURVATURA CORNEALE	ANGOLO DI AMSLER	CORREZIONE
I	45-48 D	1-3 gradi	Occhiali
II	48-53 D	3-9 gradi	Lenti a contatto
III	>53 D	Mal definibile	Lenti a contatto
IV	Non definibile	Mal definibile	-

Più recentemente Krumeich e coll. hanno proposto una nuova classificazione del cheratocono in quattro stadi basata su astigmatismo, potere diottrico, trasparenza e pachimetria, che risulta sicuramente più completa e più facilmente applicabile agli attuali protocolli terapeutici. (tab.2)

**Tabella 2.** Classificazione di Krumeich e coll.

<b>STADIO 1</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>○ Miopia e/o astigmatismo &lt; 5 D;</li><li>○ K reading max &lt; 48 D;</li><li>○ Pachimetria &gt; 500 micron.</li></ul>
<b>STADIO 2</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>○ Miopia e/o astigmatismo &gt;5 &lt;8 D;</li><li>○ K reading max &lt; 53 D;</li><li>○ No cicatrici corneali;</li><li>○ Pachimetria &gt; 400 micron.</li></ul>
<b>STADIO 3</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>○ Miopia e/o astigmatismo indotto &gt; 8 D &lt; 10 D;</li><li>○ K reading max &gt; 53 D;</li><li>○ No cicatrici corneali;</li><li>○ Pachimetria 200-400 micron.</li></ul>
<b>STADIO 4</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>○ Refrazione non misurabile;</li><li>○ K reading max &gt; 55 D;</li><li>○ Cicatrici corneali;</li><li>○ Spessore corneale inferiore a 200 micron.</li></ul>

La classificazione proposta da Merlin prende in esame diversi dati, quali le mire oftalmometriche, il raggio medio, il visus corretto, la cheratoscopia, così da avere una duplice classificazione morfologica e funzionale per una migliore definizione da un punto di vista prognostico e terapeutico del cheratocono.

**Tabella 3.** Classificazione di U. Merlin

<p><b>STADIO SUB-CLINICO</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>○ Mire: regolari</li><li>○ Visus:10/10 (naturali o corretti)</li><li>○ Raggio Medio: uguale o lievemente inferiore a quello dell'occhio adelfo</li><li>○ Pachimetria: normale o lievemente inferiore</li><li>○ Cheratoscopia: ectasia fuori dalla zona ottica</li></ul> <p><b>I GRADO</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>○ Mire: lievemente deformate</li><li>○ Asse oftalmometrico: obliquo</li><li>○ Raggio Medio: diminuito (in confronto all'altro occhio o a valore precedente)</li><li>○ Visus con occhiali: ridotto</li><li>○ Visus con LAC rigide: ottimo</li><li>○ Topografia: ectasia che interessa la zona ottica</li></ul> <p><b>II GRADO</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>○ Mire: deformate</li><li>○ Raggio Medio: molto diminuito</li><li>○ Asse oftalmometrico: obliquo</li><li>○ Visus con occhiali: molto ridotto</li><li>○ Visus con LAC rigide: buono</li><li>○ Cheratoscopia: ectasia nella zona ottica</li><li>○ Cornea: trasparente/Strie di Vogt, lievemente ectasica</li><li>○ Pachimetria: 0,4-0,45 mm</li></ul> <p><b>III GRADO</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>○ Mire: molto deformate</li><li>○ Raggio Medio: molto diminuito</li><li>○ Asse oftalmometrico: obliquo</li><li>○ Visus con occhiali: &lt; 1/10</li><li>○ Visus con LAC rigide: discreto</li><li>○ Cheratoscopia: ectasia ampia decentrata</li><li>○ Cornea: Strie di Vogt, ectasia evidente, opacità stromali</li><li>○ Pachimetria: 0,35-0,40 mm</li></ul> <p><b>IV GRADO</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>○ Mire: non determinabili</li><li>○ Raggio Medio: non valutabile</li><li>○ Visus con occhiali: &lt; 1/20</li><li>○ Visus con LAC rigide: ridotto</li><li>○ Cheratoscopia: ectasia subtotale e alterata</li><li>○ Cornea: fibrosi apicale, ectasia ben evidente, opacità stromali</li><li>○ Pachimetria: 0,30-0,35 mm</li></ul>
---

Altre classificazioni si basano sull'uso dell'UBM (il rapporto tra la media di 4 misurazioni pachimetriche periferiche (P) e quella dell'apice del cono (A) ( $KI = \text{keratoconus index} = P/A$ ) che dà un indice per ogni stadio del cheratocono (con incremento dal 1° al 4° stadio).

## **Presentazione clinica**

---

Il cheratocono è definito come una distrofia corneale caratterizzata da uno sfiancamento della cornea con tendenza ad assumere una forma conica. Tutti gli strati della cornea possono essere interessati dal processo degenerativo. In particolare le alterazioni riguardano la struttura del collagene corneale, con aumento del collagene di tipo III a discapito del collagene di tipo I, la matrice intercellulare, con impedimento alla normale adesione di quelle fibre che garantiscono la forza e l'architettura corneale, ossia le fibre profonde, e l'apoptosi dei cheratociti che si evidenzia nelle aree sottostanti la rottura della Bowman e che rappresenta una reazione non specifica delle cornee affette da cheratocono, ma caratteristica di tutte le aree in cui sono presenti processi riparativi della cornea. Tutto ciò porterebbe ad una cornea strutturalmente e biomeccanicamente "debole". Le alterazioni più precoci sono rappresentate da piccoli depositi a livello della membrana di Bowman, dell'epitelio e dello stroma superficiale che precedono la formazione di aree di discontinuità della membrana di Bowman, che vengono ad essere rimpiazzate da cellule provenienti dall'epitelio e da fibroblasti derivati da cheratociti stromali. L'epitelio corneale risulta essere assottigliato soprattutto a livello della zona centrale, mentre la membrana basale risulta essere in alcune zone ispessita, con accumulo di particelle di ferritina sia all'interno che nello spazio tra le cellule basali. La presenza di questi accumuli di ferritina determina il quadro

biomicroscopico denominato “anello di Fleischer”, visibile come una zona di forma ovalare alla base del cono.

Gli strati corneali più profondi sono coinvolti solo negli stadi più avanzati della patologia. A livello dello stoma posteriore e della membrana di Descemet si sviluppano strie verticali, le “strie di Vogt”, e possono comparire cicatrici stromali sia superficiali che profonde.

Si parla di cheratocono acuto o idrope corneale quando si sviluppa una rottura della membrana di Descemet che causa il rapido insorgere di edema stromale ed opacizzazione corneale, evento raro che può verificarsi solo negli stadi più tardivi della patologia.

Nel cheratocono iniziale (stadio I), la funzione visiva risulta essere di poco alterata, infatti il paziente generalmente non riesce a descrivere pienamente il disturbo alla vista, ma un’attenta indagine anamnestica e un accurato esame obiettivo ci possono aiutare nell’inquadramento diagnostico. Il cheratocono, pur avendo un’evoluzione bilaterale nell’85% dei casi, si manifesta precocemente in un solo occhio e quindi sintomi lamentati dal paziente quali la percezione di una “**sbavatura**” delle immagini o una distorsione delle stesse (a seconda della localizzazione del cono), con una continua ricerca di un “fuoco migliore” socchiudendo gli occhi, un’aumentata sensibilità alla luce (**fotofovia**) rispetto alla norma e le luci che, soprattutto di notte (con la pupilla più dilatata) e alla guida presentano aloni risultando “**oblunghie e distorte**” ci devono indirizzare verso questa patologia.

Oltre ad un’alterazione della qualità visiva, i pazienti con il cheratocono si lamentano spesso di un “**affaticamento visivo**” simile a quello dei pazienti affetti da astigmatismo non corretto. Nelle fasi più avanzate dello stadio iniziale, è possibile che il paziente lamenti poliopia, cioè la percezione di una **immagine doppia** con un solo occhio oppure una deformazione netta delle immagini rette.

