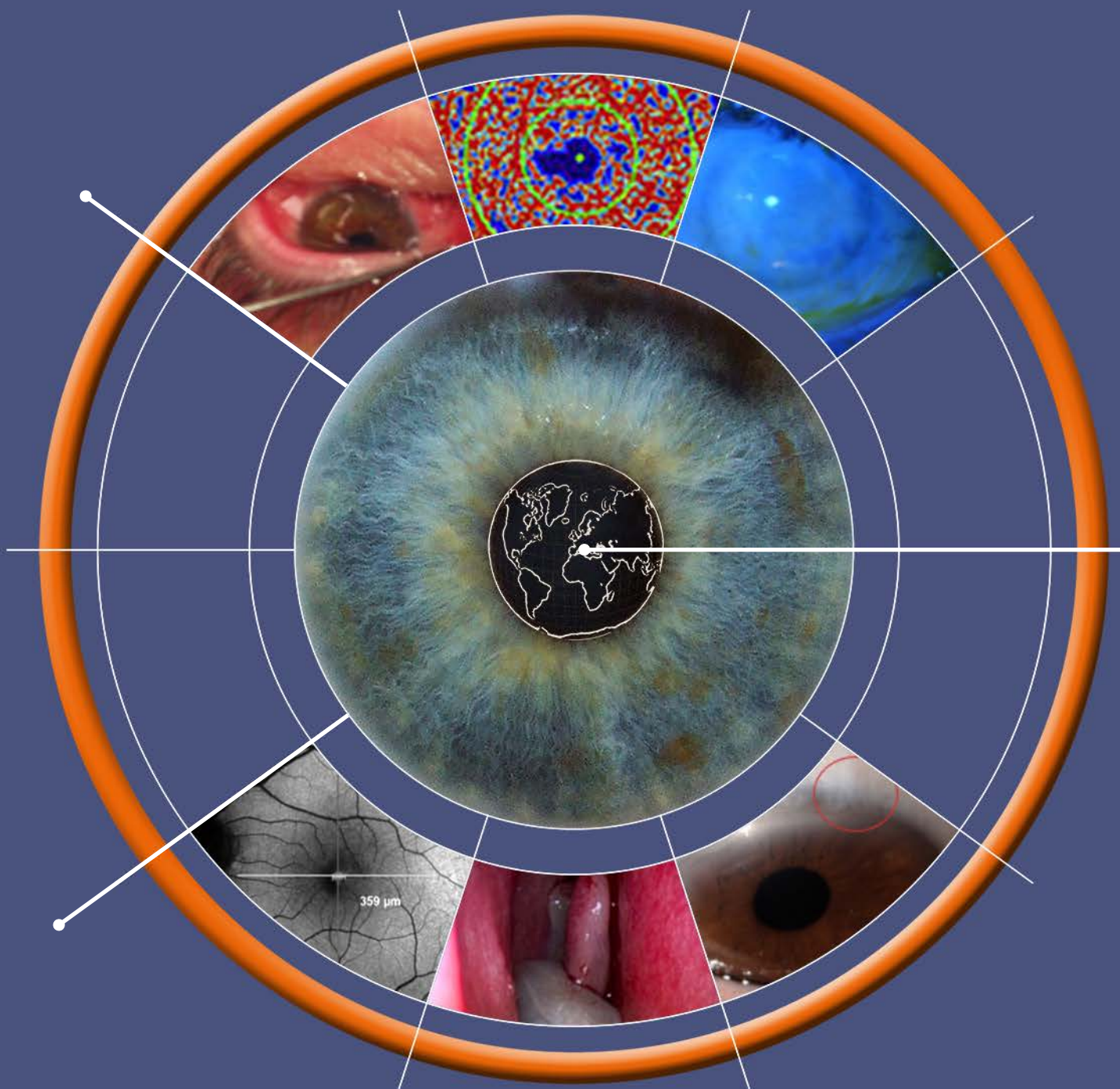


oftalmologia

Anno XI - 2020

domani

III Quadrimestre
Settembre-Dicembre 2020



s o m m a r i o

EDITORIALE P. 3

di Antonio Rapisarda

AGGIORNAMENTO COVID-19 SITUATION UPDATE WORLDWIDE P. 4

COSA LEGGERETE IN QUESTA EDIZIONE P. 7

di Antonio Rapisarda

LE INTERVISTE DI OFTALMOLOGIA DOMANI P. 10

Intervista alla Dott.ssa Simonetta Morselli

a cura di Amedeo Lucente

MALATTIE RETINICHE P. 14

Biomarkers & Spessore Retinico

di Amedeo Lucente

MICROSCOPIA CONFOCALE P. 26

Tecnica SLET nel deficit di cellule staminali limbari

di Emilio Pedrotti, Mariacarmela Ventura, Tiziano Cozzini, Adriano Fasolo, Erika Bonacci, Giovanlorenzo Pastore, Giorgio Marchini

IMAGING PER LA MISURAZIONE DEL DIAMETRO DEL FORO P. 33

Fori maculari lamellari: relazione tra blue fundus autofluorescence e optical coherence tomography

di Roberto dell'Omo, Mariaelena Filippelli, Serena De Turrì, Pasquale Napolitano, Gianni Virgili, Ferdinando Bottoni, Ciro Costagliola

SEMEIOTICA STRUMENTALE DELLE VIE LACRIMALI III PARTE P. 39

La diagnostica endoscopica

di Giuseppe Vadalà, Giorgio O. Gallone

CXL UP TO DATE P. 51

CXL accelerato basato sulla pachimetria, il "nomogramma M" per il trattamento standardizzato delle cornee sottili

di Cosimo Mazzotta

oftalmologiadomani

Anno XI - III Quadrimestre

Settembre-Dicembre 2020

Soci Fondatori:

Costantino Bianchi

Antonio Rapisarda

Direttore

Responsabile:

Antonio Rapisarda

Vice Direttore:

Amedeo Lucente

Scientific Board:

Romeo Altafini

Paolo Angeletti

Aldo Caporossi

Odile Correnti

Stefano Fichera

Michele Figus

Emilia Gallo

Daniela Lombardo

Tommaso Salgarello

oftalmologiadomani@jaka.it

**Progetto grafico
e impaginazione:**

Jaka
CONGRESSI

Jaka Congressi

Via della Balduina, 88

00136 Roma

www.jaka.it

Art

Simona Pelosi

s.pelosi@jaka.it

Editoriale di fine anno

Il redazionale di fine anno di un giornale è onore ed onere che per consuetudine viene affidato al Direttore. Rispettando questa tradizione esprimerò alcune mie riflessioni.

Gli argomenti scientifici trattati da Oftalmologia Domani sono stati tanti, ben approfonditi dagli autori, ampiamente valutati dalla redazione e premiati dai lettori con un elevatissimo numero di contatti che la rivista ha ricevuto. Un premio questo per il lavoro del comitato di redazione capitanato dall'instancabile Vice Direttore Amedeo Lucente. A loro va il mio più sentito ringraziamento per gli sforzi profusi.

In assenza di relazioni sociali, nessun congresso a causa della pandemia, il rapporto fra colleghi si è diradato e ridotto alle possibilità che il web consente.

La tecnologia mediatica è stata, però, da qualcuno utilizzata non per contattare, consigliare, riunire gli oftalmologi italiani, ma per isolarsi, dividere e pontificare.

Faccio riferimento, certamente non velato, ai video con i quali, in nome della SOI, il Presidente ha inondato la nostra posta elettronica.

Attraverso questi ha informato(!), in maniera assolutamente parziale, la comunità oftalmologica in merito alle sue molteplici e contraddittorie decisioni; tra tutte spicca la sospensione della maggioranza dei componenti del Consiglio Direttivo. Colpevoli, questi ultimi, di non essere più d'accordo con la gestione dittatoriale da lui esercitata. Ai dissidenti ha anche impedito l'accesso alla sede sociale e la possibilità di replica attraverso la piattaforma mediatica della società utilizzandola, di fatto, non come strumento collettivo, ma personale.

Abbiamo raggiunto il ridicolo quando i dissidenti (sembra di muovermi nell'URSS di qualche decennio fa!) sono stati accusati di attività sovversiva nei confronti della SOI.

Tra le tante accuse: la collaborazione con UICI, Unione Italiana Ciechi e Ipovedenti. Come mai il Presidente della società degli oculisti non approva la vicinanza ad una associazione di pazienti? Non è forse eticamente dovuta da parte dei medici oculisti? Il tutto non è degno di una Società Scientifica nonché Ente Morale, come spesso ricorda ai Soci quale manto di una verginità solo sua.

Il tempo scioglierà i nodi della querelle legale nella quale, nostro malgrado, siamo stati coinvolti.

Ci ha definito "inutili c....." con il turpiloquio che gli è abituale.

L'obiettivo di questo modo di fare è evidente: arrivare alle prossime elezioni per il rinnovo delle cariche sociali della nostra società, e sottolineo NOSTRA, fissate per novembre 2021 senza concorrenti che possano intralciare i suoi disegni politici e la sua sete di potere. Lo conosco da quando lo "battezzai" invitandolo alla sua prima chirurgia in diretta a Siracusa nei primi anni '90. Da allora tanta acqua è passata sotto i ponti. Ha dimostrato sino a qualche anno fa di voler costruire una oftalmologia italiana degna del rispetto internazionale. Da qualche tempo ha trascurato la base nazionale, ignorando i suggerimenti ed i consigli che da più parti gli sono giunti.

Il ruolo di Presidente a vita non esiste, le società come la SOI rappresentano una comunità, e le comunità cambiano; le cariche sociali devono alternarsi, adeguarsi ai tempi e alle generazioni.

Abbiamo bisogno di una SOI unita e non divisa, con una classe dirigente formata da gente di esperienza, non ancorata alla poltrona, ma anche da giovani che abbiano una visione innovativa del futuro.

Tante sono le sfide che la nostra professione ci chiama ad affrontare tutti i giorni; le vicende interne alla SOI rischiano di creare un abisso tra la reale essenza della nostra professione e la società che ci riunisce e rappresenta.

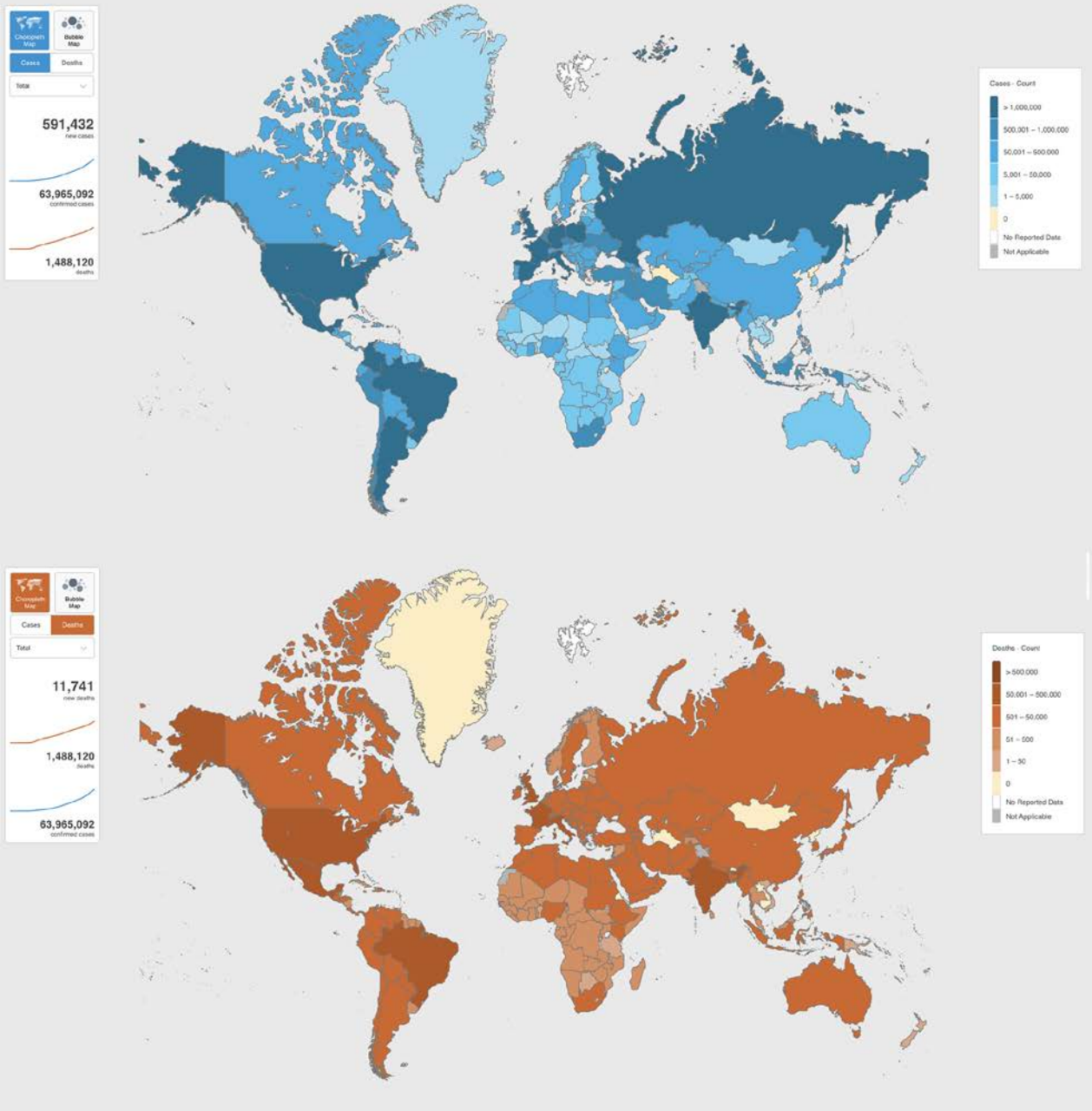
La scienza e l'etica, non altro, dovrebbero essere al centro dei nostri dibattiti.

Concludo queste mie riflessioni con gli auguri ai nostri lettori ed a tutti gli Oculisti Italiani.

Buon Natale e sereno Anno Nuovo

*Il Direttore
Antonio Rapisarda*

Aggiornamento COVID-19 situation update worldwide, alla data del 3 Dicembre 2020

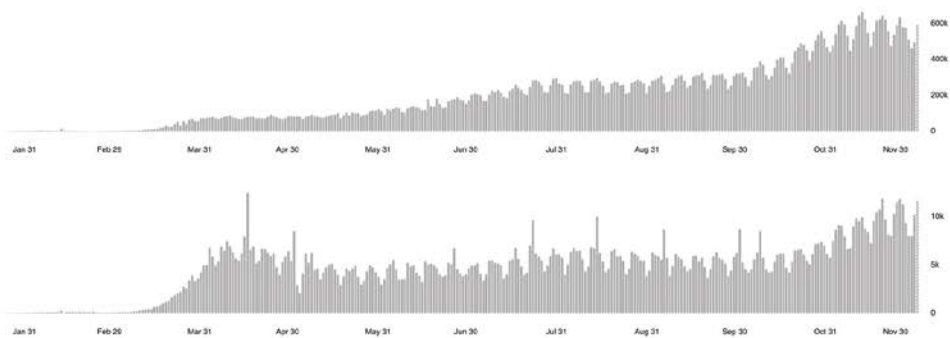


Globally, as of 4:37pm CET, 3 December 2020, there have been 63.965.092 confirmed cases of COVID-19, including 1.488.120 deaths, reported to WHO.

Global Situation

63,965,092
confirmed cases

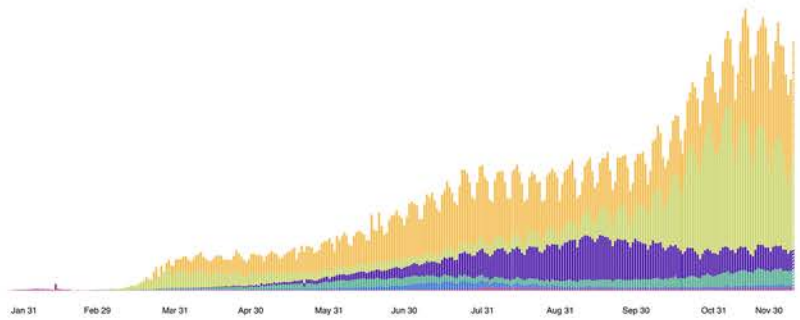
1,488,120
deaths



Source: World Health Organization
Data may be incomplete for the current day or week.

Situation by WHO Region

Americas	27,145,021 confirmed
Europe	19,291,035 confirmed
South-East Asia	10,925,282 confirmed
Eastern Mediterranean	4,184,748 confirmed
Africa	1,520,631 confirmed
Western Pacific	897,634 confirmed



Source: World Health Organization
 Data may be incomplete for the current day or week.

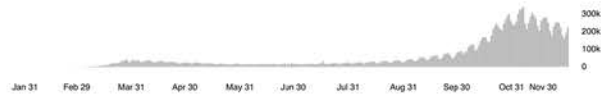
Americas

27,145,021 confirmed cases



Europe

19,291,035 confirmed cases



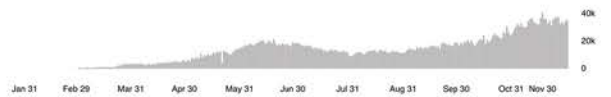
South-East Asia

10,925,282 confirmed cases



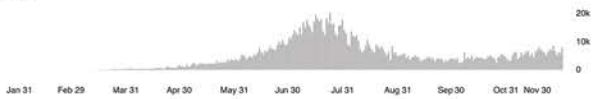
Eastern Mediterranean

4,184,748 confirmed cases



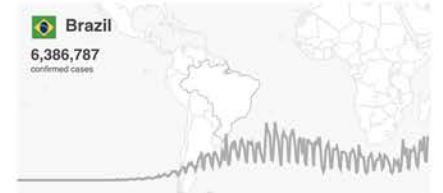
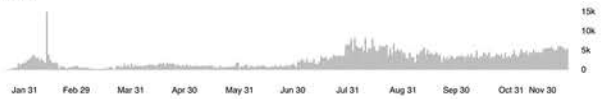
Africa

1,520,631 confirmed cases

















































Western Pacific

897,634 confirmed cases



Situation by Country, Territory & Area

Name	Cases - cumulative total \Downarrow	Cases - newly reported in last 24 hours	Deaths - cumulative total	Deaths - newly reported in last 24 hours
Global	63.965.092	591.432	1.488.120	11.741
 United States of America	13.563.731 	177.976	268.482	2.439
 India	9.534.964 	35.551	138.648	526
 Brazil	6.386.787 	50.909	173.817	697
 Russian Federation	2.375.546 	28.145	41.607	554
 France	2.205.212 	13.938	53.455	309
 Spain	1.665.775 	4.880	45.784	46
 The United Kingdom	1.659.260 	16.170	59.699	648
 Italy	1.641.610 	20.709	57.045	684
 Argentina	1.432.570 	8.037	38.928	198
 Colombia	1.324.792 	7.986	36.934	168
 Mexico	1.122.362 	8.819	106.765	825
 Germany	1.106.789 	22.046	17.602	479
 Poland	1.013.747 	13.823	18.208	609
 Iran (Islamic Republic of)	989.572 	13.621	48.990	362
 Peru	965.228 	1.623	36.031	65
 South Africa	796.472 	4.173	21.709	65
 Ukraine	772.760 	14.496	12.960	243
 Belgium	582.149 	3	16.911	15
 Iraq	556.728 	1.961	12.340	34
 Chile	553.898 	1.034	15.438	8
 Indonesia	549.508 	5.533	17.199	118
 Czechia	533.042 	4.568	8.515	108
 Netherlands	531.794 	4.917	9.491	66
 Turkey	513.656 	6.690	14.129	193

Cosa leggerete in questa edizione



Antonio Rapisarda

Con l'edizione del terzo Quadrimestre, Oftalmologia Domani termina l'anno editoriale 2020. Nessuno poteva immaginare i tempi che stiamo vivendo, l'esperienza di una pandemia così terribile ed inarrestabile, senza apparenti immediati ed efficaci rimedi. Il Covid-19 ha sconvolto la vita di tutti, stravolto le nostre abitudini di vita, deviato inevitabilmente il corso della storia. Distanziati non solo fisicamente ma anche culturalmente per il rinvio di tanti Congressi e riunioni scientifiche, la pandemia non ha permesso nessun incontro, lo scambio di opinioni, un'affettuosa stretta di mano. La Rete ha rimediato solo in parte a tanti disagi, permettendo contatti culturali virtuali, con immagini, aggiornamenti e tanti interessanti Webinar. Oftalmologia Domani anche quest'anno ha fatto la sua parte. Con le tre edizioni quadrimestrali, ricche di articoli, focus ed efficaci rivisitazioni, tanti prestigiosi colleghi hanno portato la loro esperienza, il loro contributo, offrendoci originali ricerche, approfondite considerazioni. Con disinteressata vicinanza e spontaneo affetto tutti hanno risposto positivamente al nostro invito. Anche questa volta la nostra Rivista si è prodigata a favore dell'aggiornamento scientifico con un panorama di elevato livello e, nello stesso tempo, utilmente fruibile da tutti. In questa terza edizione, dopo la lettura dell'elegante intervista di Amedeo Lucente alla dottoressa Simonetta Morselli che dà inizio, come al solito, ad ogni nuovo numero di Oftalmologia Domani, leggerete temi trattati con singolare acume, comprovata didattica, particolare cura espositiva.

- **Amedeo Lucente**, oftalmologo inizialmente reclutato al mondo editoriale dal compianto e grande anfitrione della divulgazione scientifica italiana Costantino Bianchi, e subito da lui messo in Redazione, nel suo consueto articolo di fondo tratta dei biomarkers in medicina ed oftalmologia. L'articolo prende spunto dall'importanza clinica crescente degli indicatori biologici, e passa in rassegna brevemente la letteratura più significativa sull'argomento. In particolar modo evidenzia il valore dello spessore retinico come biomarker in relazione all'acuità visiva. Una disamina degli studi in letteratura è passata al vaglio, focalizzando l'attenzione su come l'imaging OCT/OCTA possa fornire risposte valide per un'efficace valutazione funzionale del dato strettamente strutturale. È opinione non solo dell'autore, che individuare possibili markers rilevabili con OCT/OCTA, predittivi per l'acuità visiva, specie nel follow-up delle più importanti e diffuse maculopatie, sia un parametro utile, efficace in fase diagnostica e nelle decisioni terapeutiche. Anche il timing chirurgico intraoperatorio ne troverebbe importanti vantaggi, indispensabili assist. Passare da un'interpretazione statica ad una lettura dinamica e funzionale dell'imaging sembra oggi possibile, a portata di mano. Amedeo ci rivela i percorsi di questo nuovo cammino ancora agli albori, fornendoci una chiave di lettura alternativa del dato angio-tomografico, evidenziando possibili relazioni tra imaging retinico strutturale e risvolti funzionali in corso di aumentato spessore maculare.

- **Emilio Pedrotti** con la Scuola del Professor Giorgio Marchini dell'Università di Verona ci propone

un'interessante articolo sul deficit di cellule staminali corneali limbari. Questa grave patologia della superficie oculare è caratterizzata da insufficienza delle cellule staminali dell'epitelio corneale al limbus e necessita di accurata diagnosi e specifica indicazione chirurgica. La tecnica operatoria, dettagliatamente descritta, viene passata al vaglio per determinarne la validità nei casi difficili. La SLET, Simple limbal epithelial transplantation, sia clinicamente che con microscopia confocale in vivo, è stata utilizzata nei 10 pazienti arruolati, seguiti fino al 12° mese di follow-up. Le cellule dendritiche corneali, marker di attività flogistica corneale, quantificate per testare il grado d'infiammazione, sono state rilevate per guidare la terapia steroidea nel post-operatorio. La microscopia confocale utilizzata nel loro studio è risultata fondamentale, strumento indispensabile in tutte le fasi della patologia, dalla diagnosi al management della SLET. Con una disamina sempre puntuale e rigorosa Emilio ci propone, in ogni fase dello studio, uno spaccato completo ed esaustivo su questa temibile patologia corneale, ritenuta spesso non trattabile, senza alternative. Figlio d'arte, Emilio ha scelto la strada universitaria, mantenendo tuttavia integro l'energico piglio chirurgico dell'illustre padre Massimo Pedrotti già primario di Vicenza, confermandosi oftalmologo di grande esperienza, di estrema maestria chirurgica.

