

**KERATOCONUS AND EPI-OFF CORNEAL CROSS-LINKING BY RIBOFLAVIN-ULTRAVIOLET TYPE A:
INDICATIONS AND RATIONAL OF EMPLOYMENT**

A. Caporossi, C. Mazzotta, S. Baiocchi, O. Caporossi, R. Denaro, G. Cartocci, A. Paradiso

**Department Scienze Odontostomatologiche ed Oftalmologiche, Oculistic Section
University Of Siena**

Keratoconus is the most common dystrophic corneal ectasia, characterized by the presence of irregular astigmatism associated with a reduction of corneal thickness. It is the leading cause of corneal transplant in Italy and Europe. Recently a new therapeutic opportunity is offered by Riboflavin + UV A Corneal Cross-linking, first introduced in Italy in 2004 by Professor Aldo Caporossi at the Department of Ophthalmology of Siena.

This treatment requires early diagnosis to prevent corneal ectatic modifications related to pathology. The modern treatment of keratoconus is directed into three "directories": 1) prevention of its progression; 2) reduction of the related refractive defect and induced corneal aberrations; 3) replacement of ectatic corneal in advanced phase not subjected to conservative approach and HRGP lens intolerance. Riboflavin + UV A Collagen Cross-linking is mostly indicated in patients between 10 and 26 years old with progressive keratoconus (stage 1 and 2) with strict adherence to the recommended inclusion thickness (thinnest point > 400 microns).

Keywords: Keratoconus; Cross-linking; Riboflavin

INTRODUZIONE

Il Cheratocono(1) rappresenta la più comune distrofia "ectasica" della cornea a carattere degenerativo. Generalmente la malattia ha esordio in età puberale, è bilaterale, asimmetrica ed è contraddistinta dalla presenza di un astigmatismo irregolare associato a riduzione dello spessore corneale. Si tratta di una malattia generalmente progressiva ad andamento capriccioso, prevalentemente sporadica la cui componente genetica appare evidente in circa il 20% dei casi con penetranza ed espressività clinica variabile. In circa il 20% dei casi il cheratocono evolutivo necessita di una cheratoplastica lamellare e/o perforante1 a seconda dello stadio e della compliance del paziente alle lenti corneali(4).

I progressi tecnologici a servizio dell'oftalmologia e l'uso quasi routinario della topografia e della pachimetria corneale in chirurgia refrattiva hanno messo in luce una grande quantità di cheratoconi non ancora diagnosticati pertanto, nella nostra esperienza, l'incidenza della malattia è realmente ben superiore (1 caso su 420 pazienti nel nostro database)(1) a quella riportata in letteratura (1 caso su 2000)(2). Il cheratocono in Italia ed in Europea è la prima causa di trapianto corneale e ciò desta non poche preoccupazioni per l'impatto sociale e sanitario dovuto al coinvolgimento di pazienti molto giovani2. Una recente opportunità terapeutica ad

"indirizzo patogenetico" è offerta dal Cross-linking Corneale Riboflavina UVA, per la prima volta introdotto e sviluppato(3) in Italia nel 2004 dal professor Aldo Caporossi presso la Clinica Oculistica di Siena. Questo nuovo trattamento impone la necessità di una diagnosi precoce al fine di prevenire e possibilmente bloccare le modificazioni corneali correlate alla patologia. La scelta terapeutica nel cheratocono deve essere basata sulla corretta stadiazione clinico-strumentale della malattia, sulla sua evolutività, sulla compliance alle lenti a contatto, sull'età del paziente e sulla sua qualità di vita. Pertanto, a nostro avviso, la moderna terapia del cheratocono è diretta in tre "directory" principali:

- 1) prevenzione o rallentamento della sua progressione in "fase rifrattiva";
- 2) riduzione del difetto rifrattivo correlato e delle aberrazioni corneali indotte;
- 3) sostituzione della cornea ectasica in stadio avanzato (III-IV) in pazienti non suscettibili di miglioramento contattologico(4) .