Quindi un paziente che ha una riduzione del visus, miopia progressiva e/o astigmatismo con frequente cambio di occhiali, in un periodo di tempo piuttosto breve (6 mesi - 1 anno), magari associato ad una lieve irregolarità delle mire all'oftalmometro di Javal, ci deve far sospettare la presenza di un cheratocono. I segni iniziali del cheratocono all'oftalmometro (che studia i soli 3 mm centrali della cornea) sono un potere refrattivo complessivo della cornea elevato (generalmente > 47-48 D) ed una distorsione delle mire oftalmometriche che non essendo più parallele formano un angolo irregolare, il cosiddetto angolo di Amsler. L'osservazione del riflesso del fondo oculare alla retinoscopia, o schiascopia, può essere indicativa di un possibile iniziale cheratocono. In particolare tramite tale esame è possibile rilevare due segni di iniziale cheratocono quale lo "scissoring" del riflesso rosso del fondo e, con la pupilla dilatata ed una lente sf. +6 posizionata davanti, il segno di Charleaux, ossia una gocciolina di miele o di olio nel riflesso rosso del fondo.

Nelle forme più avanzate, i segni del cheratocono, che possono essere individuati all'esame alla lampada a fessura, sono:

- **Assottigliamento corneale;**
- **Strie di Vogt;**
- **Anelli di Fleischer;**
- **Leucomi corneali;**
- **Segno di Munson;**
- **Segno di Rizzuti;**

L'assottigliamento corneale si rende più evidente negli stadi avanzati come un'area ben localizzata di differente **spessore corneale** tra la porzione centrale e quella periferica dove è localizzato il cono. Le strie di vogt sono piccole linee, visibili come graffi, generalmente verticali od oblique localizzate negli strati profondi dello

stroma corneale e della membrana di **Descemet** lungo il meridiano a curvatura più elevata. L'anello di Fleischer, (che può essere presente in circa il 50% dei casi) è un anello di varia pigmentazione, dal giallastro-marrone al verde-oliva, che si localizza alla base del cono (che può circondare in parte o in toto) dovuto al deposito di emosiderina negli strati profondi dell'epitelio corneale. I leucomi sono opacità corneali che divengono più evidenti negli stadi più avanzati per la rottura della membrana di **Bowman** con invasione di tessuto connettivo e perdita di trasparenza dell'apice del cono. Il segno di Munson può essere notato anche senza la lampada a fessura; esso è dato dalla estroflessione marcata della palpebra inferiore prodotta dalla protrusione della cornea nell'escursione dello sguardo verso il basso. Il segno di Rizzuti consiste in un riflesso triangolare della luce della lampada a fessura proiettato sull'iride nasalmente al cono.

## **Diagnosi**

---

Rispetto al passato in cui la diagnosi di cheratocono e la stadiazione si basavano quasi esclusivamente sull' oftalmometro di Javal e sulla lampada a fessura, oggi l'inquadramento diagnostico di tale patologia si è reso più accurato grazie all'introduzione di strumenti più sofisticati che studiano con maggiore precisione la curvatura e lo spessore della cornea: la topografia corneale e la pachimetria ad ultrasuoni, che completati dalla microscopia confocale e dall'aberrometria, hanno completamente modificato la diagnostica del cheratocono.

La **topografia corneale** è l'esame d'elezione per la diagnosi e lo studio dell'evoluzione del cheratocono. La proiezione sulla cornea di anelli a diametri differenti (disco di Placido) è uno strumento efficace per lo studio della superficie

corneale. I dati ricavati dalla riflessione sulla cornea di tali anelli, integrati da appositi software e algoritmi, vengono trasformati in mappe topografiche estremamente precise che con una risoluzione di pochi micron permettono di analizzare accuratamente la forma della cornea, l'estensione, l'asimmetria e l'irregolarità dell'astigmatismo, alterazioni come il cheratocono, la degenerazione marginale pellucida, il cheratoglobolo, il “**warp**age” da lenti a contatto e di studiare eventuali cicatrici e lesioni della cornea. Attraverso questo esame è possibile evidenziare tutte le alterazioni di riflessione della cornea e quindi cogliere le anomalie, anche le più precoci, della curvatura corneale come nei cheratoconi iniziali. Infatti il topografo permette sia una corretta diagnosi, sia una valutazione dell'eventuale progressione del cheratocono. Oggi sono a disposizione nuove tecnologie topografiche che attraverso l'impiego di telecamere e sofisticati software sono in grado di darci una ricostruzione tridimensionale della cornea come il Pentacam ® dell'Oculus Optikgeräte GmbH (Wetzlar, Germany) che è stato utilizzato in questo studio.

## **Diagnosi differenziale**

---

La diagnosi differenziale va posta con altre patologie ectasiche della cornea, quali la degenerazione marginale pellucida, il cheratoglobolo e la degenerazione marginale di Terrien, patologie per le quali sia il trattamento che la prognosi sono differenti. Il cheratocono interessa prevalentemente la cornea centrale o paracentrale inferiore, raramente superiore, anche nelle forme più avanzate, a differenza delle altre patologie ectasiche nelle quali lo sfiancamento riguarda soprattutto la parte periferica della cornea.

La degenerazione marginale pellucida è una patologia ectasica bilaterale, ma spesso asimmetrica, caratterizzata da un assottigliamento e da uno sfiancamento dei quadranti inferiori della cornea. Il quadro clinico e la sintomatologia sono sovrapponibili a quelli del cheratocono. La diagnosi differenziale avviene tramite la topografia corneale che mostra un caratteristico aspetto “a farfalla”.

Il cheratoglobolo è una rara ectasia corneale caratterizzata da un assottigliamento dello strato intermedio (stroma) prossimo al limbus.

La degenerazione marginale di Terrien è, invece, caratterizzata da un assottigliamento corneale periferico idiopatico non infiammatorio con epitelio sovrastante integro.

Nelle fasi avanzate del cheratocono, in seguito ad una rottura improvvisa della Descemet e conseguente imbibizione dello stroma corneale da parte dell'umor acqueo, si può verificare un edema corneale acuto con marcato appannamento visivo che si può associare a dolore se vengono interessati gli strati epiteliali. Tale quadro, generalmente è di breve durata e una volta riparata la “breccia” da parte delle cellule endoteliali, la cornea torna ad essere trasparente e si riacquisisce la visione. L'aumento della frequenza di questi episodi e il maggior tempo di recupero rappresentano un indice di valutazione di un possibile precoce scompenso corneale ed avvicina la decisione della scelta chirurgica. Sia per il cheratocono, che per la degenerazione marginale pellucida che per il cheratoglobolo data l'origine non infiammatoria della lesione e la conservata elasticità della cornea, il rischio di perforazione spontanea è estremamente basso.

## Terapia

---

Il trattamento del cheratocono, che varia a seconda del grado di evoluzione della patologia, consiste nella correzione ottica con occhiali o lenti a contatto (LAC) fino ad arrivare alla cheratoplastica. Tuttavia solo una modesta quota dei pazienti affetti da cheratocono va incontro a cheratoplastica. La recente introduzione del cross-linking corneale ha ridotto il numero di tali pazienti.

Gli occhiali possono correggere una ametropia dovuta ad un cheratocono iniziale, ma nelle fasi successive in cui il profilo corneale diventa più irregolare gli occhiali non sono più in grado di fornire un adeguato miglioramento visivo. Per ottenere una correzione ottica soddisfacente si utilizzano le LAC, le quali adattandosi alla superficie della cornea riescono a neutralizzare le distorsioni prodotte dall'irregolarità corneale.

Nelle forme iniziali di cheratocono, la sola correzione a tempiale, che compensa parte dell'astigmatismo, è quasi sempre sufficiente a raggiungere un discreto visus ed avere una soddisfacente vita lavorativa e sociale. Nelle forme più avanzate questa però non garantisce una valida qualità visiva e un miglioramento si può ottenere solo con l'uso di lenti a contatto rigide le quali "contenendo" la deformazione indotta dal cheratocono consentono il raggiungimento di un visus discreto anche nelle forme avanzate.