- **Roberto dell'Omo** con la Scuola del Professore **Ciro Costagliola** dell'Università degli Studi del Molise, ci propone uno studio su 72 pazienti (72 occhi) affetti da foro maculare lamellare. I 72 occhi studiati presentavano una membrana epiretinica standard e/o una proliferazione epiretinica all'esame OCT, con un'area di aumentata fluorescenza all'indagine blue fundus autofluorescence B-FAF. Partendo dagli studi di **John Donald MacIntyre Gass (1928-2005)**, oftalmologo di fama mondiale, nato in Canada, che ha svolto la sua professione al **Bascom Palmer Eye Institute**, Università di Miami in Florida US, gli autori studiano la relazione tra B-FAF e OCT in presenza di occhi con foro lamellare. La fine indagine semeiologica mette a confronto le due possibilità d'imaging, con un crescendo di dati e con obbiettività apprezzabili. Valutare la relazione tra le misurazioni delle aree retiniche con aumentata autofluorescenza corrispondenti al foro, e le misurazioni con OCT, è stato l'obbiettivo dello studio proposto. Emerge una forte correlazione tra i diametri dei fori lamellari con B-FAF e misurazione ottenuta con OCT a livello dello strato plessiforme esterno OPL. Gli autori

concludono che la perdita o il dislocamento di tessuto retinico potrebbe essere responsabile dell'incremento di segnale B-FAF osservato nel foro lamellare associato a membrana epiretinica standard e/o a proliferazione gliale più spessa. Come **Emilio Pedrotti**, **Roberto** è figlio d'arte. Anche lui ha scelto rispetto al padre, l'amico **Ermanno dell'Omo Maestro SOI d'Oftalmologia** e già primario di Larino, la strada universitaria. Un grazie di cuore anche a **Ciro Costagliola** che guida con prestigio la Scuola Universitaria del Molise per la bella lezione di semeiotica strumentale. Una fine diagnostica e una migliore comprensione fisiopatologica degli eventi retinici sono possibili conoscendo a fondo i nuovi device e scegliendo e sfruttando intelligentemente le loro molteplici performance. Non sempre è facile saper utilizzare le performance dei device e interpretare giustamente i dati rilevati. Il giovane **Roberto dell'Omo** credo sia riuscito nell'intento e ritengo che, nello studio proposto, queste prerogative siano state applicate con rigorosa maestria.

- **Giuseppe Vadalà** completa con questa terza parte il viaggio nel mondo dell'epifora. La semeiotica strumentale, che si avvale della tecnica endoscopica, è parte integrante e spesso risolutiva nella diagnostica del paziente affetto da lacrimazione. Il sistema lacrimale posto tra il lago congiuntivale e le fosse nasali è stato indagato da **Giuseppe** compiutamente, in ogni suo aspetto. In questa terza puntata le tecniche endoscopiche, trans-canalicolari ed endonasali, sempre con estrema maestria, sono passate al setaccio. L'endoscopia fornisce utili elementi per eseguire una diagnosi differenziale, per pianificare un adeguato trattamento in presenza di stenosi. La tecnica ha il vantaggio di essere ripetibile, ben sopportata dal paziente con l'ausilio di anestesia locale, instillazione di lidocaina, per l'esplorazione del primo tratto o, con minima anestesia loco-regionale, per l'intero sistema di deflusso. Con l'osservazione delle strutture canalicolari tramite monitor, la semeiotica delle vie lacrimali così si eleva di tono, equiparandosi a pieno titolo a indagine ecografica maggiore, come l'endoscopia delle vie digerenti. Concludendo il suo articolo, che sicuramente incontrerà come gli altri il favore dei nostri lettori, l'autore non trascura le cause nasali dell'epifora, spesso sottovalutate. Ringrazio **Giuseppe** e i suoi collaboratori, sempre all'avanguardia in questa patologia, riferimento d'eccellenza in questo settore, per il "trattico d'auto-re" proposto alla nostra Rivista, di vero valore, di sicuro riscontro.

- **Cosimo Mazzotta** scrive, con disinvoltura e maestria, sul trattamento del cheratocono. Il Crosslinking, o Reticolazione Foto-Dinamica del Collagene Corneale, ha rivoluzionato la gestione conservativa dei disturbi ectasici corneali progressivi primari e secondari. Come fa rilevare Cosimo, prima dell'avvento della procedura CXL, non esisteva alcun trattamento conservativo per l'ectasia corneale. Il 20 % dei pazienti con Kcono, infatti, progrediva verso una cheratoplastica lamellare o perforante. Fino ad oggi non erano disponibili metodi standardizzati per il trattamento delle cornee sottili. Il "*nomogramma M*", descritto e inventato dall'Autore, offre finalmente il vantaggio di un metodo uniforme per cornee ectasiche di spessore minimo tra 250 μm e 400 μm , garantendo una penetrazione del trattamento sufficiente ed efficace foto-ossidativa, con una gestione standardizzata nella maggior parte delle cornee. Sempre più di frequente si incontrano infatti cornee molto sottili sotto i 400 μm . Oltre che nel 5-10% degli occhi affetti da KC, si trovano assottigliamenti pericolosi in ectasie iatrogene Post LASIK, SMILE, PRK, in alcune degenerazioni marginali pellucide e in cornee con shift ipermetropici. Tenendo conto che molti pazienti in stadio avanzato giungono alla cheratoplastica con almeno 5 anni di ritardo, e che una

diagnosi precoce ne ridurrebbe sicuramente il numero, il Crosslinking (CXL) convenzionale con Riboflavina UV-A e rimozione dell'epitelio Epi-OFF, ha già ridotto i trapianti di cornea dal 30% al 50%. La nuova procedura di reticolazione foto-dinamica accelerata del collagene stromale o ad alta radianza ACXL, guidato dalla pachimetria, che Mazzotta propone, largamente confermato e approvato in ambito internazionale, risolve la tempistica del CXL convenzionale, supera il limite dello spessore minimo di 400 μm , mantenendo un buon profilo di sicurezza e garantisce un'ottima efficacia. Cosimo, con i suoi innovativi ed originali studi, si conferma leader in questa patologia, con un profilo e un "*piglio scientifico*" internazionale di primissimo piano. Il dottor Mazzotta ha ricevuto nel 2019 a Parigi, al Congresso ESCRS, il prestigioso riconoscimento "*Keratoconus Award Joseph Colin*". Grazie Cosimo per aver offerto a tanti pazienti la possibilità di questa nuova ed efficace terapia e, ai nostri lettori, quest'utile aggiornamento.

Buona lettura!

Antonio Repisarda

Dopo due anni d'interviste a colleghi importanti in lungo e in largo per la nostra penisola, continuiamo a incontrare e conoscere altri Oftalmologi, riferimento sicuro dell'eccellenza dell'Oculistica Italiana. Dopo questi trascorsi, tra domande provocatorie, sempre affettuose, di palese vicinanza, e risposte sincere che hanno evidenziato uno spaccato umano a volte sconosciuto, con percorsi culturali e scientifici di sicuro pregio, la Rivista continua la conoscenza del mondo dell'Oftalmologia Italiana che conta, che fa scuola, che produce scientificamente. Avvicineremo nuovi colleghi testimoni del loro successo professionale e delle strutture pubbliche o private che dirigono. La condivisione di esperienze e carriere di tanti leader irrobustisce lo spirito, specie dei giovani, nell'affrontare gli ostacoli che inevitabilmente incontreranno nel percorso professionale. Aspetti organizzativi e iter professionali tanto diversi sono emersi dai colloqui finora realizzati. I contatti sono stati sempre amichevoli, condivisi, a volte con toni affettuosi, incipit tutti distintivi del nostro agire, seguendo le originali ispirazioni e propositi dei fondatori della Rivista. Antonello Rapisarda ha condiviso questi percorsi fin dall'inizio e ora, con nuovi stimoli propulsivi e rinnovata forza d'idee, continua l'iniziale cammino intrapreso con brio speculativo e scientifico rivolto verso il futuro, con animo sempre indomito. Spesso, nelle risposte degli intervistati, sono emersi aspetti, aneddoti, vicende, opportunità culturali del tutto personali, vissute con impegno e solerzia non comune. I loro racconti ci hanno condotto attraverso percorsi professionali mai scontati o troppo facili, con ascese ma anche inaspettate pause. Gli aspetti umani e il carattere dei protagonisti delle nostre interviste sono emersi prepotenti nelle pieghe delle loro risposte, con toni di partecipazione, espressioni sempre dirette, asciutte, mai affettate, con positivi riscontri dai nostri lettori. E' questo il vero mondo dell'Oftalmologia Italiana: un panorama di professionalità variegato, propositivo, pronto al servizio verso la comunità, favorevole alla scienza, alla ricerca, aperto alle novità, animato da spirito critico e costruttivo, senza altre finalità se non la salute dei pazienti. Dagli intervistati mai



arrendevolezza, mai alcuna intransigenza tranne che a favore dell'onestà intellettuale, qualità imprescindibile e inalienabile per un corretto e proficuo percorso di crescita condivisibile. Le divisioni che stiamo vivendo in questo triste periodo della storia dell'Oftalmologia Italiana inevitabilmente indeboliscono tutti, aumentano le distanze, ostacolano il dialogo, sempre auspicabile, irrigidiscono le posizioni e le contrapposizioni, fanno scendere il dibattito nella ricerca della verità, specialmente tra professionisti di livello. Ogni intemperanza verbale o scritta dovrebbe, in ogni caso, essere sempre bandita. Se a volte nella foga della discussione si oltrepassano i limiti del decoro per irrimediabile veemenza oratoria, subito dopo, calmati gli animi, si chiede venia, si rettifica ogni scomposto atteggiamento, si rimodula il proprio dire nella sostanza e non solo nei toni. E' esperienza comune che ammettere e correggere un proprio errore diventa segno di rinnovata integrità culturale ed etica. Nessuna ragione, anche la più valida e documentata, può giustificare l'utilizzo d'invettive, ingiurie o tantomeno autorizza ad esternare personali maldicenze. I contrasti umani, specie tra persone di scienza che per anni hanno condiviso percorsi ed esperienze comuni, non possono scadere in riprovevole ripugna. Questa stagione che ha provocato danno all'immagine della SOI deve finire. Un nuovo percorso di condivisione, personale e scientifico, pur con i necessari distinguo, deve necessariamente inaugurarsi.

L'Oftalmologia Italiana merita al più presto di voltare pagina, volare alto, continuare nel cammino etico e scientifico di elevato profilo finora percorso, anche rinnovando collaborazioni internazionali, nel massimo rispetto personale, e con lo stile che la nostra storia associativa impone a noi tutti.



Intervista alla D.ssa Simonetta Morselli

Direttore Struttura Complessa Oculistica, Ospedale San Bassiano, Bassano del Grappa (VI)

Grazie dottoressa Simonetta Morselli a nome di tutta la Redazione, in particolar modo del Direttore Antonello Rapisarda per quest'intervista alla nostra Rivista, da undici anni esperienza editoriale aperta sul mondo dell'Oftalmologia.



Per iniziare nel modo più opportuno questo colloquio che vede fruitori privilegiati i nostri lettori, alfa e omega di ogni sforzo editoriale, come prima domanda non posso trascurare che quest'intervista è rivolta ad una collega. Ha incontrato nella sua formazione professionale particolari difficoltà perché donna?

Ovviamente, come potrete immaginare ho incontrato molte difficoltà, anche perché io volevo fare il chirurgo e ho iniziato a “voler operare” nel lontano 1992, quando mi sentii dire “ecco arriva una donna in sala operatoria, porterà una sfortuna (non era proprio questa la parola) incredibile”.

Come ha superato gli ostacoli fino a ricoprire il ruolo di Direttrice della Struttura Complessa di Oculistica nell'Ospedale di Bassano del Grappa e, ad interim, del Dipartimento di Oculistica dell'Alto Vicentino? E' tanto più faticoso per un'Oftalmologa?

Con la forza della conoscenza e dimostrando di valere “10 volte più di un uomo” con i fatti in sala operatoria e sul campo.

Credo che oftalmologa o altra specialità, sia uguale...

Sicuramente è argomento molto sentito discutere il ruolo dell'attività chirurgica affidata al gentil sesso. Senza inoltrarci nel “campo minato” divisivo e fuorviante della “teoria del gender” o “gender theory”, vuole partecipare ai nostri lettori l'esperienza di “donna al comando” in Oftalmologia? Se le difficoltà nella formazione professionale sono state certamente per tutti ardue ed irte di ostacoli, in chirurgia le cose si complicano, gli inconvenienti diventano più gravosi, specie per una donna. Com'è stato il suo percorso formativo?

La cosa essenziale è dimostrare la superiorità scientifica in modo da farsi rispettare, ma credo questo sia comunque

qualità utile per un Capo anche maschio e che in questo caso il “sesso” non conti nulla.

Ho iniziato a Verona “scegliendomi” il maestro, che dapprima scettico, ha poi avuto delle grosse soddisfazioni poiché è come un padre che gode dei successi del figlio e se impara da lui qualcosa, ne prova piacere e soddisfazione. A Verona mi sono scelta il Dr. Roberto Bellucci, che poi diventò anche il mio Primario (allora non

si usava la parola Direttore), grinta e preparazione sono le armi essenziali per affermarsi, ma per un oftalmologo è necessario anche possedere un dono di natura che non molti hanno e che è la manualità, ovvero la capacità del cervello di controllare i movimenti delle mani e dei piedi; purtroppo non si impara, ma si può comunque allenare se se ne possiede appena un po', altrimenti è meglio cambiare rotta e fare l'oftalmologo ambulatoriale.

La grinta e la preparazione, armi sempre efficaci per affermarsi, sono sufficienti per diventare un'eccellente chirurgo? O per una donna è un'altra storia, e gli ostacoli si moltiplicano? La diffidenza purtroppo ancora diffusa verso il genere femminile continua ad essere il vero ostacolo da superare, l'ultimo strenuo baluardo da abbattere?

Su questo fronte le difficoltà possono essere aumentate per il fatto che una donna magari può avere delle gravidanze e rimanere magari lontano dalla sale anche per qualche anno e quindi perdere l'allenamento. Per quanto riguarda i pazienti, problemi non ce ne sono, il paziente che non desidera essere operato da una donna, neppure la appropria o la cerca, la evita, e se fosse costretto da un'urgenza, certo non la può evitare.

Chirurgo sempre in prima linea, con migliaia d'interventi effettuati, una casistica operatoria di tutto rispetto, si cimenta con successo nell'organizzare Congressi su cataratta, cornea, glaucoma, refrattiva, chirurgia retinica. Partecipa ai maggiori congressi nazionali ed internazionali come speaker e, sempre più spesso, è impegnata in appassionanti chirurgie in diretta. Come

concorda questa frenetica attività professionale con le esigenze familiari?

Faccio questa vita perché ho avuto la fortuna di sposare un uomo che mi ha voluto sempre molto bene e che è orgoglioso della mia posizione, ma non ho avuto la fortuna di avere dei figli, che mi avrebbero sicuramente limitato la carriera (ma avrei volentieri accettato la limitazione).

Quali sono i suoi hobbies?

Lo sport in generale e tutti gli sport in cui l'acqua è la protagonista in tutte le sue forme, dal mare alla neve al ghiaccio. Amo sciare sulla neve e sull'acqua, adoro gli sport nautici, la moto d'acqua il sub e il nuoto, lo sci invernale discesa e nordico, il pattinaggio sul ghiaccio. Mi piace cucinare soprattutto i dolci e il pesce.

La montagna è tra le sue passioni. Anche scalare i pendii delle ammirate Prealpi Venete, teatro naturale del risorgere della nostra Patria richiede, tuttavia, maggior impegno per una donna. Il suo esempio, come quello di altre affermate professioniste, credo contribuisca a dare un'ulteriore spallata ai tanti stereotipi discriminanti verso il mondo femminile, ancora esistenti anche in Oftalmologia. Pensa che ormai sia tempo per una piena parità di genere in tutte le attività?

Credo che ormai però sia il tempo di dimenticare la differenza di genere, credo siano solo le persone molto anziane e con un livello di istruzione molto basso che hanno ancora delle remore, oppure popoli con religioni molto diverse dalle nostre e comunque lontane dalla nostra mentalità.

Che le ultime remore siano superate, da buttare nel dimenticatoio? E' proprio così in ogni campo? E' più impegnativo scalare una vetta delle Dolomiti, Patrimonio UNESCO dell'Umanità, o affrontare un'ardua PVR in sala operatoria?

Credo che per scalare una vetta delle Dolomiti sia necessaria una grossa dose di forza fisica e per affrontare un'ardua PVR, sia necessaria una buona dose di conoscenza, di resistenza, di manualità, di esperienza e di sangue freddo.

Esistono similitudini tra impegni apparentemente così differenti? Il fisico e la mente quale ruolo sinergico devono svolgere per affrontare e, con successo superare, le pericolose pareti alpine e le più tenaci trazioni vitreo-retiniche?

Il fisico deve essere allenato sia per la vetta che per la PVR e soprattutto saper ragionare a freddo allenando la mente all'autocollaborazione e al ragionamento anche in caso di imprevisti.

Bassano del Grappa, Bassano Veneto fino al 1928, è una ridente cittadina tra i fiumi Piave a Est e Brenta a Ovest, ai piedi dell'Altopiano di Asiago, territorio ancora incontaminato, con verdi pendii lentamente degradanti, quasi a proteggere la Città dallo "straniero". Il suo nome riporta alla memoria la Grande Guerra, così come i suoi simboli, il Ponte Vecchio, detto degli Alpini, attraversato nel 1917 con coraggio da migliaia di italiani, "i ragazzi del '99", accorsi a difesa dei territori dell'Altopiano dei Sette Comuni; il grande Sacrario Militare, con 22.950 caduti senza distinzione di nazionalità. Nei racconti della popolazione si percepiscono ancora gli echi, tristi e terribili della Grande Guerra? Ha contezza, magari da archivi cittadini, dei traumi bellici in ambito oftalmologico di quel periodo?

Non mi pare di percepire questi echi. Forse sono troppo giovane. Certamente Bassano del Grappa è una Città piena di storia; ogni suo angolo potrebbe essere testimone di episodi importanti dell'Unità d'Italia.

La traumatologia oftalmica avrebbe bisogno di un insegnamento a parte? Di maggiore dignità scientifica?

Credo sia la branca più difficile da affrontare, è molto difficile insegnarla ed è già altamente considerata.

Si affrontano veramente al meglio le urgenze o s'improvvisa, si considerano le urgenze orbito-bulbari come una "disciplina minore"?

Mai! Anzi, sono considerate chirurgia maggiore e molto complicata. Ci sono le linee guida ma purtroppo i traumi sono vari e diversi con sfumature tutte diverse, molto spesso nel pre operatorio appaiono in un modo e durante l'intervento... bhe a volte è tutta un'altra cosa. Spesso bisogna ingegnarsi e una buona dose di fantasia e creatività è anche utile. Comunque il paziente è sempre avvertito che potrebbe avere la necessità di più interventi.

Sarebbe auspicabile tracciare nuove linee guida, avere protocolli aggiornati da seguire oltre quelli esistenti?

Le linee guida raccolte nei libri della SOI (traumatologia Oculare) sono a mio parere esaustive e attuali.

Dall'Ottobre del 2008 è Direttore della Struttura Complessa di Oculistica dell'Ospedale San Bassiano a Bassano del Grappa. Come ha organizzato le attività della sua Unità Operativa? Quali le patologie maggiormente trattate?

Ho cercato di capire quali erano le attitudini migliori dei miei collaboratori e ad ogni uno ho affidato i compiti in

base alle loro capacità e desideri. Trattiamo tutte le patologie oculari e siamo centro di riferimento regionale per la malattia glaucomatosa e l'otticopatia diabetica.

Ha obiettivi ancora da perseguire, mete da raggiungere?

Sempre obiettivi da raggiungere e non ci si ferma mai.

Quanto sono importanti i collegamenti con altri colleghi, in Italia e all'estero, per operare sempre al meglio, offrire prestazioni di eccellenza?

Credo che il confronto sia l'anima dell'eccellenza.

L'U.O.C. di Oculistica bassanese è Centro Regionale di Riferimento per l'Otticopatia Glaucomatosa e la Retinopatia Diabetica. Molti colleghi ignorano cosa significhi esattamente diventare "Centro di Eccellenza", come si ottiene tale prestigioso riconoscimento. Vuole brevemente spiegarlo ai nostri lettori? Riferire l'iter per ottenere quest'esclusiva attestazione di qualità?

Come dicevo sopra "Centro di riferimento Regionale" che è un riconoscimento che la Regione Veneto attribuisce ai centri in cui le patologie in oggetto vengono trattate con particolare riguardo alle novità e alle nuove tecniche chirurgiche mini invasive, con la possibilità di testare tutti i nuovi device per la chirurgia del glaucoma e tutti i nuovi sistemi per il trattamento della retinopatia diabetica come il trattamento sottosoglia con il laser giallo per la maculopatia diabetica.

L'Oftalmologia italiana da anni è considerata tra le migliori, non solo in Europa. Cosa ci manca per essere definitivamente considerati punto di riferimento nel panorama mondiale?

Sarebbero necessari dei fondi per acquistare nuove tecnologie e per liberare i chirurghi dalle visite di primo livello nonché strutture dedicate alle patologie per trattare al meglio le patologie corneali le patologie retiniche etc etc, ma questo è solo un sogno.

I rapporti internazionali come hanno favorito il suo passaggio da "chirurgo di punta" a "chirurgo di eccellenza"?

Ovviamente il confronto internazionale fa crescere le conoscenze e apre la mente allargando anche gli orizzonti organizzativi.

Quanto contano l'aggiornamento, frequentare le camere operatorie che contano?

Sono un aspetto fondamentale per un confronto di tecniche e metodologie.

Le tante attività che affollano e riempiono freneticamente le nostre giornate possono limitare, nel tempo, l'aggiornamento scientifico, sottrarre tempo prezioso alla riflessione, al necessario studio?

Si ma è importante dedicare e ricavarsi il tempo giusto.

Come sottrarsi al dilagare degli impegni, ritagliarsi il tempo per la ricerca, per confrontarsi con i protocolli internazionali in veloce aggiornamento?

Importante avere un'organizzazione che ti permette di essere sostituito quando serve, importante formare bravi collaboratori di cui ti puoi fidare e che possono supplire alla tua assenza, importante delegare, responsabilizzare e formare nuove professionalità e vitando l'accentramento solo per brillare di luce propria. Assolutamente necessario il lavoro di squadra e penso che se mi cirondo di collaboratori validi, mi sento di aver fatto qualcosa di valido e utile sia per me che per gli altri. Se la squadra è forte, mi sento forte anche io.

Per dare un ampio ventaglio di autorevoli opinioni su un tema largamente sentito, non ultimo per importanza le pongo la stessa domanda con cui ho deciso di terminare le mie interviste per Oftalmologia Domani. Il metodo di selezione scelto per l'ingresso alla Facoltà di Medicina e Chirurgia è quello giusto?

Anche se io sono entrata all'università di Verona con il numero chiuso, aprirei a tutti la possibilità di accedere alla facoltà di medicina, tanto poi la selezione si fa sul campo, dopo i primi esami.

E per entrare alle Scuole di Specializzazione?