Nella maggior parte dei pazienti affetti da cheratocono le relative modifiche della curvatura, il progressivo assottigliamento e il decadimento delle qualità ottiche della cornea tendono a concentrarsi fra l'età puberale (tra i 10 e i 15 anni) ed i 25-30 anni per esaurirsi in

Correspondence to:

Prof. Aldo Caporossi

Department Scienze Odontostomatologiche ed Oftalmologiche, Oculistic Section, University of Siena

Policlinico "Santa Maria alle Scotte", Viale Bracci 2, 53100 Siena, Italy

Email: caporossi@unisi.it

modo pressoché totale dopo i 35-40 anni anche per l'insorgenza di un fisiologico processo di Cross-linkaggio indotto dalla glicosilazione proteica (reazione di Maillard), dall'effetto della lisil-ossidasi (LOX) su tutti i connettivi(1).

Dal punto di vista ottico-fisiopatologico il cheratocono è generalmente caratterizzato da una dislocazione infero-temporale dell'apice dell'ectasia corneale e dalla riduzione del raggio di curvatura i quali producono una superficie corneale "asimmetrica" ed "iper-refrattiva" sebbene quest'ultimo parametro è parzialmente compensato dall'assottigliamento del tessuto(6). Tali modifiche producono i noti "effetti ottici" responsabili del degrado della funzionalità visiva caratteristica della malattia.

Fino ad oggi, eccetto il Cross Linking Corneale Riboflavina + UVA (5), nessun'altra terapia si era dimostrata in grado di prevenire e rallentare la progressione del cheratocono. Le proposte terapeutiche cosiddette "mini-invasive" come gli anelli intrastromali sono infatti rivolte esclusivamente alla cura degli effetti rifrattivi (astigmatismo e miopia) secondari alla malattia ed hanno dimostrato la loro inefficacia in tema di stabilizzazione. L'individuazione di una "terapia eziopatogenetica" come il cross-linking del collagene corneale si sta dimostrando effettivamente utile fino ad oggi nel ridurre la percentuale dei pazienti che arriva alla chirurgia, avvalorando ancora di più l'importanza della diagnosi precoce che obbliga ad una revisione critica della "strategia attendista" per spostare l'obiettivo terapeutico dalla correzione degli effetti (decadimento delle proprietà ottiche), alla prevenzione dei più importanti meccanismi fisiopatologici alla base della malattia (rinforzo biomeccanico e biochimico della cornea ectasica)(4).

INDICAZIONI E RAZIONALE DEL CROSS LINKING RIBOFLAVINA + UVA

Il Cross-linking del collagene mediante Riboflavina 0,1% + UVA è oggi elettivamente indicato(4) nel cheratocono in fase rifrattiva (stadio 1 e 2) in progressione, il cui peggioramento negli ultimi 6 mesi sia documentabile clinicamente (riduzione del visus, microstrie alla biomicroscopia), topograficamente (incremento degli indici di simmetria e cheratorefrattivi), pachimetricamente (peggioremento del thinnest point e dello spessore centrale medio), topo-aberrometricamente (peggioremento delle componenti comatica e di alto ordine)(4).

A nostro avviso sono da escludere dal trattamento soggetti di età inferiore ai 10 anni e superiore ai 40 anni (salvo casi particolari di scarsa compliance alle lenti a contatto o a scopo rifrattivo in casi selezionati), pazienti con spessore corneale inferiore a 400 micron in thinnest point, in fase di stabilità clinico-strumentale acclarata negli ultimi 6-12 mesi, pazienti con storia di pregressa cheratite erpetica, presenza di opacità cicatriziali corneali e strie di Vogt marcatamente evidenti alla lampada a fessura e verificate anche con micro-

scopia confocale per la tipizzazione dell'orientamento; in tal caso sono da escludere dal trattamento soggetti con strie di Vogt a distribuzione o pattern reticolare o intrecciate evidenti all'esame della cornea mediante microscopia confocale(6). Questa ultima rappresenta una controindicazione relativa da noi evidenziata per la prima volta a livello internazionale(6), per il potenziale sviluppo di haze corneale post-operatorio; sono da escludere dal trattamento anche pazienti con grave occhio secco, infezioni corneali in atto e malattie autoimmuni concomitanti(4).