Nella maggior parte dei casi il paziente affetto da cheratocono riesce a compensare molto bene il suo difetto visivo grazie alle LAC e per questo motivo tende ad indossarle quanto più possibile. Ma tale evenienza deve essere sconsigliata, perché un uso eccessivo di LAC e una loro applicazione non corretta possono causare ripetuti microtraumi (scarring) legati all'eccessivo appoggio apicale della LAC a

cui consegue la liberazione di collagenasi che innesca un processo fibrotico. La sofferenza epiteliale all'apice del cono che ne consegue determina ulcerazioni epiteliali ricorrenti e leucomi apicali che si concretizzano con il tempo nell'intolleranza alla lenti stesse e ponendo di fatto l'indicazione al trapianto di cornea.

La LAC ideale deve evitare, quindi, il più possibile l'appoggio apicale sul cono cercando di seguirne quanto più possibile la curvatura. Se si presenta intolleranza alle LAC rigide, si può provare una lente morbida torica e poi correggere, quando possibile, l'astigmatismo residuo con lenti a tempiale.

Gli anelli intrastromali (INTACS, intrastromal corneal ring segments) sono piccoli segmenti semilunari di materiale plastico approvati dalla FDA, che inseriti nello stroma corneale paracentrale determinano un appianamento centrale del cono migliorando il recupero visivo senza le lenti a contatto. Data la loro recente introduzione non è ancora possibile sapere se l'impianto di questi segmenti può in qualche modo influenzare l'evoluzione del cheratocono.

Una volta che le lenti a contatto non sono più tollerate dal paziente perché responsabili di erosioni superficiali, arrossamenti e dolore e la correzione con occhiali non offre un visus sufficiente ad una normale vita di relazione, la possibilità di un miglioramento è legata all'approccio chirurgico o parachirurgico.

Il trattamento chirurgico deve essere accuratamente valutato tenendo conto delle condizioni del paziente e delle sue esigenze di vita lavorativa e sociale, nonché dello stato del cheratocono in quanto l'intervento chirurgico di cheratoplastica perforante non è esente da complicanze.

Il paziente deve essere correttamente ed esaurientemente informato delle sue condizioni, delle possibilità chirurgiche attuabili, dei rischi e delle complicanze al

fine di decidere il miglior momento per effettuare l'intervento e giungere alla migliore risoluzione possibile.

Le metodiche utilizzate sono fondamentalmente due: la cheratoplastica perforante (trapianto tradizionale) e la cheratoplastica lamellare. Il trapianto tradizionale consiste nell'asportazione dall'occhio del donatore di tutta la cornea, cioè con tutti i suoi strati con l'ausilio di particolari trapani cilindrici e cavi.

La complicazione più grave della cheratoplastica perforante è il rigetto che avviene soprattutto per esposizione di un endotelio estraneo al ricevente. Nel cheratocono la cornea è sfiancata, ma l'endotelio è generalmente sano e con un'alta densità cellulare. Queste osservazioni hanno portato all'intervento di cheratoplastica lamellare che consiste nella rimozione degli strati esterni della cornea, risparmiando lo strato più interno ossia l'endotelio, e se possibile la membrana di Descemet, ed evitando così, non solo il rischio di rigetto, ma anche la riduzione della densità endoteliale che si osserva nei lembi di cheratoplastica perforante a distanza di anni.

La cheratoplastica lamellare è un intervento che si esegue da molti anni, ma i risultati che si ottengono oggi con le attuali metodiche chirurgiche i nuovi trapani a disposizione, nonché i laser e le suture consentono risultati ottici veramente soddisfacenti con buon controllo dell'astigmatismo post-operatorio quasi sempre presente nel soggetto trapiantato.

## Cross-linking

---

Il cross-linking è una tecnica parachirurgica ideata a Dresda, in Germania, nel 1997 da parte di un gruppo di ricercatori dell'Università Tecnica di Dresda guidati da Gregor Wollensak, Theo Seiler ed Eberhard Spoerl con lo scopo di bloccare o rallentare la progressione del cheratocono e introdotto per la prima volta in Italia nel 2004.<sup>18,19</sup>

La base di partenza è clinicamente e scientificamente supportata dal fatto che esiste sia un cross-linking fisiologico di tutti i tessuti umani legato ai processi di invecchiamento che provoca un aumento della rigidità strutturale, sia un cross-linking indotto da una alterazione del metabolismo glucidico (reazione di Maillard) che avviene in alcune condizioni patologiche come nel diabete mellito in cui vi è un aumento di cross-linking del collagene. Per questo motivo i pazienti diabetici non risultano quasi mai affetti da cheratocono o nei rarissimi casi pre-esistenti all'esordio della malattia diabetica non dimostrano alcuna progressione. Il cross-linking del glucosio induce un aumento della resistenza corneale in questi soggetti mediante glicosilazione delle molecole di collagene (cross-linking chimico), reazione che si verifica a causa del deficit di insulina e che determina un incremento dei legami interfibrillari, come avviene nel cross-linking con riboflavina e UV-A, con la differenza che l'aumento dei legami è indotto dalla reazione di fotopolimerizzazione e non dal glucosio.

Quindi, oltre all'esistenza di un cross-linking fisiologico età-dipendente e di un cross-linking patologico dismetabolico (diabete mellito), esiste anche un cross-linking indotto che può essere enzimatico e non enzimatico, chimico o fotochimico. Il cross-linking enzimatico è per lo più fisiologico (lisil ossidasi), 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. Un effetto di cross-linking chimico è stato ottenuto in vitro utilizzando Glutaraldeide (Dupps et al ARVO abstract 147, 2002) o Gliceraldeide (Tessier et al ARVO abstract 3234, 2002), ma al momento non può essere applicato in vivo per la tossicità biologica delle sostanze utilizzate. Il cross-linking fotochimico può essere indotto dall'effetto di UV-A, radiazioni ionizzanti.

## **Cross-linking in età pediatrica**

---

Sebbene la diagnosi di cheratocono viene effettuata più frequentemente dopo l'adolescenza, il processo di ectasia corneale inizia in età giovanile. Il cheratocono che si manifesta durante l'infanzia o l'adolescenza presenta diverse caratteristiche. Recenti studi hanno dimostrato che il cheratocono in età pediatrica è caratterizzato da una maggiore frequenza (88% degli occhi con cheratocono) e velocità di progressione rispetto al cheratocono dell'adulto.<sup>20, 21, 22</sup>

Leoni-Mesplié et al. hanno condotto un studio retrospettivo per valutare la gravità del cheratocono al momento della diagnosi e la sua progressione per un periodo di 2 anni nei bambini rispetto agli adulti.<sup>23</sup> Il cheratocono nei bambini al momento della diagnosi era significativamente più grave, con il 27,8% in fase 4 rispetto al 7,8% degli adulti e con una progressione più rapida rispetto al gruppo degli adulti. Quindi il cheratocono nei bambini è rapidamente progressivo e non tende ad arrestarsi da solo.<sup>24, 25</sup>

Tutto ciò può portare ad una progressiva alterazione visiva nei pazienti pediatrici e influenzare lo sviluppo sociale ed educativo del bambino connotando, quindi, negativamente la crescita.

Il trattamento di pazienti con cheratocono lieve in età precoce può essere di maggiore beneficio rispetto al trattamento di tali pazienti in età tardiva con il rischio che la patologia progredisca fino allo stadio più avanzato che richiederebbe esclusivamente il trapianto di cornea. Dato che la cheratoplastica nei bambini ha una percentuale di successo inferiore rispetto agli adulti, trattare precocemente il cheratocono per arrestare la progressione e potenzialmente evitare il trapianto offre maggiori benefici a lungo termine nei pazienti di età pediatrica.<sup>26</sup>

Il cheratocono nei bambini si presenta con un'alterazione della capacità visiva variabile e di solito asimmetrica nei due occhi. Tuttavia, ciò si traduce raramente in ambliopia perché lo sviluppo della funzione visiva si completa verso gli 8 anni di età. Molti bambini con cheratocono presentano una storia positiva per sfregamento degli occhi e cheratocongiuntivite primaverile.