Mi sembra assolutamente non valido, poiché costringe alcune persona a frequentare specialità magari non desiderate e quindi si creano specialisti poco interessati al proprio lavoro.

Si selezionano veramente i giovani migliori? Si rispettano le loro personali inclinazioni?

No di sicuro.

Lei com'è messa con i quiz? Entrebbe oggi in Medicina e Chirurgia? E alla Scuola di Specializzazione in Oftalmologia?

Ho provato a rispondere, ma prevedono domande che ricordano le materie del liceo (ovviamente non ricordo più nulla), saprei rispondere alle domande di medicina e di chimica, non so se passerei il quiz.

Biomarkers & Spessore Retinico



Amedeo Lucente

Abstract: L'articolo prende spunto dall'importanza crescente dei biomarkers in medicina, e passa in rassegna brevemente la letteratura più significativa sulla necessità di trovare utili e validi indici tomografici nella diagnosi e per la terapia delle malattie retiniche. In particolar modo si evidenzia il valore dello spessore retinico come biomarker in relazione all'acuità visiva. Vengono passati al vaglio alcuni tra gli studi più interessanti, per stabilire la possibilità di una valutazione anche funzionale dell'imaging OCT/OCTA. L'evidenza di questa possibilità, e l'interconnessione e/o interdipendenza tra dato strutturale e funzionalità visiva sta assumendo, infatti, sempre più importanza. Passare da una lettura statica ad una dinamica e funzionale dell'imaging OCT/OCTA sembra oggi una strada percorribile, a portata di mano, per le aumentate performance dei moderni device, e per il miglioramento dei loro software applicativi.

Keywords and abbreviations: AJ Adherens Junctions, AD Alzheimer Disease, BCVA Best-Corrected Visual Acuity, CMT Central Macular Thickness, DA Diabetic Retinopathy, DCP Deep Capillary Plexus, DME Diabetic Macular Edema, DRIL Disorganization Retinal Inner Layers, ERM Epiretinal Membrane, ETDRS Early Treatment Diabetic Retinopathy Study, EZ Ellipsoid Zone, FA Fluorescein Angiography, FAZ Foveal Avascular Zone, FCP Foveal Center Point, FCS Foveal Central Subfield, GCIPL Ganglion Cell-Inner Plexiform Layer, INL Inner Nuclear Layer, JAM Junctional Adhesion Molecules, LMH Lamellar Macular Hole, MLI Membrane Limiting Internal, NIH National Institutes of Health, OCT/OCTA Optical Coherence Tomography/Optical Coherence Tomography Angiography, OLM Outer Limiting Membrane, PNR Pro Re Nata, RPE Retinal Pigment Epithelial, SCP Superficial Capillary Plexus, T&E Treat and Extend, TJ Tight Junctions, VA Visual Acuity, VEGF Vascular Endothelial Growth Factor.

Introduzione

Il termine "biomarker" è stato utilizzato la prima volta nel 1973 per indicare la presenza o assenza, in termini generici, di materiale biologico.

Gli appellativi "marker biochimico" e "marker biologico" sono comparsi da molto tempo in letteratura, nel 1949 e nel 1957 rispettivamente [1>3].

La ricerca di biomarkers nell'imaging tomografico retinico, sempre più dettagliato e significativo, non poteva non accendere la curiosità verso questa prospettiva.

La tomografia a coerenza ottica, tecnologia ormai affidabile, veloce, sensibile, di facile utilizzo, con elevate risoluzioni, indicata nella quasi totalità delle

patologie oftalmiche, offre terreno fertile per individuare eventuali biomarkers specifici nelle diverse patologie corioretiniche.

Indagare e stabilire possibili quanto probabili gerarchie funzionali con gli OCT/OCTA è un obiettivo di ricerca da perseguire, sicuramente ambizioso, certamente utile, che ulteriormente sarà sviluppato con l'evolversi di questa tecnologia.

Le considerazioni che scaturiscono dalla disamina della letteratura e dall'esperienza personale, anche se non sistematica, favoriscono alcuni approfondimenti e validi spunti per interpretare un tomogramma OCT/OCTA dal lato funzionale, individuando le alterazioni più

significative con dignità di veri markers.

I pochi dati finora disponibili sul rapporto struttura/ funzione nelle patologie neuroretiniche, e l'utilizzo relativamente recente della tomografia nell'indagine retinica, costituiscono gli ostacoli più significativi a tale proposito. Con difficoltà si trovano in letteratura studi immediati ed esaurienti sull'argomento.

Ogni apporto personale migliorerà la comprensione di questa difficile relazione. La condivisione di più risultati, utilmente coordinati, sarà essenziale per raggiungere dati statisticamente validi ed universalmente accettati.

Quest'articolo si limita a discutere la validità dello spessore retinico come biomarker funzionale, descrivere le possibili correlazioni tra spessore e acuità visiva, considerare la catena fisiopatologica degli eventi che collega la variazione dello spessore retinico all'acuità visiva.

Ogni sforzo verso la ricerca di tracce significative nell'imaging tomografico per suscitare stimoli, più autorevoli e completi studi sull'argomento, non sarà certamente speso invano.

Dare risposte funzionali alle variazioni strutturali neuroretiniche è la strada giusta per arrivare a diagnosi più circostanziate, nel predisporre razionali e più mirate terapie.

Background

Nel 1998, il National Institutes of Health Biomarkers Definitions Working Group ha definito un biomarcatore come "una caratteristica oggettivamente misurata e valutata come indicatore dei normali processi biologici, processi patogeni o risposte farmacologiche a un intervento terapeutico".

I NIH National Institutes of Health, nati nel 1930, con sede a Bethesda nel Maryland, sotto l'egida del governo, utilizzano il 28% circa (26.4 miliardi di dollari) dei fondi annualmente spesi per la ricerca biomedica negli Stati Uniti.

Comprendono in tutto 27 Istituti e Centri separati, oltre l'Office of the Director [3].

Una joint venture sulla sicurezza chimica guidata dall'OMS Organizzazione Mondiale della Sanità, in collaborazione con le Nazioni Unite e l'Organizzazione internazionale del lavoro, ha ridefinito un biomarcatore come "qualsiasi sostanza, struttura o processo che può essere misurato nel corpo o nei suoi prodotti e influenzare o prevedere l'incidenza di esiti o malattie".

Una definizione ancora più ampia prende in considerazione gli effetti di eventuali trattamenti e interventi, non escludendo l'esposizione ambientale non intenzionale a sostanze chimiche o sostanze nutritive [4].

Nella relazione sulla validità dei biomarcatori per la valutazione del rischio ambientale lo stesso OMS ha,

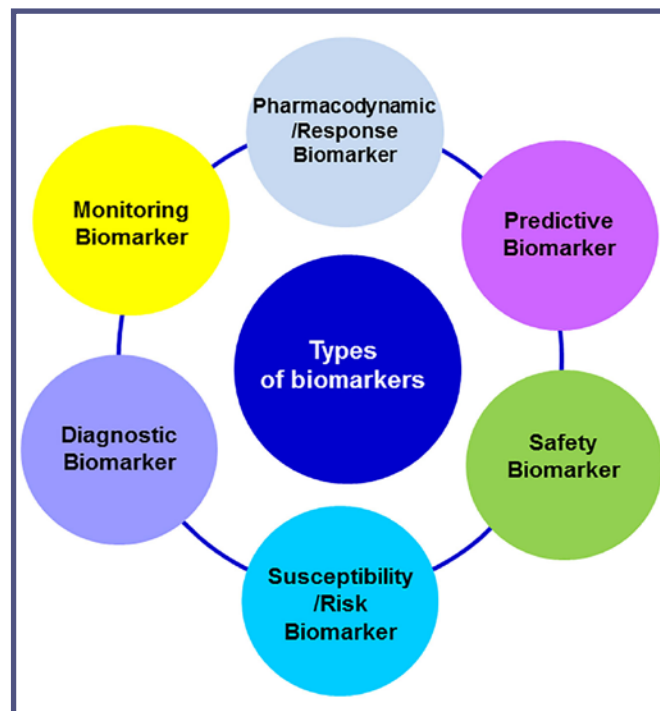


Fig. 1 - Classificazione di biomarkers in base alla loro applicazione principale.
(by Maria Salud García-Gutiérrez et al.)

infatti, ulteriormente esteso la sua definizione: "quasi tutte le misurazioni che riflettono un'interazione tra un sistema biologico e un potenziale pericolo, che può essere chimico, fisico o biologico. La risposta misurata può essere funzionale e fisiologica, biochimica a livello cellulare o un'interazione molecolare".

Nel database di PubMed al 2020 si rilevano 928,227 pubblicazioni con il termine "biomarker".

Ne sono stati descritti almeno 100.000; tuttavia il numero attivo nella pratica clinica è di circa 100 unità, utilizzati in più campi (Fig. 1) [4].

Si parte dai biomarcatori semplici ed immediati come la pressione sanguigna, la temperatura corporea o la semplice valutazione del polso arterioso, per arrivare ai test ematologici di laboratorio e su altri tessuti.

In generale, i markers possono essere rappresentati da cellule specifiche, molecole, geni, prodotti genici, enzimi, ormoni.

Il loro utilizzo nella pratica clinica, in particolare come indici di laboratorio, è relativamente recente; gli approcci migliori verso questa pratica sono ancora in fase di sviluppo e perfezionamento, come per gli oncologici, i più richiesti e discussi.

La ricerca di utili indici biologici non si è fermata in era Covid-19.

Tra i tanti dati che stanno emergendo le concentrazioni di urea, creatinina (CREA) e cistatina C (CysC) nei pazienti con COVID-19 grave sono risultati

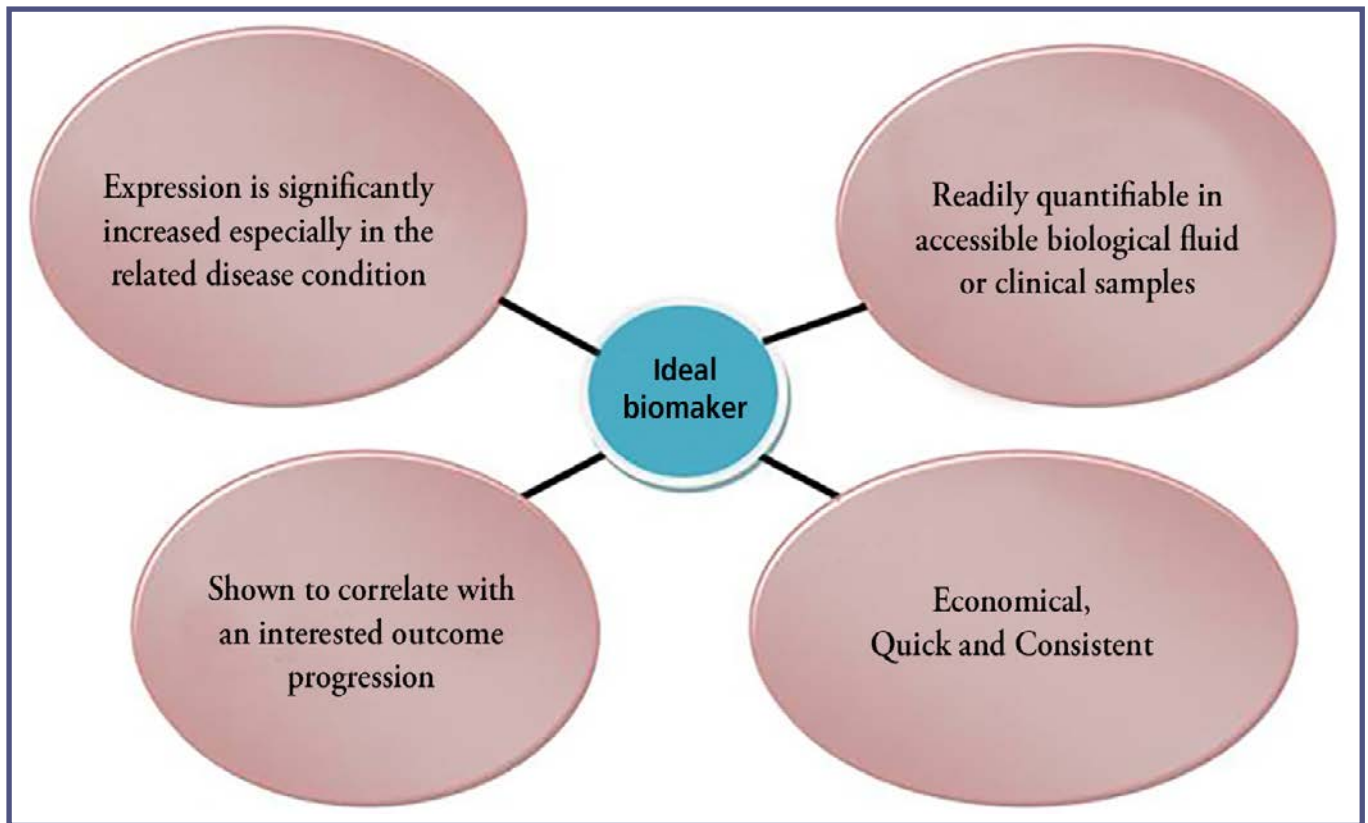


Fig. 2 - Caratteristiche del biomarker ideale.
(by Chikezie O. Madu and Yi Lu; Journal of Cancer 2010, 1).

significativamente più alte di quelle nei pazienti con COVID-19 lieve ($P < 0,001$); questi dati non sono stati ancora sottoposti a peer review.

Questione chiave è determinare la relazione tra un dato biomarcatore misurabile e gli endpoint clinici rilevanti. Nel campo dell'imaging, non solo in oftalmologia, possono essere presi in considerazione strutture semplici o complesse rilevate dal device, una volta eliminati gli artefatti, riscontrati in relazione a cambiamenti dell'acuità visiva.

Un indicatore ideale dovrebbe essere sicuro, facilmente determinabile, con un rapporto costo/beneficio conveniente, variabile e sensibile ai trattamenti intrapresi, coerente per genere e gruppo etnico, efficacemente specifico su possibili stati di malattia o di salute (Fig. 2).

Correlare i danni tomografici strutturali e vascolari, da non molto tempo diffusamente disponibili, e le variazioni funzionali che trovano nell'acuità visiva VA Visual Acuity la massima e più pertinente espressione misurabile, è stato e continua ad essere un proposito arduo, difficilmente attuabile, non oggetto finora di esaurienti e sistematiche trattazioni scientifiche [4].

Molti sono stati gli sforzi e i tentativi verso quest'obiettivo; i risultati tuttavia sono parziali, oggetto di approfondimento, discussione, fonte di critiche per l'inadeguatezza dei biomarkers di volta in volta presi in

considerazione.

Dall'avvento degli OCT/OCTA si è cercato e tuttora si ricercano correlazioni tra fine struttura tomografica intraretinica e corrispettive risposte funzionali.

Sempre più dettagliato, veloce nell'esecuzione, migliorato nella qualità, il segnale tomografico offerto dai più moderni device SD-OCT/OCTA da 100 KHZ ha assunto ormai valore di dato istologico in vivo.

Un fine da perseguire nell'imaging OCT/OCTA è stabilire il valore temporale degli eventi strutturali nelle patologie neuro-corio-retiniche.

Determinarne la sequenza fisiopatologica degli eventi, evidenziando stabili correlazioni tra danno strutturale e rispondenza funzionale, con i migliori auspici, è un obiettivo diffusamente sentito, un target perseguito da più gruppi di ricerca.

Preservare più possibile la funzionalità visiva è, d'altra parte, il fine più elevato di ogni ricerca in oftalmologia, la pressante richiesta dei nostri pazienti.

Spessore retinico come biomarker

Il dato strutturale più studiato e discusso in letteratura è lo spessore retinico al polo posteriore, in particolare modo nell'area maculare.

Tutti i device OCT/OCTA hanno nel loro software la possibilità di Report di stampa degli spessori

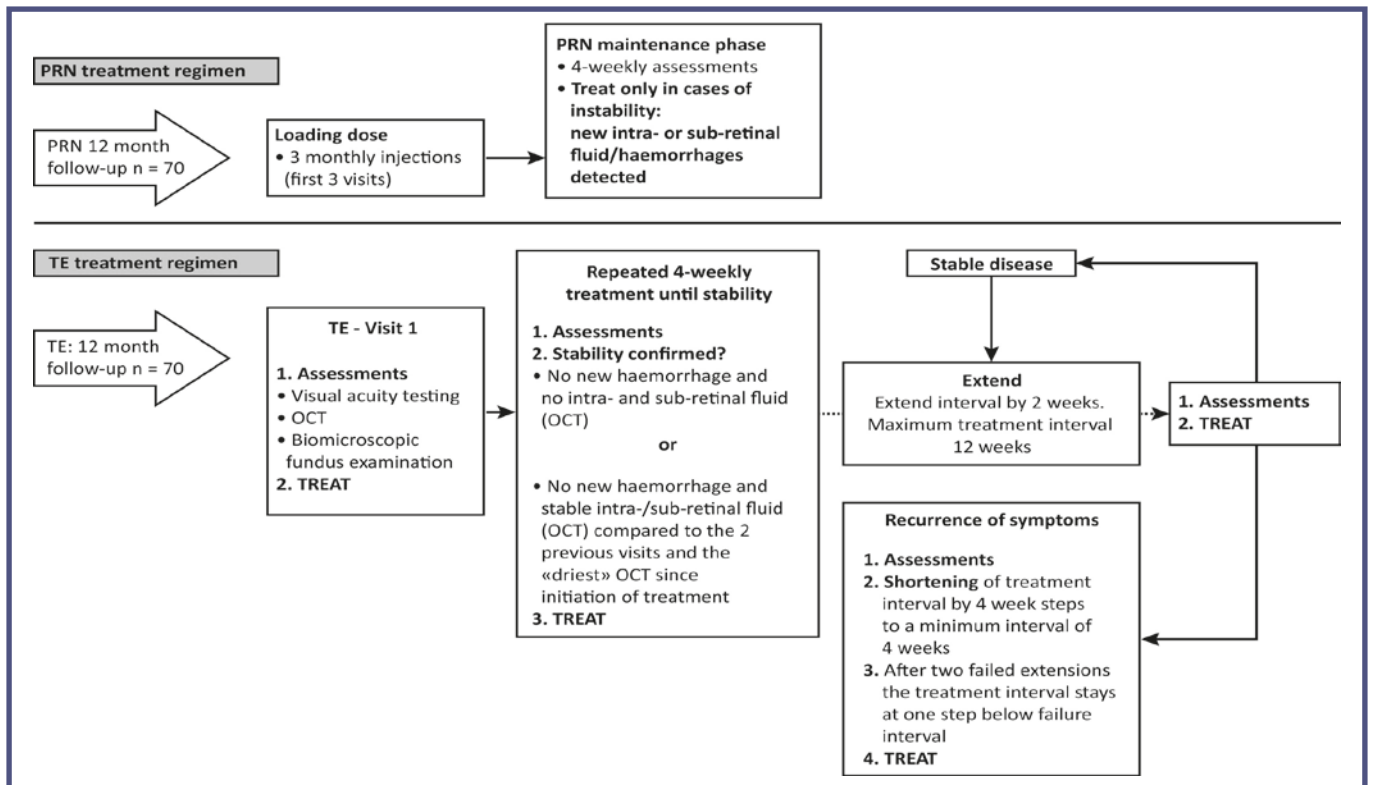


Fig. 3 - Schemi posologici del PNR e T&X. Il trattamento PNR Pro Re Nata inizia con tre iniezioni, una al mese, con ritrattamenti al riscontro di fluido intra e/o sotto retinico o emorragie con SD-OCT. Il regime T&E Treat and Extend prevede iniziali intravitreali a intervalli di 4 settimane, con controlli del BVCA, SD-OCT e esame retinico. In seguito le intravitreali sono effettuate ad intervalli variabili da 2 a 12 settimane con la presenza dei segni di attività. (by Katja Hatz and Christian Prunte; Acta Ophthalmologica 2017).

retinici, confrontabili nel follow-up, utili per seguire l'evoluzione delle più importanti e frequenti patologie neuro-corio-retiniche.

Il dato strutturale, offerto come spessore e volume retinico, è riferito come valore numerico in falsi colori; anche se molto enfatizzato nei printout di stampa, resta tuttavia un dato semplice, una risposta "bruta".

L'effettivo suo valore clinico resta generico, difficilmente correlabile alla variazione della VA.

Bressler et al., utilizzando OCT Stratus Zeiss, già nel 2007, evidenziavano la discrepanza nel relazionare lo spessore retinico, il CSF Central Subfield, e la VA. I limiti consistono nel comparare dati non omogenei, un valore oggettivo, lo spessore retinico, e un riscontro soggettivo, la VA.

Tuttavia il CSF resta un parametro utile, un indice di riferimento, un "surrogato" di correlazione indiretto tra VA e struttura retinica, specie nell'edema maculare diabetico, dove guida il giudizio sull'efficacia dei trattamenti anti-VEGF [6].

Molte decisioni se continuare, procrastinare o sospendere le intravitreali nella DME Diabetic Macular Edema sono prese, infatti, dal confronto delle mappe dello spessore retinico centrale, molto spesso

indipendentemente dal riscontro della VA.

Le diverse opzioni terapeutiche per le intravitreali prevedono, com'è noto, almeno tre possibilità di trattamento: Fixed, PNR Pro Re Nata e T&E Treat and Extend, con due possibili approcci: il Reattivo, dove si interviene quando ci sono segnali di progressione, e il Proattivo, dove si può intervenire anche quando non ci sono nuovi segnali evidenti di malattia (Fig. 3) [7].

Il Fixed, o regime fisso, è il più semplice da applicare.

Si tratta di un'iniezione a cadenza regolare, generalmente mensile, estremamente utile nelle fasi iniziali; nel tempo risulta un regime particolarmente gravoso per il paziente.

È un approccio proattivo, a cadenza regolare, con certezza dell'iniezione.

PNR Pro Re Nata deriva la sua denominazione dal latino. Significa nelle circostanze, quando sorge l'occasione, se necessario, quando si presenta la situazione, per necessità, al bisogno, letteralmente "per la cosa nata". Si adotta dopo un periodo di terapia a intervalli regolari.

Con questo regime il farmaco viene somministrato solo quando ci sono segnali di peggioramento; le visite di controllo restano sempre mensili.

Il T&E è un sistema di somministrazione ibrido;

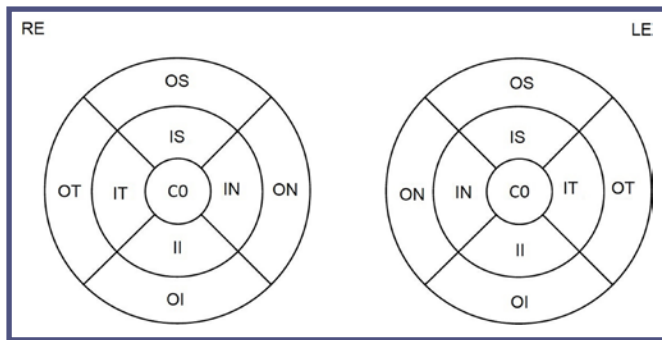


Fig. 4 - ETDRS Early Treatment Diabetic Retinopathy Study. Campi maculari circolari. Abbreviazioni: CO, central fovea; IS, inner superior; IN, inner nasal; II, inner inferior; IT, inner temporal; OS, outer superior; ON, outer nasal; OI, outer inferior; and OT, outer temporal; RE, right eye; LE, left eye. (by <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198397.g003>).

testualmente “cura ed estendi”.

Nato dalla necessità di diminuire il numero delle intravitreali senza diminuirne l’efficacia, risponde in qualche modo alle esigenze del paziente e dello specialista. Tale regime è possibile grazie allo sviluppo di farmaci sempre più affidabili con efficacia prolungata nel tempo; l’intervallo tra un’iniezione e l’altra può procrastinarsi di 12/16 settimane.