I parametri da tenere in considerazione per valutare la progressione del cheratocono sono clinici e strumentali, in particolare quelli topografici (occorre valutare con attenzione le mappe topografiche differenziali, gli indici cheratorefrattivi con particolare riguardo all'indice di simmetria supero-inferiore - SI e all'indice di asimmetria di superficie SAI), aberrometrici di superficie anteriore (l'aberrazione comatica in particolare si colloca tra i dati più sensibili e precocemente variabili) e posteriore della cornea e pachimetrico-topografici (variazione dello spessore corneale centrale e del thinnest point). Inoltre, data la possibile evoluzione del dato biometrico (lunghezza assiale), vanno valutate, con molta attenzione, le modificazioni refrattive che possono insorgere con il normale accrescimento del paziente. Una condizione irrinunciabile è rappresentata dallo spessore minimo corneale "thinnest point", rilevabile mediante mappe pachimetriche ottiche dettagliate (Orbscan™, Pentacam™, Visante OCT™) che permettono rilevazioni precise anche in cornee non perfettamente trasparenti. Lo spessore corneale minimo, per la tecnica di cross linking standard con rimozione dell'epitelio (epi-off), non deve mai essere inferiore ai 400 µm. Questo valore è dettato dal mantenimento dei parametri di sicurezza (emersi dagli studi ex-vivo di Dresda(9,10), valutato e confermato, per la prima volta a livello internazionale presso la Clinica Oculistica di Siena, dal Prof Aldo Caporossi, attraverso gli studi effettuati, con la microscopia confocale e la tele-termometria, in vivo (11)). I risultati di tali studi hanno dimostrato la sicurezza del trattamento e confermano l'estensione del trattamento ai due terzi anteriori della cornea, risparmiando le cellule endoteliali, la lente e la retina.

Un ultimo, sofisticato, parametro in grado di fornirci indicazioni sul cambiamento del cheratocono in esame è l'analisi tissutale ottenuta mediante la microscopia confocale che ci fornisce informazioni micromorfologiche in vivo confrontabili nel tempo e soprattutto utili a chiarire la presenza-assenza di fattori di rischio per lo sviluppo di haze post-operatorio (presenza di strie reticolari, cheratociti iperattivi, edema subclinico, etc)(3,5,6,10,15).

Un discorso a parte va fatto per le Ectasie post-LASIK in rapida evoluzione in cui biomeccanicamente l'effetto cross-linkante può risultare particolarmente utile(13). Infatti, laddove il dato pachimetrico lo consenta, un precoce cross-linking può evitare o dilazionare il crollo refrattivo spesso presente in tali condizioni iatrogene. La mancanza di uno spessore minimo di 400 micron

risulta un limite a questa applicazione la cui tenuta nel tempo è in corso di investigazione data la ridotta importanza del lembo in termini biomeccanici. Altra indicazione emergente per il crosslinking riboflavina UVA è l'ectasia post Cheratotomia Radiale, attualmente in corso di investigazione, così come l'impiego di questa metodica nelle ulcere corneali e nel melting.

In conclusione, di fronte alla diagnosi di cheratocono, l'età del paziente assume un ruolo rilevante nella decisione terapeutica in relazione alla diversa prognosi. L'obiettivo primario del cross-linking è la stabilizzazione della cornea possibilmente prima che si instaurino le modificazioni refrattive e pachimetriche da evoluzione che rendono insoddisfacente il risultato del trattamento. Peraltro non esistono controindicazioni assolute legate alla forma della cornea, tuttavia l'indicazione nasce dal miglior risultato funzionale-anatomico ottenibile rispettando tali parametri. Oltre all'età il parametro più importante, per il cross linking standard epi-off, è dato dal rispetto rigoroso dello spessore raccomandato (thinnest point > 400 micron) che è fondamentale per preservare l'endotelio corneale dalla radiazione UVA a seguito degli studi di base e alle valutazioni confocali in vivo da noi eseguite(3,5,8). Gli studi più recenti di microscopia confocale da noi eseguiti e pubblicati(5,14) stanno fornendo indicazioni su alcuni possibili meccanismi biologici di funzionamento del crosslinking, attraverso l'individuazione di bande collagene più compatte ed iper-riflettenti che suggeriscono la presenza di un collagene crosslinkato di nuova sintesi, diversamente strutturato e più compatto. Studi biochimici di gel elettroforesi¹⁰ hanno evidenziato nella cornea crosslinkata la presenza di una banda collagene ad alto peso molecolare, resistente al calore e alla digestione enzimatica, non evidenziabile nelle cornee non trattate. Tali evidenze scientifiche(5,12) sono state messe in correlazione alla stabilità a lungo termine del crosslinking registrata fino ad oggi(13).