---

Al momento della diagnosi, lo stadio della malattia sembra essere più avanzato in pazienti più giovani. In uno studio di 482 occhi di 248 pazienti consecutivi con diagnosi di cheratocono, il 17,2% aveva meno di 20 anni e in questo sottogruppo di pazienti, i risultati clinici sono stati più gravi.<sup>27</sup> Nello studio condotta da Leoni-Mesplí et al., nel 27,8% dei pazienti di età  $\leq 15$  anni è stato riscontrato un cheratocono al IV stadio sec. Amsler-Krumeich rispetto al 7,8% dei pazienti di età  $\geq 27$  anni.<sup>23</sup> Nel cheratocono in età pediatrica si osserva più frequentemente un peggioramento della patologia rispetto agli adulti. In una popolazione di 1032 pazienti seguiti dal gruppo di studio CLEK, la progressione del cheratocono si è verificata nel 24% dei casi ed è stata maggiore in pazienti con età inferiore ai 20

anni e minore dopo i 30 anni di età.<sup>28, 29</sup> Inoltre, alcuni studi hanno dimostrato quadri di progressione della patologia più debilitanti con una maggiore probabilità di opacità corneali e cheratoplastica nei pazienti più giovani.<sup>30, 31</sup>

Il cheratocono in pazienti con meno di 18 anni tende ad essere più aggressivo e, come già indicato, frequentemente si ha un grave peggioramento della patologia. Quindi è importante scegliere rapidamente il percorso terapeutico da seguire. Chatzis e Hafezi sconsigliano di aspettare la progressione ma di effettuare il cross-link nei pazienti giovani quando i benefici superano i rischi (ad esempio, una grave condizione patologica nell'occhio controlaterale, una storia familiare di progressione in stadio III-IV, storia familiare di cheratoplastica, ecc.).<sup>32</sup>

### ***Cross-Linking Corneale tradizionale***

---

Esistono attualmente due tecniche di Crosslinking (CXL) utilizzabili.

Nel CXL classico si effettua l'asportazione dell'epitelio corneale (epi-off) prima del trattamento. Il CXL corneale trans epiteliale (CXL-TE) invece, consiste nel trattamento di CXL senza necessità di rimozione dell'epitelio corneale (epi-on).

Il CXL epi-off ha mostrato negli anni una buona efficacia nel rallentare o bloccare l'evoluzione della malattia, nel migliorare il visus dei pazienti e soprattutto nello stabilizzare il quadro clinico nel tempo, riducendo il numero dei pazienti eleggibili a cheratoplastica.<sup>33, 34, 35</sup>

Tuttavia, negli occhi trattati con metodica tradizionale epi-off la microscopia confocale ha dimostrato che è indotta una marcata risposta infiammatoria stromale che si evidenzia con la presenza di edema e riduzione della densità dei

cheratociti stromali anteriori che rimane significativa anche dopo 12 mesi dal trattamento.<sup>36,37</sup>

Inoltre, la tecnica standard, essendo più invasiva, ha mostrato avere un più alto rischio di infezioni corneali, intenso dolore, e importante calo del visus nei primi mesi dopo il trattamento<sup>38,39</sup>.

Il CXL, sfruttando una sostanza chiamata riboflavina o vitamina B2, determina una reazione chimica all'interno dello stroma innescata dalla luce ultravioletta che porta al moltiplicarsi dei legami tra le fibre di collagene permettendo di aumentare la resistenza meccanica della cornea.

L'intervento di cross-linking tradizionale è stato effettuato in molti studi secondo il protocollo di Dresda che prevede:

1. Disepitelizzazione corneale (tecnica Epi-Off) da otto a nove millimetri di diametro centrale, con una spatola metallica smussa/scarificatore epiteliale o spazzola.
2. Applicazione di Riboflavina 0,1% miscelata con una soluzione di destrano 20%, di solito ogni 2-5 minuti per un tempo di impregnazione di 30 minuti prima di iniziare l'irraggiamento e poi ogni 2-5 minuti durante l'irraggiamento per mantenere costante l'impregnazione della cornea. Nello studio condotto da Kodavoor et al. una soluzione ipotonica contenente riboflavina è stato utilizzato in pazienti con una pachimetria inferiore a 400  $\mu\text{m}$ , con il cut-off posto a 350  $\mu\text{m}$ . Nello studio di Arora et al. la pachimetria ad ultrasuoni è stata ripetutamente eseguita durante la procedura e la soluzione ipotonica contenente riboflavina è stata somministrata ogni dieci secondi per due minuti e ogni volta che la pachimetria scendeva al di sotto di 400  $\mu\text{m}$ . Questo valore di spessore corneale minimo deve essere mantenuto durante tutta la procedura per evitare effetti dannosi a carico dell'endotelio che si

verificherebbero in caso di formazione di radicali liberi dell'ossigeno troppo in profondità.

3. Irraggiamento UV-A uniforme a 3 mW / cm<sup>2</sup> per 30 minuti, che corrisponde ad una dose superficiale di 5,4 J / cm<sup>2</sup>. Al termine della procedura di cross-linking, viene applicata una lente a contatto terapeutica, o anche chiamata lente per bendaggio, che viene rimossa dopo la completa riepitelizzazione. Viene prescritto un trattamento topico con lacrime artificiali, steroidi, e antibiotici.

### ***Cross-Linking Corneale transepiteliale***

---

Il CXL TE non prevede invece la rimozione dell'epitelio corneale (epi-on) a differenza del tradizionale.

Il raggiungimento di una concentrazione stromale adeguata di riboflavina per l'intervento di CXL-TE è indispensabile ed è possibile grazie ad una specifica formulazione (RICROLIN ®, TE; SOOFT, Montegiorgio, Italy), che associa alla riboflavina 0,1%, sostanze enhancer in grado di facilitarne il passaggio attraverso l'epitelio integro.

Nei pazienti trattati con tecnica transepiteliale (CXL-TE) la risposta infiammatoria risulta essere minimamente rilevabile e solo durante la prima settimana post-operatoria, mentre ai controlli successivi non sono evidenti segni di edema ed attivazione infiammatoria stromale.

Tale trattamento, non essendo invasivo, è molto ben tollerato, in quanto determina un minor discomfort oculare e garantisce un recupero visivo più rapido rispetto alle tecniche che prevedono rimozione dell'epitelio.

Tuttavia, i risultati del CXL-TE sono parziali e non totalmente soddisfacenti a causa di una ridotta capacità di penetrazione corneale della riboflavina.<sup>40</sup>

Già nel 2002 Kolozsvari dimostrò tramite spettrofotometria che l'epitelio corneale e la lamina di Bowman permettono la penetrazione della luce UV-A (330–400 nm), ma non della luce UV-B (280–330 nm).<sup>41</sup>

Bottos et al. in uno studio molto interessante pubblicato sul JRS nel 2008 ha dimostrato in 25 occhi di maiale la ridotta capacità di penetrazione della riboflavina attraverso l'epitelio corneale integro sottoposto a luce UV-A, per cui gli autori suggerivano sempre la rimozione dell'epitelio corneale prima del crosslinking.<sup>42</sup>

In una recente pubblicazione sull'American Journal of Ophthalmology del febbraio 2015, Soeters N. et al hanno dimostrato che il CXL epi-off risulta essere statisticamente più efficace rispetto al CXL-TE, che nel 23% dei casi non riesce a bloccare o rallentare l'evoluzione del cheratocono.<sup>43</sup>

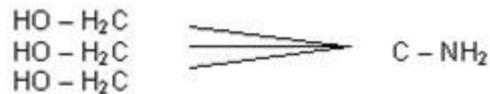
Il cross-linking transepiteliale (tecnica Epi-ON): prevede la somministrazione di Riboflavina 0,1% in associazione con sostanze facilitanti (enhancer) in grado di permetterne il passaggio attraverso l'epitelio integro.