E’ definito regime reattivo: si interviene con una nuova iniezione al primo peggioramento; i controlli restano mensili, senza certezza dell’infiltrazione [7].

Tutti questi regimi terapeutici si basano sull’esame OCT/OCTA, necessario supporto per ogni decisione, assolutamente dirimente, obbligatorio prima di ogni intravitreale.

Molti studi cercano di stabilire legami non casuali tra CTS e VA anche nei confronti di questi regimi terapeutici. Queste ricerche, come già detto, restano tuttavia sporadiche, senza offrire finora dati statisticamente validi e ripetibili [5,6].

Il Foveal Central Subfield FCS è definito dal cerchio C1, area foveale nella griglia ETDRS Early Treatment Diabetic Retinopathy Study, di un 1 mm di diametro, dove il centro, FCP Foveal Center Point, è individuato dal punto d’intersezione di 6 scans radiali passanti per la foveola (Fig. 4) [6].

I parametri dell’area maculare determinati dallo studio ETDRS sono di riferimento nella maggior parte degli studi presenti in letteratura. Tutti i markers tomoangiografici emergenti in quest’area sono studiati per stabilire la capacità visiva retinica discriminativa, il rischio di progressione, l’efficacia delle terapie utilizzate, il follow-up nelle maculopatie [8].

Austin Bradford Hill è stato tra i primi a proporre linee guide di appropriatezza al fine di giudicare e stabilire

ogni biomarker veramente utile [9].

Il dato che l’ispessimento maculare centrale possa essere associato a una diminuzione della VA è stato rilevato e descritto in numerosi studi e ricerche. È da più parti riferito che la riduzione dello spessore retinico, in corso di edema retinico centrale, può associarsi con una migliore VA in numerose condizioni patologiche [9,10].

È stato già riferito che nelle patologie maculari la correlazione tra spessore retinico centrale e migliore acuità visiva corretta BCVA Best Corrected Visual Acuity ha trovato modeste e poco convincenti validazioni statistiche nelle terapie mediche e per le infiltrazioni in camera vitrea.

È esperienza personale, di comune riscontro, che macule ispessite possono conservare acuità visive sorprendentemente valide, indipendentemente dalle patologie di base [10].

Parimenti, spessori maculari nei limiti fisiologici, dopo terapie anti-VEGF, cortisoniche, o chirurgiche non sempre sono correlati con aumenti della VA.

Resta pertanto molto incerta la relazione causa/effetto, il riscontro oggettivo/soggettivo tra spessore e VA [10]. Questa incongruenza è particolarmente riscontrabile ed evidente nell’edema maculare diabetico.

La relazione tra struttura retinica e VA è molto più complessa di come i dati finora a disposizione fanno supporre [11,12].

È opinione non solo personale che individuare possibili markers strutturali rilevabili con OCT/OCTA, predittivi per la VA, specie nel follow-up delle più importanti e diffuse maculopatie, sarebbe utile ed efficace in fase diagnostica e nella prognosi a lungo termine.

Anche il timing chirurgico intraoperatorio troverebbe importanti vantaggi, indispensabili assist nel favorire decisioni terapeutiche struttura-dipendente.

D’altra parte le relazioni tra lo spessore retinico e VA travalicano lo stretto campo oftalmologico.

Luis Jáñez-Escalada et al., in un recente articolo, hanno descritto, in 19 pazienti con malattia di Alzheimer lieve e un gruppo di controllo di 24 volontari, le differenze per lo spessore retinico centrale [13].

In questo studio gli strati retinici sono stati segmentati automaticamente, il loro spessore determinato, misurato punto per punto, corretto per l’inclinazione del piano retinico B-scan, e normalizzato nello spazio 3 D. E’ emerso che lo strato dei segmenti esterni dei fotorecettori mostra un diradamento statisticamente significativo nei pazienti con AD (Student’s $t=-2.23$, $df=41$, $p=0.02$) rispetto al gruppo di controllo [13].

I pazienti con AD hanno mostrato inoltre un assottigliamento significativo anche delle fibre nervose, delle cellule gangliari, dello strato plessiforme interno e

nucleare interno.

Il RPE Retinal Pigment Epithelium era più spesso nei pazienti con AD; il dato non era tuttavia significativo [13].

Mohammad Hossein et al., in 123 occhi con DME, hanno confrontato il CMT Central Macular Thickness e la BCVA dopo due dosi (2.5 mg e 1.25 mg) di IVZ Intra-Vitreal Ziv-aflibercept versus IVB bevacizumab, ad un anno di distanza [13].

Gli autori hanno classificato i pazienti in base alla percentuale di decremento del CMT: $\leq 9\%$; $10\% \leq 29\%$; $\geq 30\%$ rispetto al dato iniziale.

La BCVA e le variazioni del CMT erano significativamente correlate in tutti gli occhi esaminati ($P < .05$).

Ziv-aflibercept, alla dose di 2.5 mg, ha fatto riscontrare le migliori performance nella riduzione del CMT [13].

Sun, J. K. et al, Scott, I. U. et al., Nussenblatt, R. B. et al. affermano, in ricerche indipendenti, che gli occhi patologici con aumento dello spessore maculare sono generalmente associati a più scarsa acuità visiva [15>17].

Ad esempio, uno spessore maculare più alto, misurato con OCT in retine con occlusione venosa o in corso di uveite, è associato a minore acuità visiva rispetto ai valori basali, in accordo a quanto riferito negli studi SCORE, Standard Care vs. Corticosteroid for Retinal Vein Occlusion e MUST, Multicentre Uveitis Steroid Treatment [14>16].

Per comprendere meglio i dati patologici è interessante conoscere la correlazione tra spessore maculare e VA in soggetti sani.

L'idea che una macula più spessa rifletta un numero di cellule più numerose, specialmente gangliari, non è affermazione senza base scientifica, lontana dalla realtà [18].

Stanley Poh et al. evidenziano che, nella retina interna di soggetti sani, lo spessore medio GCIPL Ganglion Cell-Inner Plexiform Layer era significativamente associato a una BCVA e funzionalità visiva complessiva migliore [19]. Questa stessa correlazione non era riscontrabile per la retina esterna.

La slab GCIPL è stata dagli autori determinata e delimitata tra lo strato delle fibre nervose e lo strato plessiforme interno; lo spessore complessivo della retina tra la membrana limitante interna e RPE; la retina esterna tra lo strato plessiforme esterno e il tappeto delle cellule dell'epitelio pigmentato retinico (Fig. 5) [19].

Nello studio è stato utilizzando il Cirrus High-Definition OCT (HD-OCT, Carl Zeiss Meditec, Dublin, California, USA software V 6.5.).

Il dato anatomico che le cellule ganglionari localizzate maggiormente nella retina interna siano strettamente correlate alla VA è un dato in accordo alla vasta letteratura che correla spessore GCIPL e outcomes visivi in occhi sani.

Gli autori, in questo loro lavoro dei primi mesi del 2020, dopo disamina di 7744 occhi in 4450 soggetti asiatici sani di tre diverse etnie (Cinese, Malese, e Indiana; età media 58.8 ± 8.6 aa) confermano che spessori maculari e dello strato GCIPL più elevati sono associati ad una migliore VA (all $p \leq 0.001$) [19].

Nel loro studio queste caratteristiche strutturali sono state determinanti anche per la funzione visiva complessivamente considerata.

Performance simili erano ugualmente presenti sia nel gruppo dei pazienti più giovani (<60 anni) che dei più anziani.

Altro parametro studiato dagli autori è stata la lunghezza assiale. I migliori risultati sono stati riscontrati

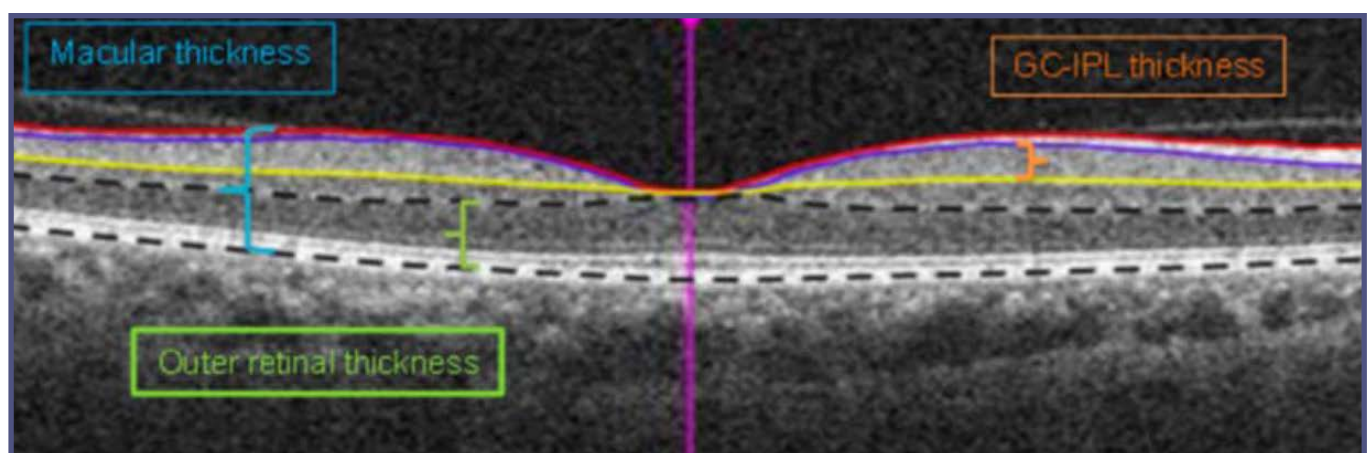


Fig. 5 - OCT B-Scan orizzontale in macula passante per la fovea. La parentesi blu indica lo spessore retinico complessivo, la parentesi arancione lo spessore del plesso ganglionare-plessiforme interno, la parentesi verde lo spessore della retina esterna.

(by Stanley Poh et al. Sci Rep. 2020; 10: 6142. Published online 2020 Apr 9. doi: 10.1038/s41598-020-63063-y).

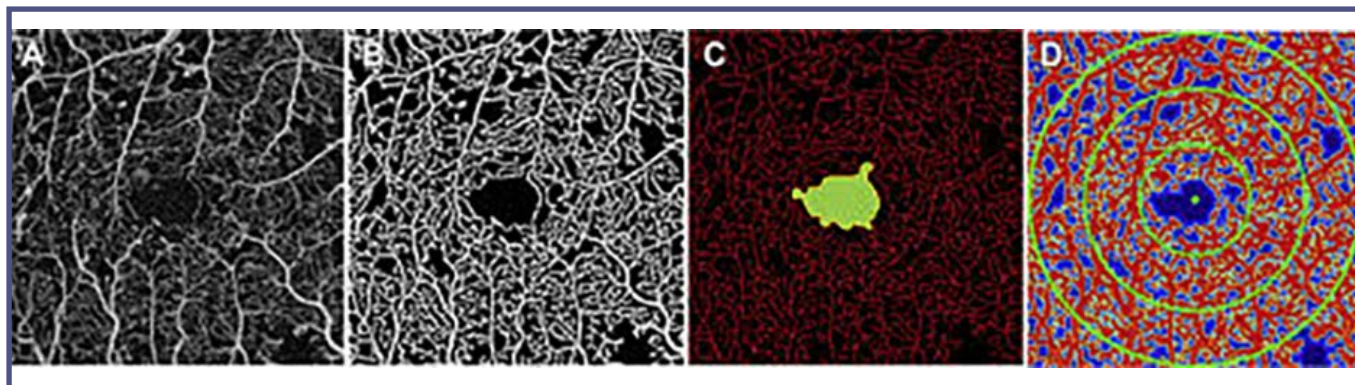


Fig. 6 - Imaging dell'analisi vascolare quantitativa. (A) angiografia originale OCT, (B) mappa dell'imaging average vessel density e della tortuosità vascolare, (C) skeleton map fovea avascular zone, (D) dimensione frattale vessel density. Il cerchio verde mostra tre aree rispettivamente di 1 mm, 2 mm e 3 mm di diametro.

(by Yi-Ting Hsieh et al. *Ophthalmol Retina*. 2019 October ; 3(10): 826–834. doi:10.1016/j.oret.2019.04.027).

in presenza di diametri bulbari ≤ 25 mm; erano assenti con lunghezze assiali maggiori.

Gli incrementi visivi sono stati stabiliti per intervalli di $20 \mu\text{m}$ di spessore maculare e GCIPL rispetto ai valori medi di base [19].

L'area maculare è stata suddivisa in nove sezioni, attenendosi all'ETDRS, con tre ring circolari a diametro crescente, (1 mm central subfield, 3 mm inner ring, 6 mm outer ring).

Lo spessore retinico ritrovato dell'intera macula è stato uguale a $276.0 \pm 13.4 \mu\text{m}$; nell'area del central subfield $246.1 \pm 21.5 \mu\text{m}$; nello strato GCIPL $80.4 \pm 7.1 \mu\text{m}$; lo spessore della retina esterna $123.3 \pm 8.5 \mu\text{m}$ [19].

A conclusione del loro interessante lavoro gli autori hanno confermato l'importanza e l'essenzialità dello spessore maculare per la funzionalità dell'intera retina, in particolare per la sensibilità al contrasto, la stereoacuità, l'integrità del campo visivo, in accordo con altri importanti studi [20,21].

Yi-Ting Hsieh et al. hanno analizzato in cinquanta occhi di altrettanti pazienti con DME e 22 occhi sani, cinque possibili biomarkers OCTA: FAZ-A Foveal Avascular Zone Area, FAZ-CI Contour Irregularity, AVC Average Vessel Caliber, VT Vessel Tortuosity, e VD Vessel Density (Fig. 6) [22].

La BCVA e il CRT Central Retinal Thickness sono stati considerati, misurati e correlati tra i due gruppi.

Gli occhi con DME presentavano i biomarkers peggiori (AVC, VT, FAZ-A e FAZ-CI), con più bassa VD rispetto al gruppo di controllo ($P < 0.001$ for all).

Dopo aver eseguito 3 iniezioni consecutive con ranibizumab, questi biomarkers miglioravano, senza però ritornare ai livelli iniziali [22].

Oltre tutti i biomarkers descritti e considerati, la parafoveal vessel density nello strato superficiale retinico è risultato l'indicatore indipendente più attendibile per

il miglioramento visivo dopo trattamento, marker utile per la prognosi durante terapie con anti-VEGF in retine con DME [22].

Anche se gli anticorpi contro i VEGF e la terapia steroidea hanno dimostrato indubbia efficacia visiva in corso di DME, come riferito da Lattanzio et al. [23], alcuni pazienti risultano tuttavia non rispondenti alla terapia.

L'OCT angiography ha mostrato una migliore risoluzione e definizione della struttura vascolare rispetto alla FA fluorescein angiography, potendo evidenziare particolari strutturali e vascolari settoriali non visibili con mezzo di contrasto [24].

Serizawa S et al. ipotizzano che la persistenza del danno fotorecettoriale, la distruzione della zona ellissoide e la persistenza dell'ischemia maculare in corso di DME siano markers correlati all'assenza di risposta terapeutica, anche in presenza di remissione dello spessore retinico; tutti sono risultati efficaci parametri che gli OCTA permettono di delineare ed evidenziare [25].

Moein HR et al., a supporto di questi riscontri, hanno dimostrato correlazioni significative tra la disorganizzazione della retina interna, le aumentate aree FAZ Foveal Avascular Zone e più basse VA in pazienti con risoluzione del DME [26].

Durbin MK et al. [27] confermano tutti i dati descritti, ribadendo la correlazione tra VD e VA nella DR Diabetic Retinopathy per lo strato retinico vascolare superficiale, non per lo strato retinico vascolare profondo, in linea con i risultati di Yi-Ting Hsieh et al., precedentemente discussi [22].

Gli artefatti di proiezione e l'attenuazione del segnale nella retina profonda, particolarmente inficianti nell'imaging vascolare in corso di DME, sono determinanti per giustificare questi riscontri nella retina iuxta-recettoriale.

Per completezza, nello studio di Yi-Ting Hsieh et al.,

la VD ha mostrato una correlazione al miglioramento visivo dopo trattamento nel DCP Deep Capillary Plexus di entità inferiore rispetto al SCP Superficial Capillary Plexus.

Con una più precisa rimozione degli artefatti da proiezione in futuro anche il plesso capillare intermedio e il DCP potrebbero offrire risultati di correlazione più affidabili in tal senso [22].

Il SCP è stato determinato a partire da $3\mu\text{m}$ al di sotto della MLI Internal Limiting Membrane fino a $15\mu\text{m}$ sotto lo strato plessiforme interno, mentre il DCP è stato individuato tra $15\mu\text{m}$ a $70\mu\text{m}$ al di sotto dello strato plessiforme interno ($55\mu\text{m}$) [22].

Ultimate Goal

Noriko Terada et al., in un lavoro del 2020, hanno descritto ed individuato un nuovo biomarker tomografico correlato alla possibilità di remissione della DME con terapia anti-VEGF [28].

Nel loro studio retrospettivo su 110 occhi di 110 pazienti naïve al trattamento con DME che coinvolgeva il centro, il riscontro di pareti ispessite nel contesto delle cisti intraretiniche era un segno predittivo di resistenza alla terapia con anti-VEGF (Fig. 7, Fig. 8).

I pazienti con cavità cistiche a pareti ispessite in area foveale (hyperreflective walls) avevano visus maggiormente deteriorato con aumentata distruzione dei fotorecettori rispetto a contesti retinici senza questi particolari segni tomografici (rispettivamente $P=0.008$ e $P<0.001$).

La presenza di pareti ispessite è risultata, contro ogni altra evidenza, un marker significativo nel predire la

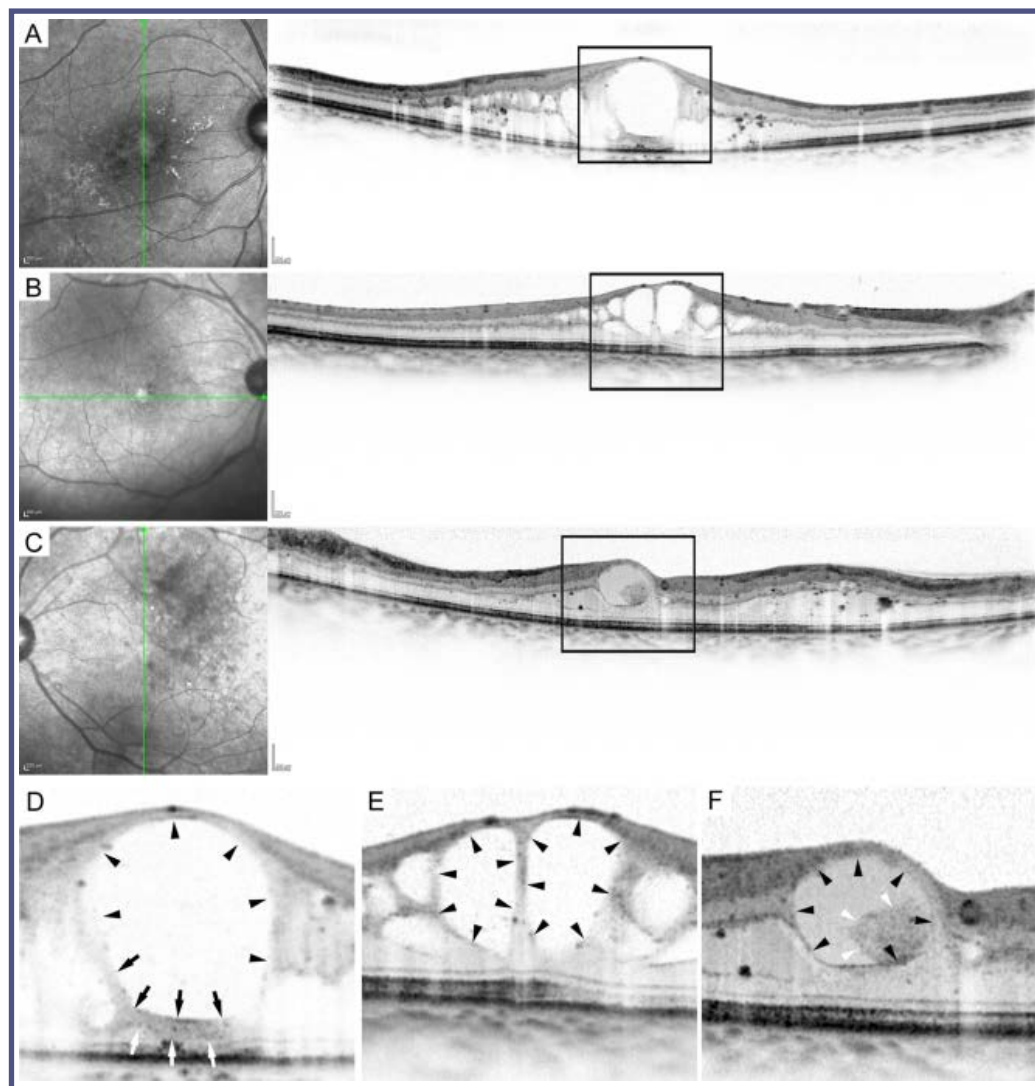


Fig. 7 - Pareti iperriflettenti (hyperreflective walls) nel contesto di cavità cistiche per DME. (A,D) Pareti iperriflettenti indicate da frecce bianche e nere presenti nel contorno inferiore delle cavità cistiche in uomo di 57 anni con NPDR moderata. (B,E) Spazi cistoidi senza pareti ispessite. (C,F) Depositi iperriflettenti nelle cavità cistiche indicate da punte di frecce bianche in uomo di 56 anni con NPDR severa. (D,F) Rettangoli d'ingrandimento delle immagini in (A,C). Scala = 200.

(by NorikoTerada et al. Scientific Reports | (2020) 10:7299 | <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64332-6>).

persistenza del DME al trattamento con ranibizumab somministrato con regime di PRN [28].

Le pareti ispessite delle cavità cistiche erano individuabili sulla superficie delle cisti in modo incompleto. Lo spessore delle pareti era mediamente $51\mu\text{m}$ ($48-56\mu\text{m}$), mentre la riflettività relativa delle pareti era $51,8$ ($44,0-58,5$), adottando criteri validati di classificazione.

Nel loro studio le pareti ispessite si potevano evidenziare in sezioni B-scan sulla volta superiore, inferiore o tra le pareti divisorie delle cisti, frequentemente accompagnate da foci iperriflettenti nelle loro cavità, corrispondenti a macrofagi ricchi di lipidi.

L'accumulo di tali cellule infiammatorie si è supposto

possa contribuire alla formazione dell'ispessimento delle pareti stesse [28], promuovere la formazione di cicatrici fibrotiche e/o gliotiche, anche se non si è potuto stabilire con precisione la natura istologica dell'ispessimento delle pareti stesse.

Altre ricerche individuano la presenza di fibre di Henle o cellule di Müller nell'ispessimento laterale delle pareti, fotorecettori nell'ispessimento inferiore con o senza accumulo di fibrina [29>32].

Non sono state ritrovate associazioni tra pareti iperreflettenti negli strati interni ed esterni della retina e fluido sottoretinico o alterazioni vitreoretiniche; al contrario erano presenti distruzione delle bande EZ, ellissoide, oltre il riscontro di DRIL, Disorganization of the Retinal Inner Layers (disorganizzazione degli strati retinici interni, rispettivamente $P < 0.001$ e $P = 0.032$) [28].

Questo studio potrebbe dare una spiegazione alla resistenza verso terapia intravitreale in alcuni pazienti con DME [23].

Secondo analisi multivariate, le pareti iperreflettenti al basale avevano infatti un rischio significativamente più alto di non remissione a 18 mesi di follow-up [28].