Tra le novità e le prospettive future c'è il Cross linking trans-epiteliale o TEXTL, che rappresenta un importante passo avanti nella terapia della malattia cheratoconica. La tecnica è in fase di sperimentazione (studio Siena C.L.E.S.: Cross Linking Evolution Study), presso la UOC di Oculistica di Siena diretta dal Prof. Aldo Caporossi e si propone di valutare i vantaggi offerti da questa nuova tecnica, che vuole affiancare ma non sostituire il crosslinking standardizzato con rimozione dell'epitelio.

BIBLIOGRAFIA

1. Caporossi A, Baiocchi S, Mazzotta C, Traversi C, Caporossi T. Parasurgical therapy for keratoconus by riboflavin-ultraviolet type A induced cross-linking of corneal collagen: preliminary refractive results in an Italian study. *J Cataract Refract Surg* 2006 May;32:837-845.
2. Caporossi A., Traversi C., Simi C., Mazzotta C.: "Review of corneal transplant role of Eye Banks and introduction of the artificial cornea AlphaCor in Italy". *Reviews, Minerva Ophthalmol* 2004, 46: 41-53.
3. Mazzotta C., Balestrazzi A., Traversi C. et al. Treatment of progressive keratoconus by riboflavin-UVA-induced cross-linking of corneal collagen: ultrastructural analysis by Heidelberg Retinal Tomograph II in vivo confocal microscopy in humans. *Cornea* 2007 May;26(4):390-397.
4. Caporossi A., Mazzotta C., Baiocchi C. et al: "Keratoconus Therapeutic Guidelines based on staging: from CrossLinking to Penetrating Keratoplasty". *Reviews, Minerva Ophthalmol* 2008, 50: 43-48
5. Mazzotta C. MD, PhD, Traversi C. MD, PhD, Baiocchi S. MD, Caporossi O. MD, Bovone C. MD, Sparano M. C. MD, Balestrazzi A. MD, Caporossi A. MD, PhD. Corneal Healing after Riboflavin UV-A Collagen Cross-Linking determined by Confocal Laser Scanning Microscopy In vivo: Early and Late Modifications. *American Journal Ophthalmology* 2008.
6. Mazzotta C, Balestrazzi A, Baiocchi S, Traversi C, Caporossi A. Stromal haze after combined riboflavin-UVA corneal collagen cross-linking in keratoconus: in vivo confocal microscopic evaluation. *Clin Experiment Ophthalmol* 2007 Aug;35(6):580-2.
7. Wollensak G, Spoerl E, Wilsh M, Seiler Th. Endothelial cell damage after Riboflavin – Ultraviolet – A treatment in the rabbit. *J Cataract Refract Surg* 2003 Sep;29:1786-1790.
8. Spoerl E, Mrochen M, Sliney D, Trokel S, Seiler T. Safety of UVA-riboflavin cross-linking of the cornea. *Cornea* 2007 May;26(4):385-9.
9. Mencucci R, Mazzotta C., Rossi F, Ponchiotti C, Pini R, Baiocchi S, Caporossi A, Menchini U. Riboflavin and ultraviolet A collagen crosslinking: in vivo thermographic analysis of the corneal surface. *J Cataract Refract Surg.* 2007Jun;33(6):1005-8.
10. Mazzotta C., Traversi C, Baiocchi S., Sergio P., Caporossi T., Caporossi A.: conservative treatment of keratoconus by riboflavin-uva-induced cross-linking of corneal collagen: qualitative investigation of corneal epithelium and subepithelial nerve plexus regeneration by in vivo hrt ii system confocal microscopy in humans. *European Journal of Ophthalmology*, vol 16 no. 4; pp. 530-535, jul-aug 2006.
11. Hafezi F, Kanellopoulos J, Wiltfang R, Seiler T. Corneal collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet A to treat induced keratectasia after laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg.* 2007 Dec;33(12):2035-40.
12. Wollensak G, Redl B. Gel electrophoretic analysis of corneal collagen after photodynamic cross-linking treatment. *Cornea* 2008 Apr;27(3):353-6.
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. Mazzotta C, Caporossi T, Denaro R, Bovone C, Sparano C, Paradiso A, Baiocchi S, Caporossi A. Morphological and functional correlations in riboflavin UV A corneal collagen cross-linking for keratoconus. *Acta Ophthalmol.* 2010 Apr 23.