Gli enhancers, quali Trometamolo ed EDTA sodico (RICROLIN® TE, SOOFT Italia), permettono, alla riboflavina, molecola idrofilica, di superare la barriera lipofilica costituita dall'epitelio, consentendole di raggiungere nello stroma corneale concentrazioni efficaci per l'intervento di CXL senza rimozione dell'epitelio corneale.

Il trometamolo (Tris-idrossimetilamminometano) è un aminoalcol biologicamente inerte di bassa tossicità, utilizzato in medicina per tamponare l'anidride carbonica e gli acidi in vitro ed in vivo. È presente in un'ampia varietà di prodotti, tra cui i

cosmetici, come soluzione tampone a livello industriale e come componente di farmaci per la sua azione alcalinizzante sia intracellulare che extracellulare.

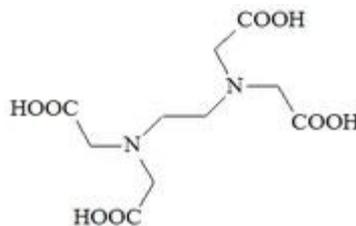
Migliora la farmacocinetica, la farmacodinamica e la biodisponibilità della riboflavina e facilita il passaggio nello stroma corneale.



### **Formula di struttura del trometamolo**

---

L'EDTA (acido etilendiamminotetracetico) è un legante esadentato, che stabilisce dei rapporti molto stabili con i cationi come calcio e magnesio; in particolare, l'azione sugli ioni Ca<sup>++</sup> permette di ottenere un effetto “sequestrante” sugli stessi. Dato che le giunzioni intercellulari risultano sensibili alla variazione del Ca<sup>++</sup>, una loro riduzione contribuisce a rendere i legami intercellulari più lassi, facilitando la penetrazione della riboflavina.

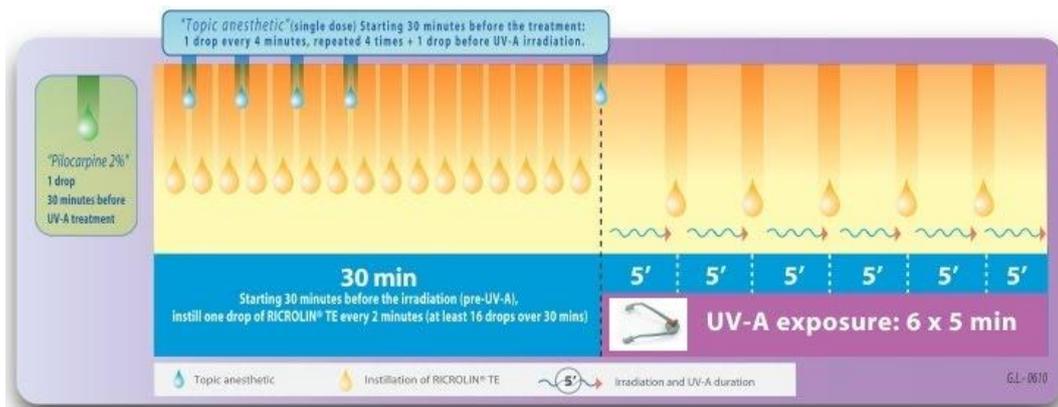


### **Formula di struttura dell'EDTA**

---

La procedura attualmente utilizzata prevede:

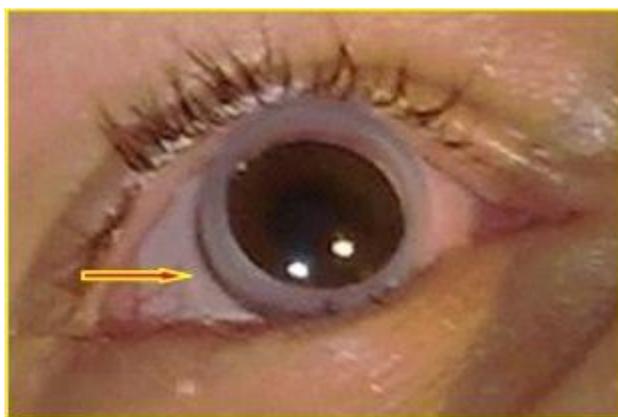
1. **Instillazione di pilocarpina:** 30 minuti prima del trattamento UV-A si instilla una goccia di “pilocarpina 2%” per indurre una miosi serrata.
2. **I fase di imbibizione con RICROLIN® TE:** La fase di imbibizione consiste nella somministrazione di RICROLIN® TE per 30 minuti (1 goccia ogni 2 minuti, utilizzando la siringa senza ago) prima di passare alla fase di irraggiamento con UV-A. Questa fase può essere effettuata con o senza “Corneal Silicon Ring” (un cilindro in silicone, appositamente studiato per il CXL, che facilita la somministrazione della riboflavina sulla cornea. Il dispositivo aderisce al limbus corneale e viene trattenuto in sede da una flangia che scivola sotto il bordo palpebrale – **fig. 2, 3,4,5**), secondo i due schemi seguenti:



**Fig. 2:** Procedura del trattamento transepiteliale



**Fig.3:** Corneal Silicon Ring



**Fig. 4:** Posizionamento del Corneal Silicon Ring



**Fig. 5:** Fase di imbibizione. RICROLIN® TE all'interno del silicon ring per 30 minuti

L'instillazione del RICROLIN® TE è ben tollerata dal paziente che non lamenta in genere bruciori o altri effetti collaterali soggettivi. E' sempre presente un leggero arrossamento della congiuntiva e una leggera colorazione giallastra delle ciglia e della cute per palpebrale legata al colore della riboflavina.

- 3. Instillazione di collirio anestetico:** Prima dell'intervento la cornea viene anestetizzata con collirio anestetico in monodose, 1 goccia ogni 4 minuti per 4 volte.

4. **Fase di irraggiamento:** Questa fase segue immediatamente la precedente. L'esposizione agli UV-A è fatta con un emettitore UV-A per un periodo di 30 minuti. L'apparecchio è un illuminatore monodiodo a diaframma variabile (regolabile tra 4 a 11 mm, apertura standard 8-9 mm) montato su un braccio flessibile che permette un agevole posizionamento dell'emettitore sull'area corneale da irradiare. Due led rossi di puntamento permettono all'operatore di focalizzare correttamente il raggio UV-A sulla cornea. La procedura può essere agevolmente seguita dall'operatore attraverso un monitor collegato ad una telecamera montata all'interno della testa dello strumento. Tutte le fasi dell'intervento sono automatizzate.

Come per il CXL con disepitelizzazione anche in questo caso si raccomanda di accertarsi con l'apposito rilevatore che l'intensità degli UV sia di  $3 \text{ mW/cm}^2 \pm 10\%$  con uno spot di 8-9 mm di diametro.

Durante la fase di irraggiamento la quantità di RICROLIN<sup>®</sup> TE deve essere minima, appena sufficiente a bagnare interamente l'epitelio corneale. Infatti in questa fase una stratificazione più consistente del prodotto potrebbe ostacolare la penetrazione dei raggi UV all'interno dello stroma corneale. Una goccia RICROLIN<sup>®</sup> TE è somministrata mediamente ogni 5 minuti durante l'intero periodo di irradiazione.

5. **Fase finale:** Al termine dei 30 minuti di irraggiamento va effettuato un lavaggio accurato della cornea per rimuovere il RICROLIN<sup>®</sup> TE residuo.

Secondo il parere del medico oculista si può posizionare una LAC terapeutica che andrà rimossa dopo 3-4 giorni.

Generalmente nelle prime 24 ore i pazienti riferiscono una sensazione di corpo estraneo. La sintomatologia è rapidamente controllabile con la somministrazione di

lacrime artificiali da 4 a 6 volte al giorno. Una terapia antibiotica profilattica è sempre consigliabile per almeno tre giorni.