Passare da biomarker strutturali generici come lo spessore maculare, a biomarker specifici come le "hyperreflective walls", sarà un passo avanti decisivo nell'imaging tomografico per migliorare la diagnosi e il timing terapeutico, farmacologico e chirurgico, per molte patologie neuro-corio-retiniche.

Jing Zou et al. hanno condotto uno studio, recentemente pubblicato, per individuare la correlazione tra membrane epiretinali ERM Epiretinal Membrane e VA (Fig. 9). I risultati dei 105 pazienti esaminati

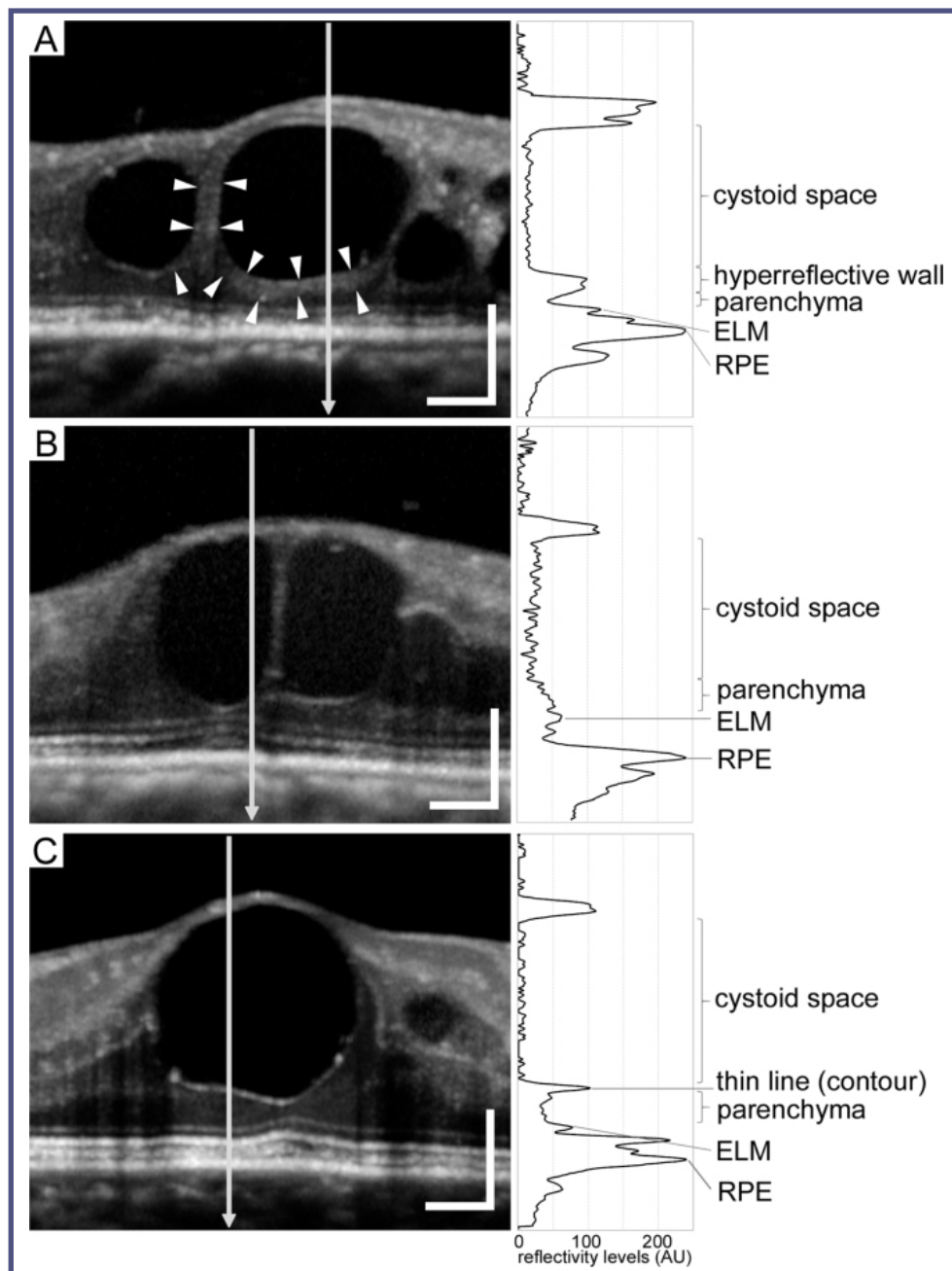


Fig. 8 - Patterni riflettenti nelle cavità cistiche in DME. Le cavità cistiche sono composte da bande ispessite e iperreflettenti (A), parenchima retinico (B), pareti cistiche sottili ed iperreflettenti (C). La colonna di destra indica il livello di riflettanza lungo la freccia che taglia verticalmente l'imaging di sinistra; è stato utilizzando il "Plot Profile" function in Image version 1.52 software (NIH, Bethesda, MD). Scale bar = 200 μ m.

(by Noriko Terada et al. Scientific Reports | (2020) 10:7299 | <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64332-6>).

indicano che quasi tutti gli strati retinici sono interessati dagli effetti trattivi delle ERM nell'area maculare. Tutti i pazienti sono stati scannerizzati con SD-OCT a 512 \times 128 scan nei 6x6mm in macula (Carl Zeiss Meditec Inc, Dublin, CA, USA). I risultati del loro studio con l'analisi lineare di regressione multipla mostra che lo spessore dello strato INL in area foveale, parafoveale e perifoveale era associato alla VA in tutti i 105 pazienti esaminati ($R^2 = 0.344$, $P < 0.001$; $R^2 =$

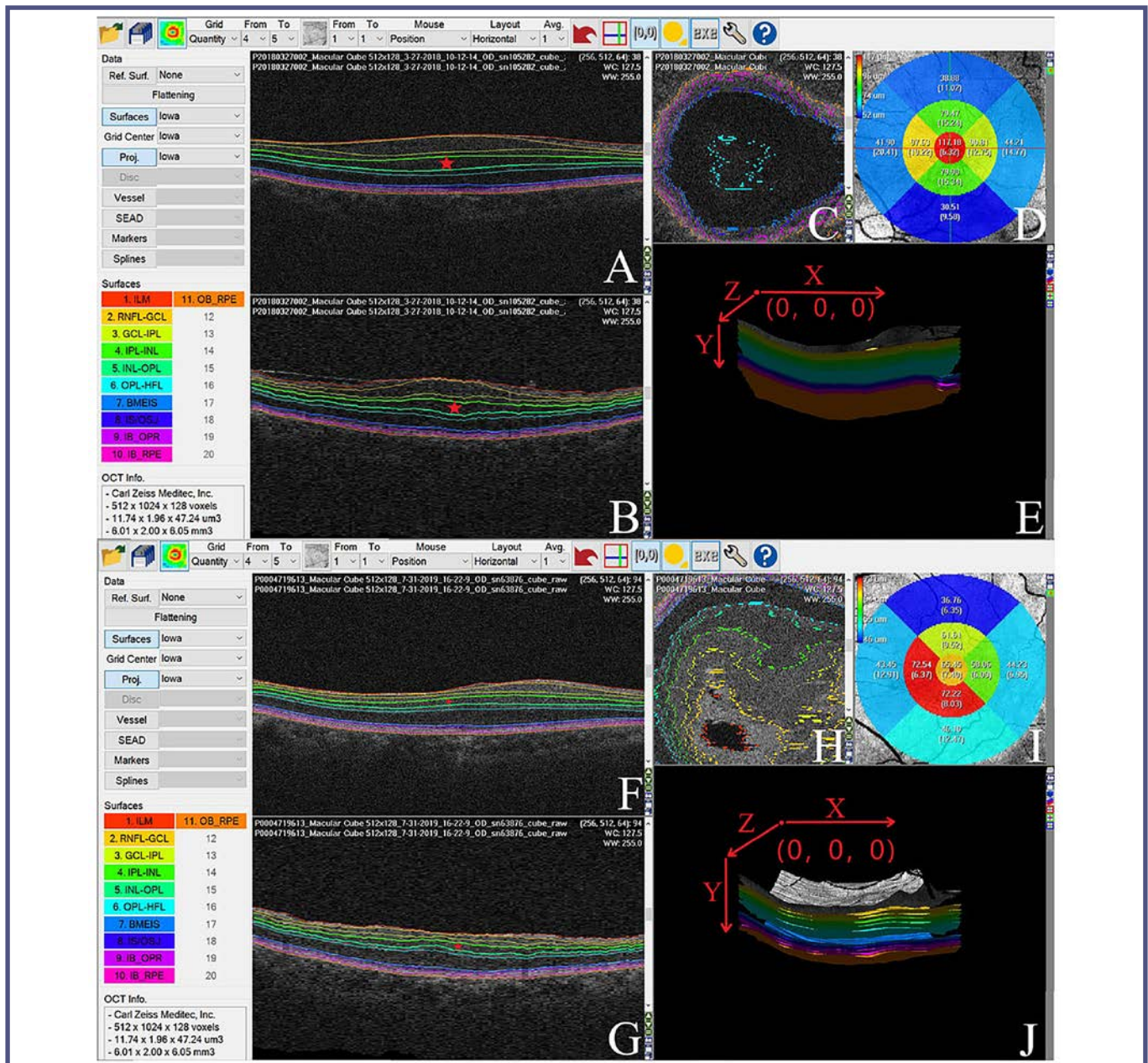


Fig. 9 - Gli autori utilizzano l'algoritmo lowa Reference per segmentare e misurare lo spessore degli strati retinici con OCT in un paziente con ERM prima e dopo intervento. La INL è significativamente più sottile dopo chirurgia.

- (A) Imaging pre-operatorio B scan OCT XY. L'algoritmo utilizzato segmenta automaticamente i limiti nell'imaging OCT e colora le linee di separazione tra strati adiacenti. Gli strati retinici dalla superficie retinica interna a quella esterna sono così identificati: retinal nerve fiber layer (RNFL), ganglion cell layer (GCL), inner plexiform layer (IPL), inner nuclear layer (INL), outer plexiform layer (OPL), outer nuclear layer (ONL), photoreceptor inner/outer segments (IS/OS), outer segment (OS), e retinal pigment epithelium (RPE). La stella rossa a cinque punte nell'imaging OCT rappresenta lo strato INL.
- (B) Imaging OCT B-scan ZY pre-operatorio. Le linee colorate rappresentano l'interfaccia tra due adiacenti strati retinici; gli strati sono così identificati: RNFL, GCL, IPL, INL, OPL, ONL, IS/OS, OS e RPE. La stella rossa a cinque punte nell'imaging OCT rappresenta lo strato INL.
- (C) Imaging OCT XZ pre-operatorio. Le linee colorate rappresentano le interfacce tra due strati retinici adiacenti.
- (D) Media dello spessore INL in ciascun sottogruppo.
- (E) Imaging 3D OCT e suo orientamento nei piani X, Y e Z.
- (F) Imaging OCT B scan post-operatorio. Le linee colorate rappresentano l'interfaccia tra due adiacenti strati retinici; gli strati sono così identificati: RNFL, GCL, IPL, INL, OPL, ONL, IS/OS, OS e RPE. La stella rossa a cinque punte rappresenta nell'imaging OCT lo strato INL.
- (G) Imaging OCT ZY post-operatorio. Gli strati retinici sono così individuati: RNFL, GCL, IPL, INL, OPL, ONL, IS/OS, OS e RPE. La stella rossa a cinque punte rappresenta nell'imaging OCT lo strato INL.
- (H) Imaging OCT ZY post-operatorio. Le linee colorate rappresentano l'interfaccia tra due adiacenti strati retinici.
- (I) Imaging OCT dello spessore retinico medio INL in ciascun sottogruppo nel post-operatorio.
- (J) Imaging OCT 3D e suo orientamento nei piani X, Y e Z. (modificato da Jing Zou et al. (2020), PeerJ, DOI 10.7717/peerj.9481).

0.427, $P < 0.001$; e $R^2 = 0.340$, $P < 0.001$, rispettivamente). I 31 pazienti operati mostravano a sei mesi un decremento significativo dello spessore ($P \leq 0.012$) nelle aree foveali per gli strati INL, inner plexiform layer (IPL), e outer nuclear layer (ONL); per la parafoveal retinal nerve fiber layer (RNFL), IPL, INL, e ONL; per la perifoveal RNFL, IPL, INL, ganglion cell layer (GCL), outer plexiform layer (OPL), e photoreceptor layer (PRL). Gli autori hanno trovato una debole relazione tra VA post-operatorio e lo spessore RNFL pre-operatorio in area foveale e perifoveale ($r = 0.404$ e $r = 0.359$, rispettivamente); una correlazione moderata è stata invece ritrovata tra VA post-operatorio e lo spessore pre-operatorio INL in area foveale e parafoveale ($r = 0.529$ e $r = 0.583$, rispettivamente) nei 31 pazienti sottoposti a chirurgia ($P \leq 0.047$). Infine lo spessore dello strato INL in area foveale, parafoveale e perifoveale mostra una correlazione moderata/forte con il visus ($r = 0.507$, 0.644 , and 0.548 , rispettivamente), con un

aumento della VA \geq di 2 linee nei pazienti operati ($P \leq 0.038$). Gli autori concludono evidenziando la positiva correlazione tra lo spessore di INL in area foveale, parafoveale, perifoveale e VA nel periodo pre-operatorio, e VA dopo vitrectomia, indicandolo come soddisfacente marker predittivo e prognostico per ERM [33].

Anche per questa patologia l'intento è stato trovare markers retinici predittivi per la VA. La ricerca della dipendenza struttura retinica /funzione visiva sarà in futuro sempre più presente con l'utilizzo degli OCT/OCTA.

Arrivare ad una diagnosi tomografica, per quanto possibile "cellulare", è la strada giusta per migliorare l'inquadramento clinico e indirizzare l'azione chirurgica. Ulteriore passo avanti sarà predisporre, in base ai dati tomografici, il timing operatorio, interpretare i dati strutturali in un'ottica funzionale, dinamica, inquadrare ogni segno angio-tomografico oltre le mere varianze di riflettività strutturale e di densità vascolare. ■

REFERENCES

- 1) Maria Salud García-Gutiérrez, Francisco Navarrete, Francisco Sala. Biomarkers in Psychiatry: Concept, Definition, Types and Relevance to the Clinical Reality. *Psychiatry*, 15 May 2020 <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2020.00432>.
- 2) Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* (2001) 69(3):89–95. doi: 10.1067/mcp.2001.113989.
- 3) https://it.wikipedia.org/wiki/National_Institutes_of_Health.
- 4) Robert L Holland. What makes a good biomarker? *Advances in Precision Medicine*, vol 1, issue 1, 2016.
- 5) Diabetic Retinopathy Clinical Research Network. The Relationship between OCT-measured Central Retinal Thickness and Visual Acuity in Diabetic Macular Edema. *Ophthalmology*. 2007 March; 114(3):525–536. doi:10.1016/j.ophtha.2006.06.052.
- 6) Neil M. Bressler, Allison R. Edwards, Andrew N. Antoszyk, Roy W. Beck, David J. Browning, Antonio P. Ciardella, Ronald P. Danis, Michael J. Elman, Scott M. Friedman, Adam R. Glassman, Jeffrey G. Gross, Helen K. Li, Timothy J. Murtha, Thomas W. Stone, and Jennifer K. Sun. Retinal Thickness on Stratus Optical Coherence Tomography in People with Diabetes and Minimal or No Diabetic Retinopath. *Am J Ophthalmol*. 2008 May;145(5):894–901.
- 7) Michèle Augsburger & Gian-Marco Sarra & Pascal Imesch. Treat and extend versus pro re nata regimens of ranibizumab and aflibercept in neovascular age-related macular degeneration: a comparative study. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* (2019) 257:1889–1895 <https://doi.org/10.1007/s00417-019-04404-0>.
- 8) Aronson JK. Biomarkers and surrogate endpoints. *Br J Clin Pharmacol*.2005;59:491–4.
- 9) Hill AB. The environment and disease: association or causation? *Proc R Soc Med*. 1965;58:295.
- 10) Ronald P Danis, Srinivas Sadda, Jenny Jiao, Xiao-Yan Li, Scott M Whitcup. Relationship between retinal thickness and visual acuity in eyes with retinal vein occlusion treated with dexamethasone implant. *Retina*. 2016 Jun;36(6):1170-6. doi: 10.1097/IAE.0000000000000851.
- 11) Buyse M, Sargent DJ, Grothey A, Matheson A, De Gramont A. Biomarkers and surrogate end points—the challenge of statistical validation. *Nat Rev Clin Oncol*. 2010;7:309–17.
- 12) Prateep Phadikar, Sandeep Saxena, Surabhi Ruia, Timothy Y. Y. Lai, Carsten H. Meyer and Dean Elliott. The potential of spectral domain optical coherence tomography imaging based retinal biomarkers. Phadikar et al. *Int J Retin Vitro* (2017) 3:1 DOI 10.1186/s40942-016-0054-7.
- 13) Luis Jáñez-Escalada, Lucía Jáñez-García, Elena Salobar-García, Alejandro Santos-Mayo, Rosa de Hoz, Raquel Yubero, Pedro Gil & José M. Ramírez. Spatial analysis of thickness changes in ten retinal layers of Alzheimer's disease patients based on optical coherence tomography. *Scientific Reports* (2019)9:13000. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49353-0>.

segue →

REFERENCES

- 14) Mohammad Hossein, Jabbarpoor Bonyadi, Ahmadreza Baghi, Alireza Ramezani, Mehdi Yaseri, Masoud Soheilian. Correlation of Macular Thickness and Visual Acuity in DME Treated by Two Doses of Intravitreal Ziv-Aflibercept Versus Bevacizumab: Analysis of a Randomized, Three-Armed Clinical Trial. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*. 2019 Nov 1;50(11):684-690. doi: 10.3928/23258160-20191031-03.
- 15) Sun, J. K. et al. Disorganization of the Retinal Inner Layers as a Predictor of Visual Acuity in Eyes With Center-Involved Diabetic Macular Edema. *JAMA Ophthalmol*. 132, 1309 (2014).
- 16) Scott, I. U. et al. SCORE Study Report 1: Baseline Associations between Central Retinal Thickness and Visual Acuity in Patients with Retinal Vein Occlusion. *Ophthalmology* 116, 504–512 (2009).
- 17) Nussenblatt, R. B., Kaufman, S. C., Palestine, A. G., Davis, M. D. & Ferris, F. L. Macular Thickening and Visual Acuity. *Ophthalmology* 94, 1134–1139 (1987).
- 18) Provis, J. M., Dubis, A. M., Maddess, T. & Carroll, J. Adaptation of the central retina for high acuity vision: Cones, the fovea and the avascular zone. *Prog. Retin. Eye Res.* 35, 63–81 (2013).
- 19) Stanley Poh, Yih-ChungTham, Miao Li Chee, Wei Dai, Shivani Majithia, Zhi Da Soh, Eva K. Fenwick, YijinTao, SahilThakur, Tyler Hyungtaek Rim, Charumathi Sabanayagam & Ching-Yu Cheng. Association between Macular Thickness Profiles and Visual Function in Healthy Eyes: The Singapore Epidemiology of Eye Diseases (SEED) Study. *Scientific Reports* (2020) 10:6142. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63063-y>.
- 20) Subhi, Y., Henningsen, G. Ø., Larsen, C. T., Sørensen, M. S. & Sørensen, T. L. Foveal Morphology Affects Self-Perceived Visual Function and Treatment Response in Neovascular Age-Related Macular Degeneration: A Cohort Study. *PLoS ONE* 9, e91227 (2014).
- 21) Provis, J. M., Dubis, A. M., Maddess, T. & Carroll, J. Adaptation of the central retina for high acuity vision: Cones, the fovea and the avascular zone. *Prog. Retin. Eye Res.* 35, 63–81 (2013).
- 22) Yi-Ting Hsieh, MD, Minhaj Nur Alam, David Le, Chia-Chieh Hsiao, Chang-Hao Yang, Daniel L. Chao, Xincheng Yao. OCT Angiography Biomarkers for Predicting Visual Outcomes after Ranibizumab Treatment for Diabetic Macular Edema. *Ophthalmol Retina*. 2019 October; 3(10): 826–834. doi:10.1016/j.oret.2019.04.027.
- 23) Lattanzio R, Cicinelli MV, Bandello F. Intravitreal steroids in diabetic macular edema. *Dev Ophthalmol*. 2017;60:78–90. [PubMed: 28427068].
- 24) Douvali M, Chatziralli IP, Theodosiadis PG, et al. Effect of macular ischemia on intravitreal ranibizumab treatment for diabetic macular edema. *Ophthalmologica*. 2014;232: 136–143.[PubMed: 25171753].
- 25) Serizawa S, Ohkoshi K, Minowa Y, Soejima K. Interdigitation zone band restoration after treatment of diabetic macular edema. *Curr Eye Res*. 2016;41:1229–1234. [PubMed: 26828673].
- 26) Moein HR, Novais EA, Rebhun CB, et al. Optical coherence tomography angiography to detect macular capillary ischemia in patients with inner retinal changes after resolved diabetic macular edema. *Retina*. 2018;38:2277–2284. [PubMed: 29068912].
- 27) Durbin MK, An L, Shemonski ND, et al. Quantification of retinal microvascular density in optical coherence tomographic angiography images in diabetic retinopathy. *JAMA Ophthalmol*. 2017;135:370–376. [PubMed: 28301651].
- 28) Noriko Terada, Tomoaki Murakami, Akihito Uji, Yoko Dodo, Yuki Mori & Akitaka Tsujikawa. Hyperreflective Walls in Foveal Cystoid Spaces as a Biomarker of Diabetic Macular Edema Refractory to Anti-VEGF Treatment. *Scientific Reports* 1 (2020) 10:7299 | <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64332-6>.
- 29) Tso, M. O. Pathology of cystoid macular edema. *Ophthalmology*. 89, 902–915 (1982).
- 30) Imai, H., Otsuka, K., Tetsumoto, A., Miki, A. and Nakamura, M. Effectiveness of En Bloc Removal of Fibrinogen-Rich Component of Cystoid Lesion for the Treatment of Cystoid Macular Edema. *Retina*. (2018).
- 31) Mizutani, M., Gerhardinger, C. & Lorenzi, M. Muller cell changes in human diabetic retinopathy. *Diabetes*. 47, 445–449 (1998).
- 32) Wynn, T. A. & Ramalingam, T. R. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease. *Nat Med*. 18, 1028–1040 (2012).
- 33) Jing Zou, Wei Tan, Wenlong Huang, Kangcheng Liu, Fangling Li and Huizhuo Xu. Association between individual retinal layer thickness and visual acuity in patients with epiretinal membrane: a pilot study. Zou et al. (2020), *PeerJ*, DOI 10.7717/peerj.9481.

Tecnica SLET nel deficit di cellule staminali limbari



Emilio Pedrotti¹,

Mariacarmela Ventura¹, Tiziano Cozzini¹, Adriano Fasolo^{1,2}, Erika Bonacci,¹ Giovanlorenzo Pastore¹,
Giorgio Marchini¹

¹Clinica Oculistica, Dipartimento di Neuroscienze, Biomedicina e Movimento, Università di Verona, Verona, Italia

²Fondazione Banca degli Occhi Veneto, Venezia Zelarino, Italia

Abstract: Il deficit di cellule staminali limbari è una grave patologia della superficie oculare caratterizzata da insufficienza delle cellule staminali del limbus dell'epitelio corneale. Lo scopo dello studio è quello di valutare in maniera oggettiva l'efficacia del trapianto di cellule staminali limbari sia clinicamente che microscopicamente mediante la microscopia confocale in vivo.

Materiali e metodi: sono stati arruolati 10 pazienti con deficit di cellule staminali limbari che sono stati sottoposti a trapianto. La microscopia confocale è stata eseguita al baseline e mensilmente nel postoperatorio fino al 12° mese di follow-up. Le cellule dendritiche corneali sono state rilevate e quantificate per valutare il grado d'infiammazione postoperatoria e per guidare l'uso della terapia steroidea.

Risultati: su 10 pazienti arruolati, 8 sono stati considerati successo completo, 1 successo parziale e 1 caso fallimento. Nei casi di successo, il tempo di riepitelizzazione medio è stato 41 giorni (con un normale epitelio corneale e una zona di transizione congiuntivale-corneale) e il tempo di riassorbimento della membrana amniotica umana 1 mese, mentre, nell'unico caso di successo parziale, il tempo di riepitelizzazione è durato 210 giorni. Nel caso di fallimento la membrana è stata riassorbita in sole 2 settimane, non è stata trovata la zona di transizione ed è stato riscontrato un epitelio con fenotipo congiuntivale.

Conclusioni: la microscopia confocale si è dimostrata uno strumento fondamentale in tutte le fasi del paziente con deficit di cellule staminali limbari, dalla diagnosi al management post trapianto.

Keywords and abbreviations: LSCD limbal stem cell deficiency, SLET simple limbal epithelial transplantation, IVC in vivo confocal microscopy, hAM human amniotic membrane, CLAU conjunctival-limbal autografting, CLET cultivated limbal stem cell transplantation, IC impression cytology, FSP focal stromal projections, DC dendritic cell, BSS balanced salt solution, PK penetrating keratoplasty.

Introduzione

La cornea si suddivide in 6 strati (epitelio corneale, strato di Bowman, stroma, strato di Dua, membrana di Descemet ed endotelio) e si caratterizza per essere trasparente, avascolare e priva di cellule mucipare (globet cells). L'epitelio corneale umano, costituito a sua volta da 5-7 strati cellulari, è in continua rigenerazione ed il suo turnover è garantito dall'efficacia del limbus. Il limbus rappresenta la porzione più esterna della cornea

e separa l'epitelio corneale da quello congiuntivale. Le cellule staminali corneali si localizzano principalmente a livello del limbus in nicchie connettivali (le palizzate di Vogt) (Fig. 1). Tali cellule si caratterizzano per essere unipotenti (in grado di differenziarsi solo in cellule corneali) e danno origine a cellule epiteliali secernenti matrilisina, una metallo proteinasi in grado di inibire l'angiogenesi, fondamentale in caso di riparazione epiteliale per mantenere la trasparenza corneale.

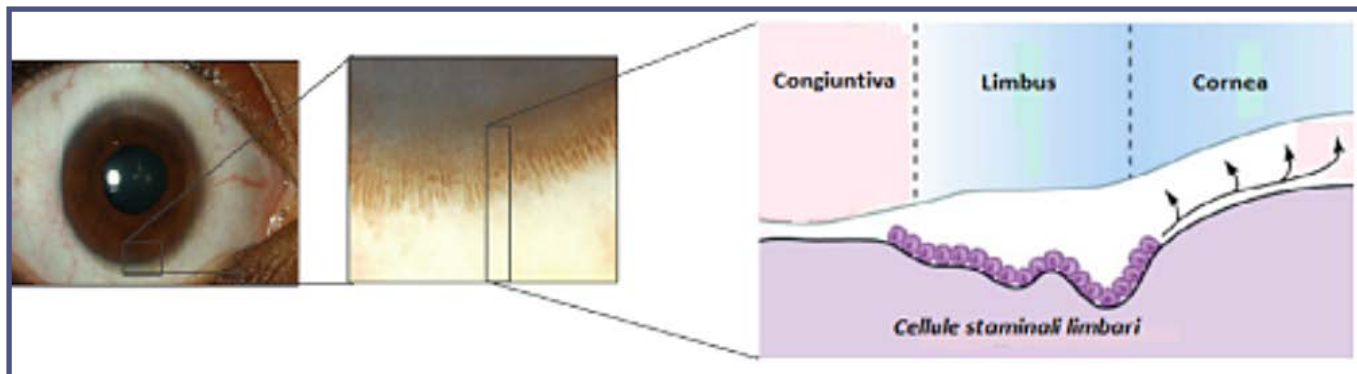


Fig. 1 - Il limbus divide l'epitelio corneale da quello congiuntivale. Le cellule staminali corneali si localizzano principalmente a livello del limbus in nicchie connettivali (le palizzate di Vogt).

Il deficit di cellule staminali limbari (LSCD) è una condizione rara, ma gravemente invalidante, che interessa la superficie oculare ed è causata dall'insufficienza delle cellule staminali localizzate nel limbus. La patologia può essere monolaterale o bilaterale, congenita o acquisita. La causa più frequente, tra le forme acquisite, è la causticazione oculare, ma altre condizioni responsabili di LSCD acquisita includono l'uso cronico di lenti a contatto, chirurgie plurime coinvolgenti il limbus, infezioni e la sindrome di Stevens-Johnson/necrolisi epidermica tossica. Nella LSCD le funzioni del limbus divengono deficitarie e pertanto la congiuntiva non è più separata dalla cornea e l'epitelio corneale manca del suo fisiologico turnover. Le conseguenze sono la progressiva invasione della cornea da parte della congiuntiva (processo di congiuntivalizzazione) e la comparsa di un epitelio opaco, traslucido e instabile (al posto di quello trasparente e lucente della cornea) con difetti epiteliali persistenti e ricorrenti che possono portare a gravi ulcerazioni. Negli stati avanzati dell'LSCD, il sovvertimento della superficie corneale interessa anche le strutture sottostanti con comparsa di fibrosi subepiteliale, panno corneale fibrovascolare, cicatrizzazione stromale e neovascolarizzazione¹. Il quadro clinico risultante è caratterizzato da importante calo visivo e discomfort oculare persistente con bruciore, dolore, lacrimazione, fotofobia e peggioramento della qualità di vita del paziente.

Il trattamento del LSCD è chirurgico e consiste nel trapianto di cellule staminali limbari. Nelle forme unilaterali si eseguono trapianti autologhi di cellule staminali prelevate dall'occhio controlaterale sano. Nelle forme bilaterali, invece, si eseguono trapianti allogenici prelevando le cellule staminali limbari da donatore (cadavere o dal parente geneticamente più prossimo). Le tecniche per il trattamento delle LSCD monolaterale si sono evolute negli ultimi anni dalla conjunctival-limbal autografting (CLAU) alla cultivated limbal stem cell

transplantation (CLET) alla tecnica di espansione di cellule limbari in situ simple limbal epithelial transplantation (SLET). Quest'ultima è stata proposta recentemente proprio per superare la criticità delle tecniche precedenti: l'estesa biopsia nell'occhio adelfo necessaria per l'esecuzione della CLAU (rischio di LSCD iatrogeno), gli elevati costi dei laboratori dedicati per l'espansione delle cellule, la complessa strumentazione e le tempistiche della CLET²⁻⁴. Accanto all'obiettività clinica alla lampada a fessura, la qualità dell'epitelio corneale può essere valutata oggettivamente in vivo con la microscopia confocale (IVCM). Questo strumento consente la valutazione oggettiva della morfologia cellulare di tutti gli strati corneali e la valutazione di una "zona di transizione" tra epitelio corneale e congiuntivale che funge da "nuovo limbus". L'IVCM si è dimostrata più accurata ed affidabile sia nella diagnosi di LSCD che nella valutazione a lungo termine del trapianto di cellule staminali limbari⁵ rispetto ad altre tecniche (esame con lampada a fessura e citologia ad impressione (IC))⁶.

Materiali e metodi

Nel presente studio sono stati reclutati tutti i pazienti, seguiti presso il servizio di patologia corneale della Clinica Oculistica Universitaria di Verona tra Agosto 2017 e Dicembre 2018, affetti da LSCD unilaterale e candidati a SLET. I criteri di esclusione erano: LSCD bilaterale e presenza di patologie oculari concomitanti come grave dry eye disease, alterazioni della dinamica palpebrale ed infezione. Il limbus e l'intera superficie corneale sono stati valutati con lampada a fessura e IVCM sia per la diagnosi di LSCD che per il follow-up post-chirurgico. Tale valutazione è stata eseguita con una cadenza mensile a partire dal primo mese dopo l'intervento per una durata totale di 12 mesi. Nella visita preoperatoria anche l'occhio adelfo è stato sottoposto a valutazione completa (anche con IVCM) al fine di verificare la presenza di una zona limbare indenne.

Valutazione Clinica e Staging del LSCD

La diagnosi di LSCD è stata condotta secondo i criteri di Dua e di Azuara-Blanco⁷:

- 1) completa assenza delle palizzate limbari di Vogt,
- 2) congiuntivalizzazione corneale.

La stadiazione dell'LSCD è stata invece affidata al "Global consensus on definition, classification, diagnosis, and staging of LSCD".

Lo stadio I è caratterizzato dal coinvolgimento della sola periferia corneale e si sottoclassifica in stadio IA (coinvolgimento limbare < 50%), stadio IB (coinvolgimento limbare > 50% ma <100%) e stadio IC (coinvolgimento limbare del 100%). Lo stadio II implica invece il coinvolgimento della periferia corneale e dei 5 mm centrali della cornea ed è anch'esso sottoclassificato in stadio IIA e stadio IIB. Lo stadio III è caratterizzato dal coinvolgimento dell'intera superficie corneale¹.

In ogni visita di controllo sono state esaminate l'integrità, la trasparenza, la permeabilità alla colorazione con fluoresceina e la neovascolarizzazione della superficie corneale.

Il successo chirurgico è stato definito completo, quando l'epitelio appariva trasparente, avascolare ed integro; parziale, in caso di ricomparsa di neovascolarizzazione superficiale al di fuori dell'asse ottico. È stato definito fallimentare in caso di difetti epiteliali ricorrenti, panno corneale centrale e flogosi durante tutto il periodo di follow-up⁸.

Esame con IVCM

L'IVCM è una tecnica di imaging ad alta risoluzione che, basandosi sul principio della microscopia confocale in vivo, permette di valutare tutte le componenti del tessuto corneale. L'IVCM in questo studio è stato eseguito con Heidelberg Retina Tomograph III (HRT III) con il Rostock Corneal Module (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) dopo aver anestetizzato e protetto l'occhio dei pazienti con una lente a contatto terapeutica.

La diagnosi di LSCD totale è stata posta verificando la presenza sulla superficie corneale di cellule epiteliali congiuntivali e l'assenza di cellule epiteliali corneali¹. Altri aspetti a supporto della diagnosi sono: l'assenza della fisiologica zona di transizione epiteliale limbare (zona anatomica osservabile esclusivamente con IVCM), l'assenza dell'architettura a palizzata al limbus (ovvero cripte limbari e proiezioni stromali focali, FSP)⁹, la scomparsa della membrana di Bowman, la rarefazione del plesso nervoso basale subepiteliale^{10,11} e la presenza di alterazioni cistiche, cellule caliciformi (globet cell) e cellule dendritiche (DC)¹⁴.

L'IVCM è stato eseguito nel postoperatorio a partire dal 30° giorno dopo SLET e dal 49° giorno di terapia in tutti i follow-up successivi.

La terapia corticosteroidica è stata modulata sulla base della presenza e del grado di attività delle cellule infiammatorie centrali riscontrate all'IVCM¹⁷: il corticosteroide topico veniva mantenuto con una posologia di 1 goccia tre volte al giorno se 15 o più DC attivate erano riscontrabili al livello della membrana basale nella zona centrale della cornea; quando il numero di DC era inferiore a 15 la dose di corticosteroide veniva ridotta gradualmente di 1 gtt goccia ogni settimana.

La tecnica chirurgica SLET

Gli interventi di SLET sono stati eseguiti da un singolo chirurgo esperto (E.P.) secondo la tecnica descritta da Sangwan et al.²

Dopo anestesia topica, dall'occhio del donatore, è stata escissa un'area di 2x2 mm di tessuto limbare superiore e disposta in soluzione fisiologica sterile (BSS). Previa anestesia peribulbare, l'occhio ricevente è stato sottoposto a peritomia congiuntivale a 360° con rimozione del panno corneale vascolare. Successivamente è stato posizionato sulla superficie oculare del ricevente un innesto di membrana amniotica umana (hAM), con il lato stromale rivolto verso il basso, e mantenuto in sede con colla di fibrina. Il tessuto limbare del donatore è stato diviso in 8 piccoli segmenti uguali. Questi sono stati disposti in modo equidistante e circolare sulla hAM, con risparmio dell'asse visivo, e fissati con colla di fibrina.

Infine è stata posizionata una lente a contatto terapeutica che è stata mantenuta in sede per 3 settimane. Dal 21esimo giorno postoperatorio è stata sostituita ad ogni follow-up.

Per le prime 72 ore dall'intervento, l'occhio operato è stato mantenuto chiuso tramite strips e al paziente è stata prescritta la sola terapia orale con prednisone (Deltacortene, 1 mg/kg/die), ciprofloxacina (Ciproxin, 500 mg due volte/die) e protettore gastrico (Lansoprazolo 30 mg).

Dopo le 72 ore postoperatorie è stata introdotta la terapia topica e scalata la sistemica.

La terapia topica consisteva in netilmicina solfato in monodose (Nettacin) 4 volte al giorno per 40 giorni e desametasone sodio difosfato (Dexamono 0.15%) 6 volte al giorno per almeno 30 giorni, successivamente scalata gradualmente in accordo con il grado di infiammazione riscontrato.

Fino alla completa chiusura dell'epitelio, i pazienti sono stati valutati con cadenza settimanale e, in assenza di complicanze, le visite di controllo successive sono

state pianificate mensilmente e l'IVCM è stato eseguito ad ogni follow-up per 12 mesi.

Risultati

Nello studio sono stati arruolati 10 pazienti (di cui 9 maschi, con età media di 59.5 anni) con LSCD di stadio III, panno corneale con congiuntivalizzazione, assenza di palizzate di Vogt, (Fig. 2) che lamentavano sintomi quali bruciore, dolore oculare e fotofobia. In quattro pazienti è stato inoltre riscontrato anche un assottigliamento dell'intero stroma corneale.

Tutti gli occhi controlaterali presentavano all'IVCM una superficie oculare sana e una fisiologica anatomia limbare (Fig. 3). Nessun evento avverso è stato riportato dopo escissione di tessuto limbare dall'occhio donatore (Fig. 4). Dopo un anno dalla SLET la valutazione clinica e l'IVCM hanno rivelato 8 successi, 1 successo parziale con una particolare morfologia epiteliale e 1 fallimento (Fig. 2). In tutti i pazienti con successo chirurgico (sia completo che parziale), la rigenerazione di un epitelio corneale stabile è stata associata al miglioramento dei sintomi. Le prime cellule epiteliali presentavano margini indistinti, nuclei riflettenti e un alto rapporto nucleo/citoplasma (Fig. 5), paragonabili a cellule epiteliali corneali in replicazione e in migrazione durante i processi di guarigione¹⁶. In seguito è stato osservato un epitelio corneale regolare con citoplasma scuro, senza nuclei, che è rimasto stabile per tutto il follow-up (Fig. 5). Le tipiche caratteristiche della hAM erano evidenti all'esame al confocale per oltre un mese¹⁵ e i pezzi biotipici limbari si sono progressivamente integrati fino a diventare quasi non più evidenziabili né clinicamente né all'IVCM dopo circa 3 mesi.

La zona di transizione è stata osservabile tramite IVCM dopo una media di 6 mesi (range 4-7) (Fig. 6-7),

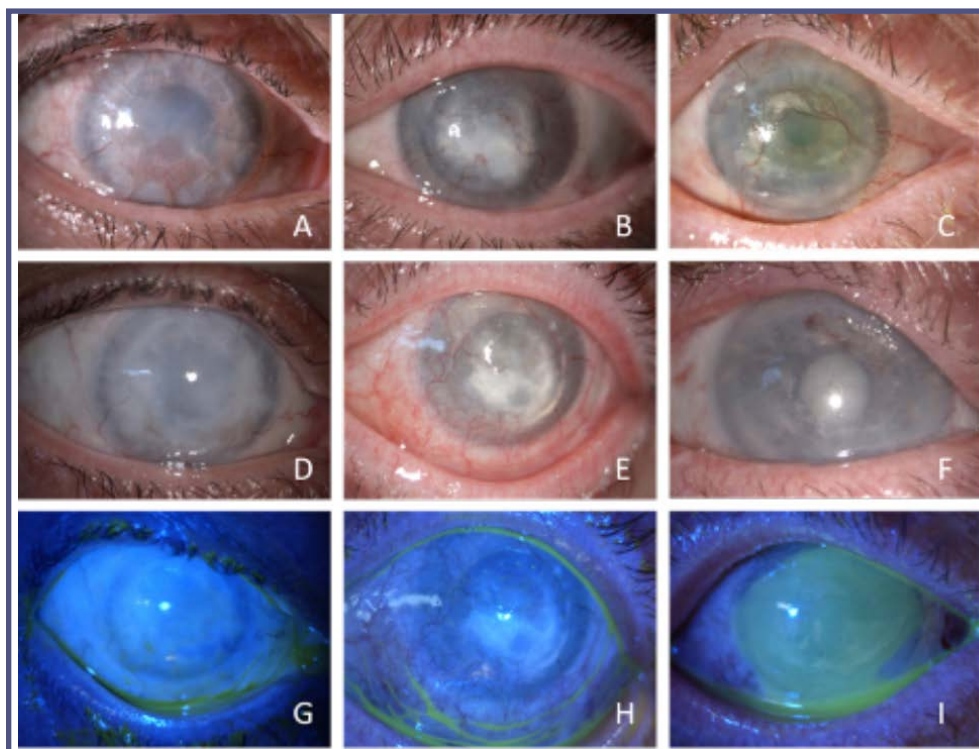


Fig. 2 - Fotografie con lampada a fessura che mostrano l'aspetto pre e postoperatorio di occhi con LSCD sottoposti a SLET. Pazienti 1 (A, D, G), 2 (B, E, H) e 3 (C, F, I). Nel periodo preoperatorio è mostrata l'assenza di palizzate di Vogt, neovascolarizzazione corneale che si espande in maniera centripeta, eccessiva crescita congiuntivale sulla cornea centrale e opacizzazione dello stroma corneale (A, B, C). Talvolta è presente una debole colorazione con fluoresceina al centro della cornea (C).

Aspetto postoperatorio degli stessi occhi un anno dopo SLET con luce bianca (D, E, F) e blu cobalto dopo colorazione con fluoresceina (G, H, I): il paziente 1 è stato considerato un successo clinico presentando un epitelio intatto, trasparente e privo di neovascolarizzazione (D, G); il paziente 2 è stato considerato un successo parziale, poiché nonostante un epitelio intatto si evince la presenza di nevasi che però risparmiano il centro della cornea (E, H); il paziente 3, nonostante l'assenza di nevasi, è stato considerato un fallimento per la presenza di un grande difetto epiteliale.

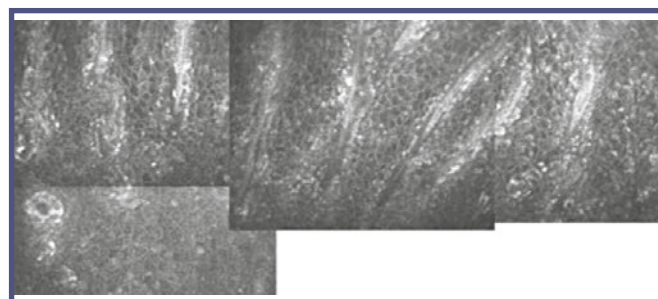


Fig. 3 - Palizzate di Vogt in occhio sano controlaterale con presenza di processi stromali e cellule con elevato rapporto nucleo/citoplasma adese ad essi.

tuttavia, in nessuno di questi pazienti è stata riscontrata una struttura limbare anatomicamente definita ed organizzata, né cripte limbari o FSP dopo la SLET.

Il tempo medio di riepitelizzazione valutato clinicamente alla lampada a fessura è stato di 41 giorni (27.5-91.5 giorni).

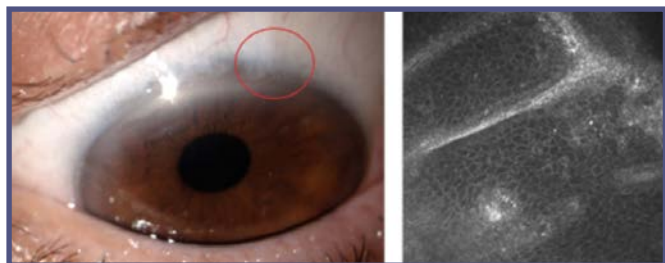


Fig. 4 - Occhio donatore 12 mesi dopo prelievo limbare e relativa immagine IVCM.

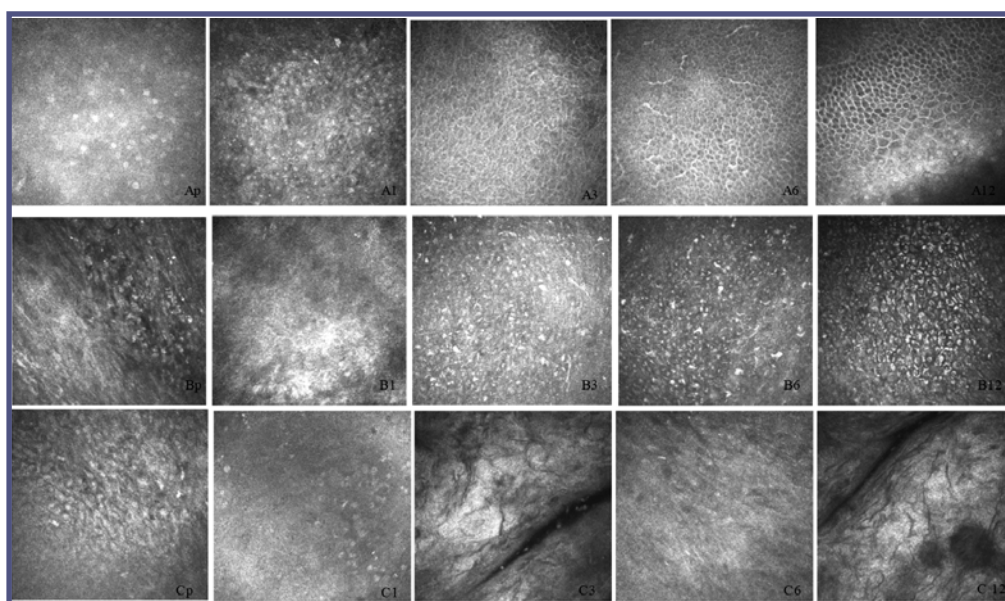


Fig. 5 - Risultati dell'IVCM di un caso di successo (paziente A), di successo parziale (paziente B) e fallimento (paziente C) prima dell'intervento (p) e 1, 3, 6 e 12 mesi dopo SLET. Tutte le immagini sono state scattate nella cornea centrale a livello dell'epitelio. Le figure Ap, Bp, Cp rappresentano l'epitelio congiuntivalizzato.

Epitelio immaturo con piccoli corpi cellulari indistinti, nuclei luminosi e un elevato rapporto nucleol/citoplasma a 1 e 3 mesi dopo SLET (A1 e A3). Epitelio corneale normale con alcune DC a 6 mesi e scansione trasversale a 12 mesi che mostra epitelio stratificato con fenotipo corneale (A6 e A12). Assenza di cellule epiteliali al primo mese (B1). Piccole cellule epiteliali, citoplasma scuro e nuclei visibili nel caso di successo parziale (B3) che si sono progressivamente ingranditi, presentando bordi iperriflettenti con nuclei attivati e un rapporto nucleol/citoplasma ridotto (B6 e B12). Nel caso di fallimento si apprezza l'assenza di riepitelizzazione quindi, sull'IVCM, non sono state rilevate cellule ed è visibile solo lo stroma (C1-C6) con alcuni detriti (C12).