### ***Cross-Linking Corneale transepiteliale con iontoforesi***

---

Un ulteriore passo in avanti è stato fatto recentemente con l'introduzione del CXL TE con iontoforesi (I-CXL). La iontoforesi (da *iontòs* = ione e *phòresis* = trasporto) consiste nel trasferimento unidirezionale di molecole, fornite di carica ionica (come la riboflavina), all'interno dei tessuti da trattare, grazie ad un campo elettrico a bassa intensità. È una tecnica innocua per i tessuti oculari lavorando a correnti molto basse, e permette di raggiungere concentrazioni di riboflavina più omogenee rispetto alla permeazione passiva, con tempi complessivi di trattamento molto più rapidi.

La iontoforesi corneale permette infatti di ridurre l'intervento di cross-linking corneale a soli 14 minuti totali (imbibizione ed irraggiamento UV-A) rispetto alla tecnica transepiteliale standard (con imbibizione passiva): la fase di imbibizione della cornea con riboflavina mediante iontoforesi richiede 5 minuti e l'irradiazione UV-A a 10 mW/cm<sup>2</sup>, 9 minuti.

L'I-CXL viene eseguito generalmente in anestesia topica con applicazione di una dose di Lidocaina 4% collirio, una goccia ogni 4 minuti per 4 volte.

Il trattamento viene effettuato mediante l'applicazione sul paziente di due elettrodi collegati ad un delicato generatore di corrente continua. Per primo, viene posizionato l'elettrodo positivo a forma di cerotto (patch) al centro della fronte del paziente e l'altro sull'occhio del paziente.

In seguito viene riempito l'elettrodo negativo, situato nell'occhio, con un'apposita formulazione di riboflavina specifica per iontoforesi corneale. Viene applicata la corrente elettrica a bassissima intensità, ottimamente tollerata dal paziente, per cinque minuti. Il flusso di corrente tra i due elettrodi permette alla formulazione di riboflavina di penetrare rapidamente nello stroma corneale, attraverso l'epitelio integro.

## **CAPITOLO II**

### **MATERIALI E METODI**

Abbiamo arruolato 13 pazienti (13 occhi) con diagnosi di cheratocono progressivo che sono stati sottoposti a iontoforesi corneale ( I-CXL) presso il Dipartimento di Oculistica, ortottica ed oftalmologia pediatrica dell'Università degli studi di Salerno, AOU “ San Giovanni di Dio e Ruggi d'Aragona” da Novembre 2013 a Maggio 2015.

I criteri di inclusione sono stati:

pazienti con meno di 18 anni, diagnosi di cheratocono evolutivo, spessore corneale centrale maggiore di 400 micron nel thinnest point, aumento della curvatura apicale del cono di almeno 1 D nei precedenti 6 mesi, cornea chiara alla biomicroscopia, assenza di strie di Vogt.

I criteri di esclusione sono stati:

presenza di opacità corneale centrale o paracentrale, spessore corneale centrale minore di 400 micron nel thinnest point ,anamnesi positiva per cheratite herpetica, severo dry eye, infezioni corneali, malattie autoimmuni, malattie del

cristallino o della retina, l'utilizzo di lenti a contatto rigide nelle 4 settimane precedenti la valutazione basale.

Lo studio è stato condotto secondo i principi della Dichiarazione di Helsinki.

Tutti i genitori dei pazienti hanno fornito il consenso informato.

Gli esami preoperatori e postoperatori sono stati effettuati a 1, 6, 12 e 18 mesi, e sono stati valutati i seguenti parametri:

acuità visiva non corretta (UCVA), migliore acuità visiva corretta (BCVA), biomicroscopia alla lampada a fessura, topografia corneale, tomografia ottica e pachimetria con il Pentacam (Oculus Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Germania), biomicroscopia endoteliale (Konan Specular microscopio; Konan Medical, Inc., Hyogo, Giappone).

A partire da tre giorni prima della procedura è stato instillato un antibiotico monodose tre volte al giorno in entrambi gli occhi, indipendentemente dall'occhio da trattare (Monofloxofta 0.3% collirio, BIOOS Italia Srl, Contrada Molino 17, Montegiorgio-FM).

I-CXL è stato effettuato in anestesia topica con una applicazione di lidocaina gocce monodose al 4% ogni 4 minuti per 4 volte. La disinfezione perioculare è stata effettuata per 5 minuti con iodopovidone sterile diluito al 10.0%.

Trenta minuti prima della procedura sono state instillate due gocce di pilocarpina al 2 % negli occhi da trattare per ridurre la quantità di luce ultravioletta sulla retina.

Abbiamo applicato quindi un cerotto (elettrodo positivo) sulla fronte del paziente dopo averla accuratamente detersa.

Dopo aver posizionato il blefarostato, abbiamo posto sulla cornea da trattare l'applicatore per iontoforesi (Iontofor-CXL), che viene riempito di riboflavina fino a completa copertura della griglia (elettrodo negativo).

La riboflavina usata è stata specificamente progettata per I-CXL, costituita dallo 0,1% di riboflavina senza destrano o sodio cloruro e con l'aggiunta di due esaltatori: acido etilendiamminotetraacetico e trometamolo (RICROLIN ®+; SOOFT, Montegiorgio, Italia).

Il device è stato poi collegato ad un generatore di corrente costante (I-ON CXL, SOOFT) fissato a 1 mA (la dose totale è di 5 mA in 5 minuti). Tale corrente a bassa intensità permette l'ingresso della riboflavina nella cornea in soli 5 minuti invece dei 30 minuti che richiederebbe una imbibizione passiva.

Terminati i 5 minuti di iontoforesi, si rimuove l'anello e il residuo di RICROLIN ®+ e si effettua il trattamento con raggi ultravioletti a bassa intensità con una lampada ultravioletta di 10 mW/cm<sup>2</sup> (Vega CBM X linker 10 mW prodotto da CSO) per 9 minuti. Al termine viene effettuato un lavaggio dell'occhio con soluzione salina sterile.

Dopo l'intervento chirurgico, è stata applicata una lente a contatto sclerale rimossa dopo 3 giorni dal trattamento. L'utilizzo della LAC in un trattamento epi-on è giustificata dal fatto che la luce ultravioletta usata durante il procedimento potrebbe aver danneggiato parte dell'epitelio, causando disagio nel primo post-operatorio.

Dopo la rimozione della lente a contatto abbiamo applicato del desametasone 21-fosfato 0,15% gocce.

### ***ANALISI STATISTICA***

L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando l'SPSS software versione 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY).

I dati sono descritti come media  $\pm$  deviazione standard.

È stato applicato il test t di Student per dati appaiati per valutare la significatività delle differenze tra dati preoperatori e postoperatori, utilizzando lo stesso livello di significatività ( $P < .05$ ) in tutti i casi.

## **CAPITOLO III**

### **RISULTATI**

I nostri risultati preliminari si basano su 13 pazienti ( 13 occhi) inclusi nello studio. L'età media era di  $15.4 \pm 1.7$  (range 11-18 anni), la popolazione era composta da 10 maschi e 3 femmine.

Nessun paziente è stato perso durante il follow-up.

A nessun paziente è stato necessario effettuare per una seconda volta il trattamento nell'arco dell'intero follow-up.

Lo stadio del cheratocono è stato classificato in base alla classificazione Amsler modificato fornita dal Pentacam:

3 pazienti (23.05%), con grado I, 6 pazienti (46.15%) con grado II, 2 pazienti (15.4%) con grado III, e 2 pazienti (15.4%), con grado IV.

Le principali caratteristiche dei pazienti sono elencate in tabella 4

I risultati refrattivi dimostrano una stabilizzazione della UCVA (da  $0.67 \pm 0.22$  a  $0.63 \pm 0.36$   $p=0.05$ ) e della BCVA ( da  $0.45 \pm 0.28$  a  $0.42 \pm 0.22$   $p=0.03$  ) già a partire dal primo mese post-operatorio, con un leggero miglioramento nel tempo. Il Kmax è rimasto stabile durante tutto il follow up ( $p=0.04$ )

Tutti i valori topometrici valutati con il Pentacam hanno mostrato una stabilizzazione del quadro clinico durante tutto il follow-up, mentre un

miglioramento statisticamente significativo dopo 18 mesi era presente per l'index of surface variance ( $p= 0.04$ ) e il keratoconus index ( $p= 0.02$ ).