In un paziente la tempistica di riepitelizzazione è stata invece di 210 giorni, dunque significativamente più lunga del tempo medio degli altri 8 pazienti (39.5 giorni [25.3-58.5], $p=0.043$).

Le prime cellule epiteliali identificabili in questo paziente avevano un piccolo corpo cellulare, margini riflettenti scarsamente definiti, citoplasma scuro e nuclei non visibili (Fig. 5).

Dopo 6 mesi dalla SLET le cellule epiteliali erano iperriflettenti, avevano aumentato il loro volume e mostravano nuclei attivati con ridotto rapporto nucleol/citoplasma (Fig. 5).

Alla fine del follow-up dello studio, la superficie corneale si è mantenuta integra e le cellule hanno conservato l'aspetto disomorfico senza segni di infiammazione all'IVCM (Fig. 5).

Una residua area di vascolarizzazione superficiale era clinicamente evidente nel quadrante superotemporale e il trattamento è stato pertanto considerato un successo parziale (Fig. 2).

Nell'unico caso di fallimento è stato invece documentato il peggioramento della sensazione di bruciore e il riassorbimento della hAM e dei pezzi biotici limbari in sole 2 settimane.

In questo paziente è stato inoltre individuato un epitelio con caratteristiche congiuntivali mentre la zona di transizione è non stata identificabile (Fig. 5).

DC mature attivate con dendriti pronunciati, alta riflettività e distribuzione in cluster sono state osservate, sia in periferia corneale che nella zona centrale, in tutti i pazienti nel primo mese postoperatorio. Tuttavia, già dal secondo mese, il numero delle DC si è ridotto gradualmente, in particolare nella cornea centrale, presentando via via caratteristiche di quiescenza (Fig. 8).

PK di successo dopo SLET di successo

Preoperatoriamente, è stato individuato e confermato all'ASOCT un grave assottigliamento dello stroma corneale di quattro pazienti. Benché sia stato documentato il ripristino dell'epitelio corneale dopo la SLET, questi pazienti sono stati sottoposti ad un intervento di cheratoplastica penetrante (PK) 6 mesi dopo la chirurgia per evitare una possibile perforazione da mancanza di supporto stromale.

Dopo 12 mesi dal PK, tutti i pazienti hanno mostrato un epitelio corneale integro e trasparente, un fenotipo corneale normale e una zona di transizione ben distinguibile all'IVCM (Fig. 7).

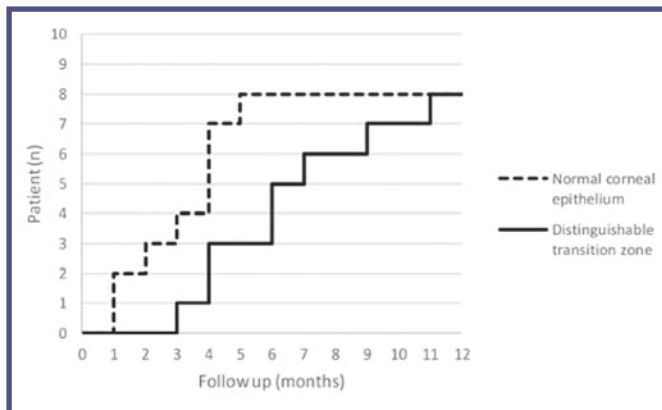


Fig. 6 - Risultati all'IVCM dei casi di successo (8 pazienti su 10). Un epitelio con normale fenotipo corneale è stato rilevato nella maggioranza dei pazienti al 4° mese (linea tratteggiata). In seguito è stata trovata una zona di transizione chiaramente distinguibile nella periferia che è apparsa in un intervallo di tempo variabile tra i pazienti (linea continua).

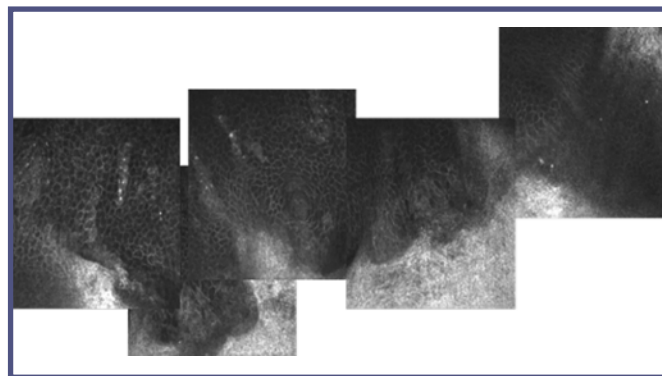


Fig. 7 - Esempio di zona di transizione riscontrata in un caso di successo a 12 mesi dal trapianto corneale perforante (18 mesi dalla SLET) che mostra chiaramente cellule a fenotipo corneale (iporiflettenti e senza nuclei visibili), cellule a fenotipo congiuntivale (in basso a sinistra) e stroma (in basso a destra). Nonostante una struttura limbare normale non sia identificabile, la zona di transizione risulta chiaramente distinguibile come segno di successo.

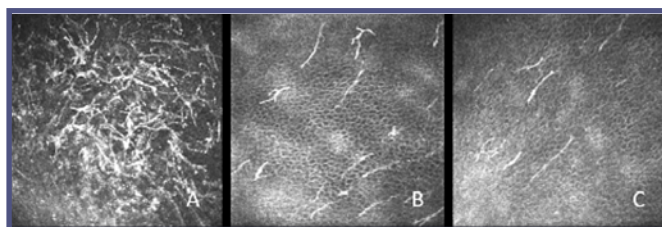


Fig. 8 - L'IVCM mostra il numero di cellule dendritiche a 1, 2 e 3 mesi dopo l'intervento nel successo parziale. Cluster di cellule dendritiche mature attivate (DC) nella cornea centrale al primo mese postoperatorio (A). Notevole riduzione a 15 del numero di DC a livello dell'epitelio basale (B). Meno di 6 DC con caratteristica di quiescenza 3 mesi dopo l'intervento.

Discussione

In accordo con i dati della letteratura, nel presente studio la tecnica SLET riporta un tasso di successo dell'80%¹²⁻¹³.

I fattori di rischio noti per il fallimento della procedura sono: storia di causticazioni con acidi, presenza di simblefaron, cheratoplastica combinata con SLET e perdita precoce dei pezzi bioptici limbari trapiantati¹². Il caso di fallimento di questo studio può essere invece imputabile al rapido riassorbimento dell'hAM (2 settimane) che non ha potuto così garantire un supporto sufficiente alla crescita cellulare.

Dopo la SLET, nei casi di successo, le tipiche caratteristiche della hAM individuate all'esame al confocale sono rimaste evidenti per oltre un mese¹⁵.

L'IVCM nel presente studio è stato utilizzato non solo per la diagnosi di LSCD e per il monitoraggio del fenotipo cellulare epiteliale, ma è stato un valido supporto per il management terapeutico. E' stato infatti

utilizzato per monitorare la flogosi corneale tramite la presenza delle DC. Un'aumentata densità di DC è riscontrata nei primi mesi dopo la SLET, in particolare nella cornea centrale, ed è verosimilmente legata ad uno stimolo flogistico chirurgico nelle prime 3 settimane postoperatorie. Successivamente è probabile che la flogosi sia stata sostenuta dalla migrazione verso la cornea centrale^{18,19} delle DC periferiche. Il livello di flogosi, monitorato contando il numero di DC attivate centrali, è stato da guida per la modulazione del regime immunosoppressivo postoperatorio. Questo lavoro per la prima volta suggerisce un trattamento steroideo IVCM - guidato e customizzato idoneo a sopprimere la risposta flogistica-immunitaria, evitando terapie eccessive e prolungate o, al contrario, una riduzione della posologia troppo rapida.

La zona di transizione periferica tra epitelio corneale e congiuntivale è stata riscontrata in tutti i casi di successo. Tuttavia, le cripte limbari e le strutture similpalizzate non sono state evidenziabili. In effetti il sovvertimento anatomico della struttura limbare riscontrato nei pazienti con LSCD è notevole ed è pertanto possibile che, dopo trapianto di limbus, le nuove nicchie di cellule staminali risiedano in ambienti specializzati diversi dai classici loci. Uno studio precedente ha dimostrato come la ripopolazione di cellule staminali limbari prelevate da trapianto limbare autologo, non abbia ripristinato (dopo 1 anno) una normale architettura limbare a fronte invece di un'efficienza funzionale²⁰.

Si potrebbe postulare che nuove nicchie di cellule staminali limbari si sviluppino dopo SLET, ma dato che le caratteristiche distintive di staminalità non sono rilevabili con l'IVCM, la loro esatta localizzazione e

struttura rimane da chiarire.

Ulteriori studi sono necessari per fare luce su questo aspetto, dato che questa informazione è fondamentale per dare una prognosi più accurata per la riabilitazione visiva secondaria a cheratoplastica.

I casi sottoposti a PK, 6 mesi dopo SLET, hanno mostrato una zona di transizione ben rappresentata ed un normale processo di riepitelizzazione con cellule epiteliali corneali (Fig. 7). La presenza della zona di transizione per almeno 6 mesi dopo la SLET è stata

sufficiente a ristabilire e mantenere l'epitelio dopo la cheratoplastica (Fig. 7).

In conclusione l'IVCM è una tecnica utile per la diagnosi di LSCD e consente un monitoraggio longitudinale del processo di guarigione nel periodo postoperatorio dando aiuto alla modulazione steroidea e sostenendo l'efficacia della tecnica SLET sia in termini di ripristino della funzione del limbus che di restitutio ad integrum dell'epitelio corneale. ■

REFERENCES

- Deng SX, Borderie V, Chan CC, et al. Global Consensus on Definition, Classification, Diagnosis, and Staging of Limbal Stem Cell Deficiency. *Cornea*. 2019;38(3):364-375.
- Sangwan VS, Basu S, MacNeil S, Balasubramanian D. Simple limbal epithelial transplantation (SLET): a novel surgical technique for the treatment of unilateral limbal stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol*. 2012;96(7):931-934.
- Arora R, Dokania P, Manudhane A, Goyal JL. Preliminary results from the comparison of simple limbal epithelial transplantation with conjunctival limbal autologous transplantation in severe unilateral chronic ocular burns. *Indian J Ophthalmol*. 2017;65(1):35-40.
- Yin J, Jurkunas U. Limbal Stem Cell Transplantation and Complications. *Semin Ophthalmol*. 2018;33(1):134-141.
- Pedrotti E, Passilongo M, Fasolo A, et al. In Vivo Confocal Microscopy 1 Year after Autologous Cultured Limbal Stem Cell Grafts. *Ophthalmology*. 2015;122(8):1660-1668.
- Prabhasawat P, Luangaram A, Ekpo P, et al. Epithelial analysis of simple limbal epithelial transplantation in limbal stem cell deficiency by in vivo confocal microscopy and impression cytology. *Cell Tissue Bank*. 2019;20(1):95-108.
- Dua HS, Azuara-Blanco A. Limbal stem cells of the corneal epithelium. *Surv Ophthalmol*. 2000;44(5):415-425.
- Rama P, Matuska S, Paganoni G, Spinelli A, De Luca M, Pellegrini G. Limbal stem-cell therapy and long-term corneal regeneration. *N Engl J Med*. 2010;363(2):147-155.
- Shortt AJ, Secker GA, Munro PM, Khaw PT, Tuft SJ, Daniels JT. Characterization of the limbal epithelial stem cell niche: novel imaging techniques permit in vivo observation and targeted biopsy of limbal epithelial stem cells. *Stem Cells*. 2007;25(6):1402-1409.
- Miri A, Alomar T, Nubile M, et al. In vivo confocal microscopic findings in patients with limbal stem cell deficiency. *Br J Ophthalmol*. 2012;96(4):523-529.
- Lagali N, Wowra B, Dobrowolski D, Utheim TP, Fagerholm P, Wylegala E. Stage-related central corneal epithelial transformation in congenital aniridia-associated keratopathy. *Ocul Surf*. 2018;16(1):163-172.
- Basu S, Sureka SP, Shanbhag SS, Kethiri AR, Singh V, Sangwan VS. Simple Limbal Epithelial Transplantation: Long-Term Clinical Outcomes in 125 Cases of Uni-lateral Chronic Ocular Surface Burns. *Ophthalmology*. 2016;123(5):1000-1010.
- Vazirani J, Ali MH, Sharma N, et al. Autologous simple limbal epithelial transplantation for unilateral limbal stem cell deficiency: multicentre results. *Br J Ophthalmol*. 2016;100(10):1416-1420.
- Efron N, Al-Dossari M, Pritchard N. In vivo confocal microscopy of the bulbar conjunctiva. *Clin Exp Ophthalmol*. 2009;37(4):335-344.
- Nubile M, Dua HS, Lanzini TE, et al. Amniotic membrane transplantation for the management of corneal epithelial defects: an in vivo confocal microscopic study. *Br J Ophthalmol*. 2008;92(1):54-60.
- Chen WL, Lin CT, Ko PS, et al. In vivo confocal microscopic findings of corneal wound healing after corneal epithelial debridement in diabetic vitrectomy. *Ophthalmology*. 2009;116(6):1038-1047.
- Lagali N, Bourghardt BP, Germundsson J, et al. Laser-scanning in vivo confocal microscopy of the cornea: imaging and analysis methods for preclinical and clinical applications. In: *Vol Laser Confocal Microscopy: Applications in Medicine, Biology, and the Food Sciences: IntechOpen*; 2013.
- Mastropasqua L, Nubile M, Lanzini M, et al. Epithelial dendritic cell distribution in normal and inflamed human cornea: in vivo confocal microscopy study. *Am J Ophthalmol*. 2006;142(5):736-744.
- Lagali NS, Badian RA, Liu X, et al. Dendritic cell maturation in the corneal epithelium with onset of type 2 diabetes is associated with tumor necrosis factor receptor superfamily member 9. *Sci Rep*. 2018;8(1):14248.
- Busin M, Breda C, Bertolin M, et al. Corneal Epithelial Stem Cells Repopulate the Donor Area within 1 Year from Limbus Removal for Limbal Autograft. *Ophthalmology*. 2016;123(12):2481-2488.

Fori maculari lamellari: relazione tra blue fundus autofluorescence e optical coherence tomography



Roberto dell'Omo¹, Mariaelena Filippelli¹, Serena De Turris², Pasquale Napolitano¹, Gianni Virgili³, Ferdinando Bottoni⁴, Ciro Costagliola¹

¹Dipartimento di Medicina e Scienze per la Salute "Vincenzo Tiberio", Università degli Studi del Molise, Campobasso - ²Clinica Oculistica, Università Politecnica delle Marche, Ancona - ³Dipartimento di Chirurgia e Medicina Traslazionale, Università di Firenze, Firenze -

⁴Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche "Luigi Sacco," Università di Milano

Abstract - Scopo del lavoro: valutare la relazione tra immagini acquisite con blue fundus autofluorescence (B-FAF) e optical coherence tomography (OCT) in occhi affetti da foro maculare lamellare (LMH), con particolare riferimento alla corrispondenza fra le due metodiche di imaging per la misurazione del diametro del foro.

Metodi: studio osservazionale retrospettivo eseguito in un centro universitario. Le immagini sono state eseguite tramite un sistema che combina spectral-domain OCT con un confocal scanning laser ophthalmoscope. I pazienti reclutati dovevano presentare un LMH trattativo o degenerativo all'esame OCT e un'area di aumentata autofluorescenza alla B-FAF in corrispondenza del foro. I diametri del foro all'OCT sono stati misurati a 4 livelli: internal limiting membrane (ILM), strato plessiforme esterno (OPL), schisi/cavitazione e discontinuità della ellipsoid zone (EZ). Tutte le misurazioni sono state eseguite usando la funzione "manual caliper" fornita dal software dell'apparecchio utilizzato, dopo aggiustamento della scala a 1:1 μm . I coefficienti di correlazione di Pearson e Spearman sono stati utilizzati per valutare la correlazione tra i diametri del foro misurato sulle immagini B-FAF e OCT. Un valore di $p < 0.05$ è stato considerato statisticamente significativo.

Risultati: sono stati reclutati e inclusi nello studio 72 pazienti (72 occhi), con età media 68.5 ± 9.0 anni. Lo studio ha evidenziato una correlazione tra i diametri misurati tramite B-FAF con quelli misurati tramite OCT a livello dello OPL ($r = 0.79$, $P < 0.0001$). Le correlazioni fra diametri B-FAF e OPL nel gruppo con LMH trattativo e in quello con LMH degenerativo sono risultate: $r = 0.89$, $P < 0.0001$, e $r = 0.75$, $P < 0.0001$, rispettivamente. Correlazione più debole si è evidenziata per i diametri misurati a livello della ILM ($r = 0.59$, $P = 0.007$). Nessuna relazione è stata trovata tra i diametri misurati tramite B-FAF e quelli misurati tramite OCT a livello della schisi/cavitazione o delle aree di discontinuità della EZ.

Conclusioni: I risultati di questo studio mostrano che, indipendentemente dal tipo di LMH (trattativo o degenerativo) esiste una forte correlazione tra i diametri del foro misurati tramite metodica B-FAF e quelli misurati a livello OPL con metodica OCT. Questo risultato suggerisce che la perdita o il dislocamento di tessuto retinico all'interno di tale strato della retina potrebbe essere il maggior responsabile dell'incremento di segnale B-FAF osservato in corrispondenza del foro in occhi affetti da LMH.

Keywords: Lamellar macular hole, epiretinal membrane, epiretinal proliferation, optical coherence tomography, blue fundus autofluorescence.

Abbreviations: B-FAF= blue fundus autofluorescence; EP= epiretinal proliferation (proliferazione epiretinica); ERM= epiretinal membrane (membrana epiretinica); EZ= ellipsoid zone; FTMH= full-thickness macular hole (foro maculare a tutto spessore); ILM=internal limiting membrane; LMH= lamellar macular hole; OCT= optical coherence tomography; ONL= outer nuclear layer (strato nucleare esterno); OPL= outer plexiform layer (strato plessiforme esterno); RPE=retinal pigment epithelium (epitelio pigmentato retinico).

Introduzione

Il termine “foro maculare lamellare” (LMH) è stato introdotto nel 1975 da Gassⁱ. Gass descrisse, con esame alla lampada a fessura, una lesione della macula, rossa, ovale, derivante dalla rottura di una cisti retinica nel contesto di edema maculare cistoide. Il foro lamellare descritto originariamente da Gass era quindi secondario ad edema maculare; da allora il termine LMH è stato usato per descrivere alterazioni della fovea, con determinate caratteristiche all’esame biomicroscopico, indipendentemente dalla patogenesi (idiopatica o secondaria).

Successivamente, con l’avvento e la diffusione dell’Optical Coherence Tomography (OCT) il LMH è stato meglio caratterizzato e definito come una lesione avente le seguenti caratteristiche^{ii,iii}:

- *profilo irregolare della fovea*
- *difetto della fovea interna*
- *schisi o cavitazione intraretinica (tipicamente tra gli strati plessiforme esterno [OPL] e nucleare esterno [ONL])*
- *assenza di un difetto a tutto spessore della retina*

Il LMH, per definizione a spessore parziale, può quindi essere facilmente distinto da un foro maculare a tutto spessore (Full-Thickness Macular Holes – FTMH). Infatti, nel LMH è conservato uno strato retinico esterno che invece è assente nel FTMH. Frequentemente, si associano al LMH alterazioni dell’interfaccia vitreoretinica. In particolare, possono essere presenti una membrana epiretinica (ERM) standard e/o una proliferazione epiretinica (EP), quest’ultima denominata in passato,

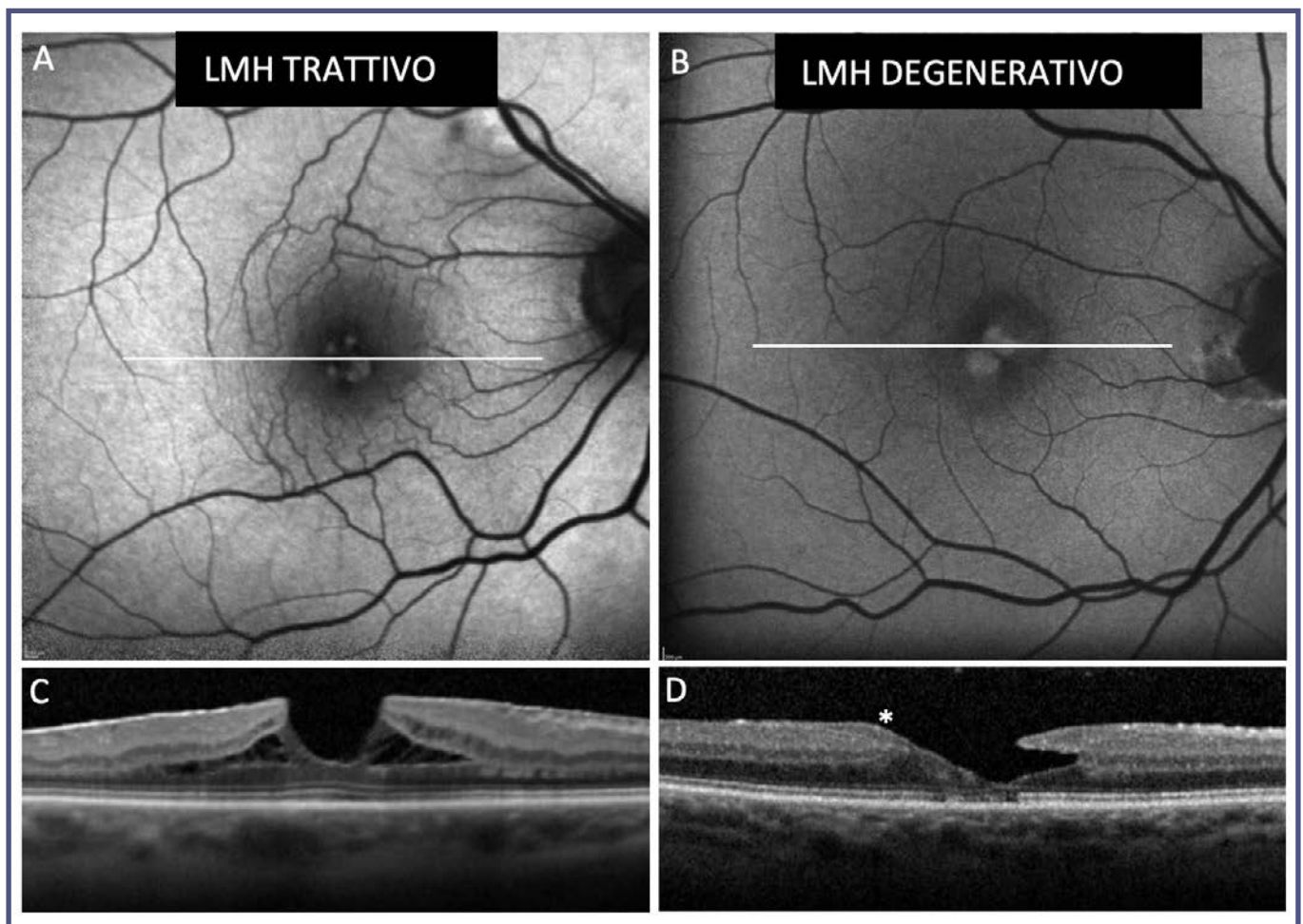


Fig. 1 - Blue-Fundus autofluorescence (B-FAF, A,B) e corrispondenti (C,D) scansioni optical coherence tomography (OCT) di un foro maculare lamellare (LMH) trattivo associato a membrana epiretinica (epiretinal membrane, ERM) (A, C) e di un LMH degenerativo associato a proliferazione epiretinica (epiretinal proliferation, EP, B, D). L'ERM è caratteristicamente sottile, altamente riflettente e separata dalla sottostante superficie retinica interna da spazi iporiflettenti; la EP (asterisco) presenta invece una media riflettività, variazioni focali dello spessore e si conforma perfettamente al profilo della superficie retinica interna senza soluzioni di continuo con la sottostante membrana limitante interna; inoltre può estendersi, come nel caso illustrato, dalla superficie retinica interna alla superficie della cavitazione del foro lamellare. La linea bianca sulle immagini B-FAF indica il livello di scansione OCT.

dagli autori che la descrissero per la prima volta, “membrana inusuale” o “membrana spessa”ⁱⁱ (Fig.1). La definizione di “inusuale” e “spessa” deriva dal fatto che, all’esame OCT, l’ERM è caratteristicamente sottile e altamente riflettente e separata dalla sottostante superficie retinica interna da spazi iporiflettenti; al contrario la EP, presenta una riflettività media, uno spessore usualmente maggiore di quello dell’ERM ($\geq 20 \mu\text{m}$), variazioni focali dello spessore e si conforma perfettamente al profilo della superficie retinica interna senza soluzioni di continuo con la sottostante membrana limitante interna; inoltre può estendersi dalla superficie retinica interna alla superficie della cavitazione del foro lamellare.