La media della conta delle cellule endoteliali era di  $2934.5 \pm 242.48$  e non ha subito variazioni statisticamente significative nel corso del follow up. ( $p=0.03$ ).

Nessun paziente ha sviluppato haze corneale post trattamento quando esaminati alla lampada a fessura a distanza di 18 mesi. Nessun paziente ha sviluppato infezioni. Alcuni leggeri effetti collaterali si sono sviluppati nei pazienti come iperemia congiuntivale (13 occhi su 13), sensazione di corpo estraneo (13 occhi su 13) e fotofobia (13 occhi su 13) dopo le prime ore dal trattamento.

## **CAPITOLO IV**

### **DISCUSSIONE**

In questo studio vengono valutati i risultati anatomici e funzionali di pazienti in età pediatrica affetti da cheratocono evolutivo sottoposti a I-CXL con un follow-up di 18 mesi e il profilo di sicurezza di tale tecnica.

In accordo con l'epidemiologia di altri lavori sul cheratocono il rapporto maschi/femmine è a favore dei maschi.<sup>44, 45</sup>

Il crosslinking sia classico che trans-epiteliale è una tecnica usata da molti anni nel trattamento del cheratocono. IL CXL classico epi-off è una tecnica ampiamente studiata e conosciuta. Ben validata e standardizzata, ha una efficacia terapeutica provata, ma comporta una serie di effetti collaterali e discomfort che, soprattutto in un campione di pazienti di età pediatrica, non possono e non devono essere sottovalutati. Se il decorso post-operatorio è meno doloroso e la restitutio ad integrum più rapida, evidentemente il bambino

avrà una compliance maggiore. Il procedimento di rimuovere l'epitelio corneale provoca infatti dolore, temporaneo annebbiamento visivo con edema corneale, rischio di haze corneale, aumentato tempo di recupero post-operatorio, maggiore rischio di infezioni, possibile riattivazione di cheratite herpetica, danni endoteliali, formazione di cicatrici permanenti o presenza di infiltrati sterili<sup>46,47, 48, 49,50</sup>

Poter risparmiare l'epitelio corneale rende l'intervento più sicuro e tollerabile, rispetta la citoarchitettura corneale salvando le fibre nervose responsabili del dolore e riducendo l'infiammazione corneale responsabile di complicanze anche importanti. In particolare, il dolore del CXL classico è risultato essere particolarmente intenso nel post-operatorio così come dimostrato da Ghanem et al. e Murphy et al.<sup>51, 52</sup>

Il CXL-TE con iontoforesi rappresenta un trattamento di ultimissima generazione efficace nella stabilizzazione del cheratocono. Tale tecnica consente una notevole riduzione dei tempi operatori permettendo una migliore compliance da parte del paziente, un minor tempo di esposizione corneale, minori complicanze, minori effetti collaterali, particolarmente fastidiosi nel CXL epi-off. La iontoforesi rappresenta un eccellente connubio tra il CXL epi-off e il CXL-TE, rendendo la tecnica più rapida ed efficace. Inoltre, il ridotto tempo di esecuzione, comportando una maggiore compliance del paziente, consente di effettuare il trattamento in anestesia topica in pazienti di età pediatrica selezionati, limitando i costi di gestione intraoperatori, le possibili complicanze che una anestesia generale può comportare e assicurando un più rapido recupero post-operatorio.

## **CAPITOLO V**

### **CONCLUSIONI**

Il cheratocono è una patologia di riscontro poco frequente nei bambini e negli adolescenti, che tuttavia potrebbero essere il target che più beneficerebbe di questo trattamento per la loro lunga aspettativa di vita, per la possibilità di ritrattamenti, per il più aggressivo andamento evolutivo e progressivo della malattia, evitando o ritardando così il ricorso alla cheratoplastica. Il Cross-Linking Corneale (CXL) attualmente rappresenta il trattamento farmacologico parachirurgico di elezione in pazienti con cheratocono evolutivo.

E' un trattamento che può potenzialmente bloccare o rallentare l'evoluzione della malattia.

Ulteriori studi con un follow-up più lungo sono necessari per valutare la sicurezza a lungo termine e l'efficacia rispetto al CXL standard. Tuttavia i risultati preliminari di questo studio sono molto incoraggianti e promettenti ed indicano il Crosslinking con Iontoforesi una valida alternativa al trattamento tradizionale nella terapia del cheratocono evolutivo specialmente in pazienti di età pediatrica.

**Tab.4**

	<b>Media ± deviazione standard</b>
<b>età</b>	15.4 ± 1.7 (range 11-18 anni)
<b>Maschi/femmine</b>	10/3
<b>UCVA logMAR</b>	0.67 ± 0.22
<b>BCVA logMAR</b>	0.45 ± 0.28
<b>index of surface variance</b>	87 ± 43.27
<b>index of vertical asymmetry</b>	0.93 ± 0.39
<b>keratoconus index</b>	1.22 ± 0.14
<b>central keratoconus index</b>	1.06 ± 0.07
<b>index of height asymmetry</b>	34.85 ± 20.16
<b>index of height decentration</b>	0.14 ± 0.09
<b>minimum radius of curvature</b>	6.15 ± 0.76
<b>Spessore minimo corneale/ µm</b>	467.88 ± 36.3
<b>endothelial cell density cells/mm<sup>2</sup></b>	2934.5 ± 242.48
<b>Kmax ,D</b>	53.26 ± 3.88

## BIBLIOGRAFIA

---

- <sup>1</sup> Krachmer J. H., Feder R. S., Belin M. W. Keratoconus and related noninflammatory corneal thinning disorders. *Survey of Ophthalmology*. 1984;28(4):293–322. 8
- 2 Davidson AE, Hayes S, Hardcastle AJ, Tuft SJ. The pathogenesis of keratoconus. *Eye*. 2014;28(2):189–195.
- 3 Rabinowitz Y. S. Keratoconus. *Survey of Ophthalmology*. 1998;42(4):297–319.
- 4 Ertan A., Muftuoglu O. Keratoconus clinical findings according to different age and gender groups. *Cornea*. 2008;27(10):1109–1113
- 5 Malik NS, Moss SJ, Ahmed N, Furth AJ, Wall RS, Meek KM. Ageing of the human corneal stroma: structural and biochemical changes. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1992;1138(3):222–228
- 6 Daxer A, Misof K, Grabner B, Ettl A, Fratzl P. Collagen fibrils in the human corneal stroma: structure and aging. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 1998;39(3):644–648
- 7 Gordon-Shaag A1, Millodot M2, Shneur E1, Liu Y3. The genetic and environmental factors for keratoconus. *Biomed Res Int*. 2015;2015:795738
- 8 Caporossi A, Mazzotta C, Baiocchi C et al: “Keratoconus Therapeutic Guidelines based on staging: from CrossLinking to Penetrating Keratoplasty”. *Reviews, Minerva Oftalmol*. 2008;50: 43-48.
- 9 Gokul A1, Patel DV, McGhee CN. Dr John Nottingham's 1854 Landmark Treatise on Conical Cornea Considered in the Context of the Current Knowledge of Keratoconus. *Cornea*. 2016 Mar 16 Epub ahead of print
- 10 Jun A. S., Cope L., Speck C., et al. Subnormal cytokine profile in the tear fluid of keratoconus patients. *PLoS ONE*. 2011;6(1)
- 11 Lema I., Sobrino T., Durán J. A., Brea D., Díez-Feijoo E. Subclinical keratoconus and inflammatory molecules from tears. *British Journal of Ophthalmology*. 2009;93(6):820–824.
- 12 Galvis V, Sherwin T, Tello A, Merayo J, Barrera R, Acera A. Keratoconus: an inflammatory disorder? *Eye*. 2015;29(7):843-859
- 13 Behndig A., Karlsson K., Johansson B. O., Brännström T., Marklund S. L. Superoxide dismutase isoenzymes in the normal and diseased human cornea. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2001;42(10):2293–2296
- 14 Wang Y, Rabinowitz YS, Rotter JI, Yang H. Genetic epidemiological study of keratoconus: evidence for major gene determination. *American Journal of Medical Genetics*. 2000;93(5):403–409
- 15 Gonzalez V, McDonnell PJ. Computer-assisted corneal topography in parents of patients with keratoconus. *Archives of Ophthalmology*. 1992;110(10):1412–1414
- 16 Zadnik K, Barr JT, Gordon MO, Edrington TB. Biomicroscopic signs and disease severity in keratoconus. *Cornea*. 1996;15(2):139–146.
- 17 Hashemi H, Beiranvand A, Khabazkhoob M, et al. Prevalence of keratoconus in a population-based study in Shahroud. *Cornea*. 2013;32(11):1441–1445.

- 
- 18 Wollensak G, Spörl E, Seiler T. [Treatment of keratoconus by collagen cross linking]. *Ophthalmologie*. 2003 Jan;100(1):44-9
- 19 Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol*. 2003 May;135(5):620-7
- 20 Chatzis N, Hafezi F. Progression of keratoconus and efficacy of pediatric [corrected] corneal collagen cross-linking in children and adolescents. *J Refract Surg*. 2012;28:753–758
- 21 Al Suhaibani AH, Al-Rajhi AA, Al-Motowa S, Wagoner MD. Inverse relationship between age and severity and sequelae of acute corneal hydrops associated with keratoconus. *Br J ophthalmol*. 2007;91:984–985.
- 22 Li X, Yang H, Rabinowitz YS. Longitudinal study of keratoconus progression. *Exp Eye Res*. 2007;85:502–507.
- 23 Léoni-Mesplié S, Mortemousque B, Touboul D, Malet F, Praud D, Mesplié N, et al. Scalability and severity of keratoconus in children. *Am J Ophthalmol*. 2012;154:56–62
- 24 Ertan A, Muftuoglu O. Keratoconus clinical findings according to different age and gender groups. *Cornea*. 2008;27:1109–1113.
- 25 Reeves SW, Stinnett S, Adelman RA, Afshari NA. Risk factors for progression to penetrating keratoplasty in patients with keratoconus. *Am J Ophthalmol*. 2005;140:607–611.
- 26 Vanathi M, Panda A, Vengayil S, Chaudhuri Z, Dada T. Pediatric keratoplasty. *Surv Ophthalmol*. 2009;54:245–271.
- 27 Ertan A, Muftuoglu O. Keratoconus clinical findings according to different age and gender groups. *Cornea*. 2008;27(10):1109–1113
- 28 McMahon TT, Edrington TB, Szczotka-Flynn L., et al. Longitudinal changes in corneal curvature in keratoconus. *Cornea*. 2006;25(3):296–305
- 29 Barr JT, Wilson BS, Gordon MO, et al. Estimation of the incidence and factors predictive of corneal scarring in the Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus (CLEK) Study. *Cornea*. 2006;25(1):16–25.
- 30 Reeves SW, Stinnett S, Adelman RA, Afshari NA. Risk factors for progression to penetrating keratoplasty in patients with keratoconus. *American Journal of Ophthalmology*. 2005;140(4):607–611.
- 31 Al Suhaibani AH, Al-Rajhi AA, Al-Motowa S, Wagoner MD, Al-Rajhi AA. Inverse relationship between age and severity and sequelae of acute corneal hydrops associated with keratoconus. *British Journal of Ophthalmology*. 2007;91(7):984–985
- 32 Chatzis N, Hafezi F. Progression of keratoconus and efficacy of corneal collagen cross-linking in children and adolescents. *Journal of Refractive Surgery*. 2012;28(11):753–758.
- 33 Raiskup-Wolf F, Hoyer A, Spoerl E, Pillunat LE. Collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A light in keratoconus: long-term results. *J Cataract Refract Surg*. 2008;34:796-801.
- 34 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;149:585-593.

- 
- 35 Raiskup F1, Theuring A2, Pillunat LE2, Spoerl E2. Corneal collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A light in progressive keratoconus: ten-year results. *J Cataract Refract Surg.* 2015 Jan;41(1):41-6.
- 36 Lanzini M, Calienno R, Colasante M, Capponi A, Nubile M, Mastropasqua L. Traditional and Transepithelial Corneal Crosslinking: In Vivo Morphological Study. *AAO, Orlando* 22-25 ottobre 2011.
- 37 Mastropasqua L1, Lanzini M, Curcio C, Calienno R, Mastropasqua R, Colasante M, Mastropasqua A, Nubile M. Structural modifications and tissue response after standard epi-off and iontophoretic corneal crosslinking with different irradiation procedures. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014 Apr 17;55(4):2526-33.
- 38 Vinciguerra P, Albe E, Trazza S, et al. Refractive, topographic, tomographic, and aberrometric analysis of keratoconic eyes undergoing corneal cross-linking. *Ophthalmology.* 2009;116:369- 378.
- 39 Magli A, Forte R, Tortori A, Capasso L, Marsico G, Piozzi E. Epithelium-off corneal collagen cross-linking versus transepithelial cross-linking for pediatric keratoconus. *Cornea.* 2013 May;32(5):597-601.
- 40 Soeters N1, Wisse RP2, Godefrooij DA2, Imhof SM2, Tahzib NG3. Transepithelial versus epithelium-off corneal crosslinking for the treatment of progressive keratoconus: a randomized controlled trial. *Am J Ophthalmol.* 2015 Feb 19. pii: S0002-9394(15)00091-4
- 41 Kolozsvari L, Nogradi A, Hopp B, Bor Z. UV absorbance of the human cornea in the 240- to 400-nm range. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43:2165-2168.
- 42 Bottós KM, Schor P, Dreyfuss JL, Nader HB, Chamon W. Effect of corneal epithelium on ultraviolet-A and riboflavin absorption. *Arq Bras Oftalmol.* 2011 Sep-Oct;74(5):348-51
- 43 Soeters N1, Wisse RP2, Godefrooij DA2, Imhof SM2, Tahzib NG3. Transepithelial versus epithelium-off corneal crosslinking for the treatment of progressive keratoconus: a randomized controlled trial. *Am J Ophthalmol.* 2015 Feb 19. pii: S0002-9394(15)00091-4.
- 44 Rabinowitz YS. Keratoconus. *Surv Ophthalmol.* 1998;42:297-319.
- 45 Caporossi A, Mazzotta C, Baiocchi S, et al. Age-related long-term functional results after riboflavin UV a corneal cross-linking. *J Ophthalmol.* 2011;2011:608041.
- 46 Pollhammer M, Cursiefen C. Bacterial keratitis early after corneal crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A. *J Cataract Refract Surg.* 2009;35:588-589.
- 47 Koller T, Mrochen M, Seiler T. Complication and failure rates after corneal crosslinking. *J Cataract Refract Surg.* 2009;35:1358-1362.
- 48 Angunawela RI, Arnalich-Montiel F, Allan BD. Peripheral sterile corneal infiltrates and melting after collagen crosslinking for keratoconus. *J Cataract Refract Surg.* 2009;35:606-607.
- 49 Mazzotta C, Balestrazzi A, Baiocchi S, et al. Stromal haze after combined riboflavin-UVA corneal collagen cross-linking in keratoconus: in vivo confocal microscopic evaluation. *Clin Exp Ophthalmol.* 2007; 35:580-582.
- 50 Dhawan S, Rao K, Natrajan S. Complications of corneal collagen crosslinking. *J Ophthalmol.* 2011;2011:869015.
- 51 Ghanem VC, Ghanem RC, de Oliveira R. Postoperative pain after corneal collagen cross-linking. *Cornea.* 2012

---

52 Murphy PJ, Patel S, Kong N, et al. Noninvasive assessment of corneal sensitivity in young and elderly diabetic and nondiabetic subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45:1737–1742.