La blue fundus autofluorescence (B-FAF) è divenuta recentemente una tecnica molto utilizzata per l’indagine clinica e per la valutazione di patologie retiniche^{iv}. Il segnale rilevato da tale metodica è generato da fluorofori prevalentemente presenti nella lipofusina, un prodotto di scarto del metabolismo dei fotorecettori che si accumula nelle cellule dell’epitelio pigmentato retinico (RPE). L’autofluorescenza derivante dalle cellule EPR è schermata, nella parte centrale della macula, in modo preponderante dai pigmenti maculari (luteina e zeaxantina, concentrati a livello delle fibre del fascio di Henle nel contesto dell’OPL) e, in minor misura, dal pigmento contenuto nei fotorecettori, dal momento che tali pigmenti assorbono la luce blu. Variazioni della quantità o della composizione dei fluorofori nelle cellule dell’EPR o alterazioni a carico del pigmento maculare presente negli strati retinici anteriori all’RPE possono alterare il normale pattern di autofluorescenza registrato con B-FAF. Nel FTMH, la mancanza di tessuto retinico neurosensoriale a livello della fovea, risulta in un intenso segnale in B-FAF in corrispondenza del foro dal momento che l’RPE è completamente denudato^v; anche nel LMH, nonostante il difetto di tessuto retinico sia soltanto a spessore parziale, l’indagine B-FAF mostra aumento di segnale di autofluorescenza in corrispondenza del foro^{vi}. Mentre nel FTMH, l’aumento del segnale di autofluorescenza è giustificato dalla assenza di tutti gli strati retinici anteriori all’RPE, non appare chiaro quale degli strati retinici mancanti sia causa diretta dell’incremento del segnale di autofluorescenza nel LMH. Infatti, l’area di aumentata autofluorescenza potrebbe essere conseguente alla perdita di tessuto foveale o ad un dislocamento in senso centrifugo di tessuto neurosensoriale contenente pigmento maculare^{vii,viii}. Risulta dunque molto interessante studiare la relazione tra B-FAF e OCT in occhi affetti da LMH, ponendo l’attenzione sulla corrispondenza delle misurazioni e sugli strati retinici in cui tali corrispondenze si evidenziano.

Metodi

È stato condotto uno studio osservazionale retrospettivo su pazienti visitati presso il Dipartimento di Medicina e Scienze della salute “Vincenzo Tiberio”, dell’Università degli Studi del Molise, Campobasso nel periodo compreso tra Giugno 2018 e Dicembre 2019. Per essere inclusi nello studio, i pazienti dovevano mostrare LMH, diagnosticato secondo criteri OCT proposti da Govetto e collaboratoriⁱⁱⁱⁱ e, in aggiunta, presentare un’area di aumentata autofluorescenza in corrispondenza del foro. Specificamente, in base alle caratteristiche OCT, i LMH sono stati classificati in trattivi e degenerativi. Unitamente ad altre caratteristiche, i LMH trattivi sono caratterizzati da schisi intraretinica e dalla presenza di ERM, mentre i degenerativi sono caratterizzati da cavitazione intraretinica e dalla presenza di EPⁱⁱⁱ.

Sono stati esclusi pazienti con patologie maculari (degenerazione maculare correlata all’età, edema maculare, retinopatia diabetica, occlusione venosa retinica, uveite) anamnesi positiva per chirurgia oculare (ad eccezione di facoemulsificazione non complicata, eseguita almeno 6 mesi prima del reclutamento) o trauma e miopia con errore refrattivo ≥ 6 diottrie di equivalente sferico o lunghezza assiale ≥ 26.5 mm calcolato con IOL Master (Carl Zeiss Meditec, Inc., Jena, Germany). Lo scopo dello studio è stato quello di valutare la relazione tra le misurazioni dei diametri delle aree retiniche con aumentato segnale di autofluorescenza (corrispondenti al foro) alla B-FAF e le misurazioni dei diametri dei fori visualizzati con OCT. In particolare, i diametri del foro all’OCT sono stati misurati a 4 livelli: internal limiting membrane (ILM), OPL, aree di schisi/cavitazione e aree di discontinuità della ellipsoid zone (EZ).

Imaging

Le immagini B-FAF (lunghezza d’onda di eccitazione a 488 nm and filtro barriera a 500 nm) e le immagini OCT sono state acquisite, dopo dilatazione della pupilla, utilizzando l’Heidelberg Spectralis system (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany), che combina Spectral domain-OCT con un confocal scanning laser ophthalmoscope.

Tutte le misurazioni dei diametri dei fori sono state eseguite usando la funzione “manual caliper” fornita dal software Spectralis su immagini fortemente ingrandite, dopo aggiustamento della scala a 1:1 μm .

Analisi statistica

I coefficienti di correlazione di Pearson e Spearman sono stati utilizzati per valutare la correlazione tra i diametri dei fori misurati sulle immagini B-FAF e

OCT. Un valore di $p < 0.05$ è stato considerato statisticamente significativo. Le analisi sono state condotte usando Stata 14.1 software (StataCorp 2015, College Station, TX, USA).

Risultati

Sono stati reclutati e inclusi nello studio 72 pazienti (72 occhi), con età media 68.5 ± 9.0 anni. Dei 72 occhi studiati, 40 presentavano LMH di tipo trattivo e 32 presentavano LMH degenerativo all'esame OCT. Tutti gli occhi esaminati presentavano un'area di aumentata autofluorescenza all'indagine B-FAF.

Utilizzando la correlazione di Pearson e Spearman per comparare le relazioni tra le variabili, è risultata una correlazione tra i diametri misurati tramite B-FAF con quelli misurati tramite OCT a livello dello OPL ($r = 0.79$, $P < 0.0001$). Correlazione più debole si è evidenziata tra i diametri misurati tramite B-FAF e quelli misurati tramite OCT a livello della ILM ($r = 0.59$, $P = 0.007$). Le correlazioni fra diametri B-FAF e OPL nel gruppo con LMH trattivo e in quello con LMH degenerativo sono risultate: $r = 0.89$, $P < 0.0001$, e $r = 0.75$, $P < 0.0001$, rispettivamente. Nessuna relazione è stata trovata tra i diametri misurati tramite B-FAF e quelli misurati tramite OCT a livello delle aree di schisi/cavitazione o delle aree di discontinuità della EZ (Fig. 2).

Discussione

In questo studio, si è evidenziato che, indipendentemente dal tipo di LMH (trattivo o degenerativo), esiste una forte correlazione tra i diametri dei LMH misurati tramite metodica B-FAF e quelli misurati con metodica OCT a livello dell'OPL.

Questo risultato suggerisce che la perdita o il dislocamento di tessuto retinico all'interno di tale strato della retina potrebbe essere il maggior responsabile dell'incremento di segnale B-FAF osservato in occhi affetti da LMH.

La tecnologia spectral-domain OCT consente di eseguire una analisi ad alta risoluzione dell'architettura retinica. Sulla base delle caratteristiche OCT e degli studi istopatologici, sono stati distinti due tipi principali di LMH: il foro trattivo e il foro degenerativoⁱⁱⁱ. Il LMH trattivo presenta schisi intraretinica ed è associato ad una membrana sottile e altamente riflettente all'OCT (standard ERM), mentre il LMH degenerativo è caratterizzato da

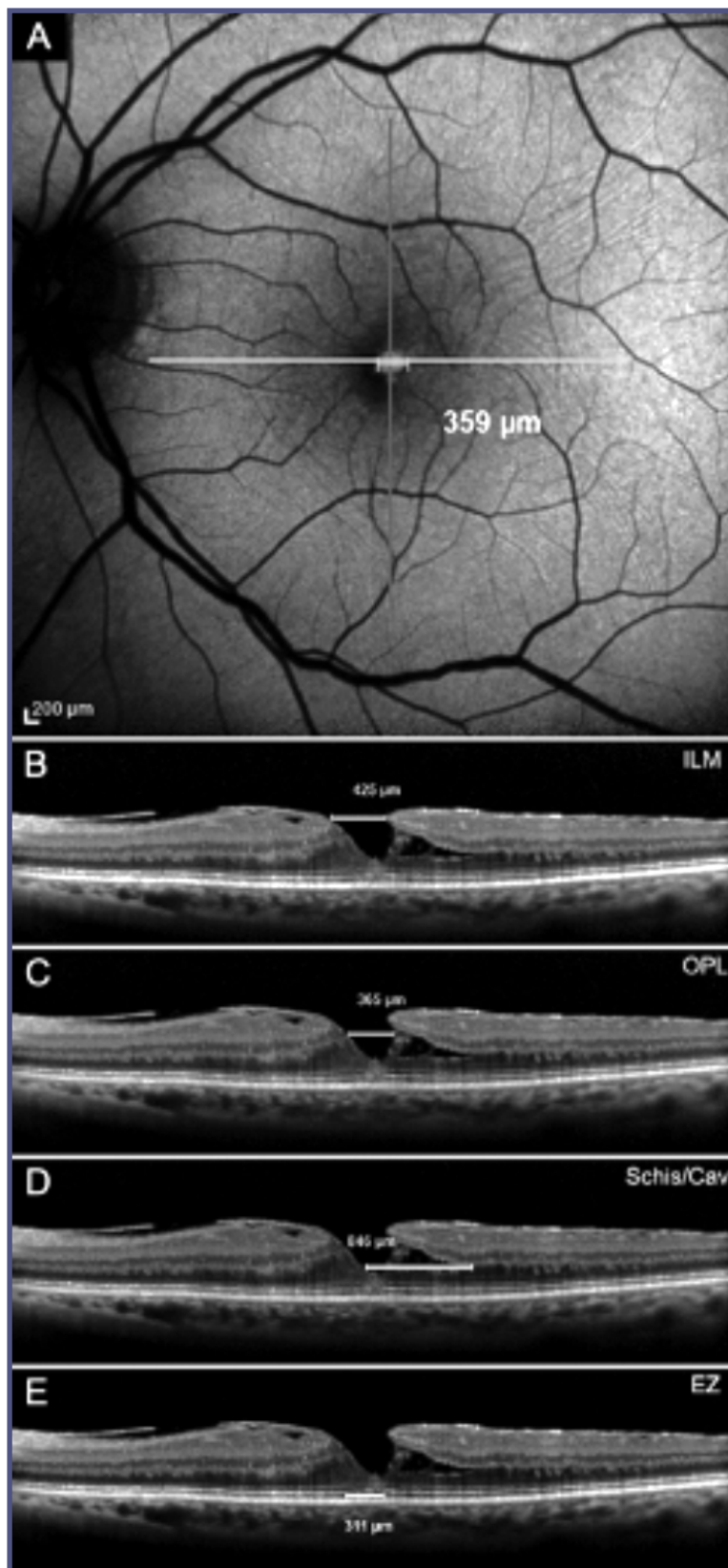


Fig. 2 - Misurazioni Blue-Fundus Autofluorescence (B-FAF, A) e optical coherence tomography (OCT) di un LMH effettuate a livello della internal limiting membrane (B), outer plexiform layer (C), schisi/cavitazione (Schis/Cav) (D) e discontinuità della banda ellipsoid zone (E). La freccia orizzontale bianca sull'immagine B-FAF (A) indica la posizione delle corrispondenti scansioni OCT; il calibro indica dove è stato misurato il diametro orizzontale del foro nell'immagine B-FAF

cavitazione intraretinica ed è spesso associato a proliferazione epiretinica (EP), un tessuto che presenta media riflettività alle immagini OCT. Nonostante le diverse caratteristiche che li contraddistinguono, entrambi i tipi di LMH hanno un aspetto simile nelle immagini B-FAF, dal momento che entrambi presentano un'area di aumentata autofluorescenza in corrispondenza del foro. In teoria, questo incremento potrebbe essere causato da diverse cause quali la presenza di depositi subretinici di materiale autofluorescente, distacco della fovea, perdita o rarefazione di pigmento presente nei fotorecettori e perdita o dislocazione centrifuga di tessuto retinico contenente pigmento.

Per testare la validità di ciascuna ipotesi, è stata analizzata in questo studio la correlazione tra i diametri misurati con B-FAF e con OCT a quattro livelli differenti: ILM, OPL, schisi/cavitazione e banda EZ. Le misurazioni della distanza fra i bordi retinici del foro a livello dello OPL sono state eseguite per due ragioni:

- 1) *la schisi o la cavitazione della retina in occhi con LMH avviene tipicamente fra gli strati OPL e ONL;*
- 2) *i due terzi esterni dell'OPL a livello della fovea sono costituiti dallo strato delle fibre di Henle, in cui si concentra il pigmento maculare^{vi}.*

La forte correlazione tra il diametro dell'area di aumentata autofluorescenza alla B-FAF con la misurazione del diametro al livello dell'OPL con OCT e la debole correlazione tra la misurazione alla B-FAF e il diametro al livello ILM con OCT, suggerisce che il segnale di aumentata autofluorescenza, osservato in occhi con LMH, è prevalentemente da ascrivere a mancanza di tessuto a livello dell'OPL, piuttosto che a mancanza di tessuto degli strati retinici più interni. Rimane oggetto di dibattito se ci sia reale perdita o semplice dislocazione del tessuto a livello dell'OPL^{vii,viii}. Le attuali metodiche di imaging non riescono a fornire una risposta definitiva in tal senso. Ciononostante, alla luce dei risultati di questo studio e dei dati provenienti dalla letteratura, possiamo fare qualche considerazione. Studi istopatologici suggeriscono che forze di trazione siano responsabili della formazione dei LMH trattivi, mentre i LMH degenerativi sarebbero appunto la conseguenza di un processo lento, cronico e degenerativoⁱⁱⁱ. I LMH trattivi di solito presentano migliore acuità visiva, mentre una peggiore acuità visiva e una marcata riduzione

dello spessore retinico in sede foveale caratterizzano solitamente i LMH degenerativi. Anche i risultati chirurgici, almeno in termini di acuità visiva finale, sono migliori nel gruppo dei fori trattivi^{vii,x}. I diametri di aumentata autofluorescenza sono significativamente maggiori in occhi con LMH degenerativo che in occhi con LMH trattivo^{vii,viii}; questo aspetto, insieme agli altri dati, indica che se reale perdita di tessuto è associata ai LMH, è più probabile che questa sia presente nei LMH degenerativi, piuttosto che in quelli trattivi.

Quale è la causa di questa perdita/dislocazione di tessuto retinico? È probabile che i fotorecettori e le cellule di Müller, gli unici costituenti della parte centrale della fovea, giochino un ruolo cruciale in questo senso. In particolare, il coinvolgimento delle cellule di Müller è suggerito da questi aspetti:

1. *conferiscono stabilità strutturale della fovea^{xi} che ha per definizione un profilo irregolare nel LMH;*
2. *contengono elevate concentrazioni di pigmento maculare a livello della fovea^{xii} (un segnale di aumentata autofluorescenza, dovuto a mancanza di pigmento, è tipicamente associato a LMH);*
3. *c'è evidenza istologica di cellule di Müller proliferanti all'interno del tessuto EP^{xiii}.*

Nonostante le limitazioni dovute al campione poco numeroso e alle misurazioni manuali dei diametri nelle immagini OCT e B-FAF, questo studio presenta dei punti di forza, come l'uso di un dispositivo in grado di acquisire in maniera simultanea immagini ottenute con OCT e con B-FAF e le correlazioni evidenziate tra misurazioni B-FAF e misurazioni OCT a quattro livelli differenti del tessuto retinico.

Conclusioni

Negli occhi con LMH trattivo o degenerativo è stata trovata una significativa correlazione fra i diametri dell'area di aumentata autofluorescenza alla B-FAF e i diametri del foro misurati al livello dello OPL con OCT. Questo potrebbe indicare che la perdita o la dislocazione di cellule retiniche (precisamente assoni fotorecettoriali e/o cellule di Müller) contenenti pigmento maculare a livello dello OPL siano coinvolte in questa vitreomaculopatia. ■

REFERENCES

- i Gass JD. Lamellar macular hole: a complication of cystoid macular edema after cataract extraction: a clinicopathologic case report. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1975; 73:230-50.
- ii Witkin AJ, Ko TH, Fujimoto JG, et al. Redefining lamellar holes and the vitreomacular interface: an ultrahigh resolution optical coherence tomography study. *Ophthalmology* 2006; 113(3):388-397.
- iii Govetto A, Dacquay Y, Farajzadeh M, et al. Lamellar macular hole: two distinct clinical entities? *Am J Ophthalmol* 2016;164:99-109.
- iv Delori FC, Dorey CK, Staurenghi G, Arend O, Goger DG, Weiter JJ. In vivo fluorescence of the ocular fundus exhibits retinal pigment epithelium lipofuscin characteristics. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36(3):718-729.
- v von Rükmann A, Fitzke FW, Gregor ZJ. Fundus autofluorescence in patients with macular holes imaged with a laser scanning ophthalmoscope. *Br J Ophthalmol*. 1998;82:346-351.
- vi Bottoni F, Carmassi L, Cigada M, Moschini S, Bergamini F. Diagnosis of macular pseudoholes and lamellar macular holes: is optical coherence tomography the "gold standard"? *Br J Ophthalmol* 2008;92(5):635-639.
- vii dell'Omo R, Virgili G, Rizzo S, et al. Role of lamellar hole-associated epiretinal proliferation in lamellar macular holes. *Am J Ophthalmol*. 2017;175:16-29.
- viii dell'Omo R, Vogt D, Schumann RG, De Turris S, Virgili G, Staurenghi G, Cereda M, Costagliola C, Priglinger SG, Bottoni F. The relationship between blue-fundus autofluorescence and optical coherence tomography in eyes with lamellar macular holes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018;59:3079-3087
- ix Parolini B, Schumann RG, Cereda MG, Haritoglou C, Pertile G. Lamellar macular hole: a clinicopathologic correlation of surgically excised epiretinal membranes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:9074-9083.
- x Compera D, Entchev E, Haritoglou C, et al. Lamellar hole associated epiretinal proliferation in comparison to epiretinal membranes of macular pseudoholes. *Am J Ophthalmol*. 2015; 160:373-384.
- xi Gass JD. Müller cell cone, an overlooked part of the anatomy of the fovea centralis. *Arch Ophthalmol*. 1999;117:821-823.
- xii Syrbe S, Kuhrt H, Gärtner U, et al. Müller glial cells of the primate foveola: an electron microscopical study. *Exp Eye Res*. 2018;167:110-117.
- xiii Pang CE, Maberley DA, Freund KB, et al. Lamellar hole-associated epiretinal proliferation. A clinicopathologic correlation. *Retina*. 2016;36:1408-1412.

Semeiotica strumentale delle vie lacrimali III Parte: la diagnostica endoscopica



Giuseppe Vadalà¹, Giorgio O. Gallone²

¹ Struttura Semplice Dipartimentale di Oculistica A.C. – ASL TO4 Chivasso

² Struttura Complessa ORL – ASL TO4 Chivasso

Abstract: la diagnostica strumentale del sistema lacrimale si può avvalere della metodica endoscopia sia per l'esplorazione delle stesse vie di deflusso (dacrioendoscopia) che nella valutazione delle strutture anatomiche del distretto rinosinuziale (rinoscopia) che è in rapporto con il sistema lacrimale stesso.

Gli Autori descrivono le procedure endoscopiche e l'utilità delle stesse nel corretto inquadramento diagnostico del paziente con epifora.

Keywords and abbreviations: Epifora, semeiotica lacrimale, endoscopia.

Nell'inquadramento del paziente con epifora riveste particolare importanza la semeiotica strumentale che si avvale della tecnica endoscopica.

Il sistema lacrimale di deflusso è posto tra il lago congiuntivale e le fosse nasali e quindi l'osservazione di quest'ultime, che anche un oculista dovrebbe imparare ad osservare nel corso di una visita ad un paziente con epifora, può risultare di estrema utilità per inquadrare meglio il caso in esame e porre indicazione per un eventuale ulteriore approfondimento diagnostico a cura di uno specialista ORL, o decidere se indirizzarlo prioritariamente ai colleghi radiologi per un esame diagnostico per immagini, ambito dove la tomografia computerizzata rappresenta il gold standard.

Oltre all'osservazione diretta (che un oculista può



Fig. 1 - Immagine endoscopica nasale del turbinato inferiore con identificazione della valvola di Hasner che rappresenta lo sbocco delle vie lacrimali di deflusso.

grossolanamente e con evidenti limiti effettuare facendo sollevare il mento ed osservando eventuali asimmetrie tra le due narici o l'evidenza di una deviazione del setto nasale), un esame accurato non può prescindere da un esame rinoscopico nasale. Questo ovviamente ci consente di esplorare il punto di arrivo del nostro sistema di deflusso (Fig. 1), mentre per un'osservazione diretta delle vie lacrimali ci si può avvalere della dacrioadoscopia (Fig. 2), tecnica a "cielo coperto" che, qualche anno fa, ebbe un suo momento di gloria in quanto proposta, probabilmente con eccessiva enfasi, anche per il trattamento delle ostruzioni delle vie stesse [1]. In questa terza puntata della semeiotica lacrimale cercheremo di illustrare quali possono essere gli elementi utili per un corretto inquadramento della patologia delle vie di deflusso lacrimale che le tecniche endoscopiche, trans-canalicolari ed endonasali, possono fornirci.

ENDOSCOPIA LACRIMALE TRANS-CANALICOLARE

La dacrioadoscopia (meglio definita come endoscopia trans-canalicolare) è l'unica metodica semeiologica che consente di osservare direttamente dall'interno il lume delle vie lacrimali di deflusso. La tecnica, la cui corretta esecuzione prevede un'osservazione per via retrograda sotto irrigazione continua dallo sbocco del dotto n.l. fino al punctum, fornisce in effetti utili elementi per eseguire una diagnosi differenziale e per pianificare un adeguato trattamento, specie in alcuni casi come in presenza di stenosi del primo tratto.

Si tratta di una tecnica di semplice esecuzione (ma con curva d'apprendimento ripida) che ha il vantaggio di essere ripetibile e generalmente ben sopportata da un paziente collaborante, con la necessaria anestesia locale, che nella maggior parte dei casi si limita all'instillazione di lidocaina per l'esplorazione del primo tratto o ad una minima anestesia loco-regionale per l'esplorazione di tutto il sistema di deflusso.

Gli endoscopi comunemente in uso (Fig. 3) hanno un diametro da 0,5 mm ad 1 mm e



Fig. 2 - Endoscopia delle vie lacrimali con immagine del tratto canalicolare.



Fig. 3 - Colonna per endoscopia lacrimale ed alcuni fibre ottiche e manipoli proposti per endoscopia lacrimale.

permettono la visualizzazione delle vie lacrimali grazie ad un sistema ottico non paragonabile per le dimensioni minime a quello usato in altri sistemi endoscopici, ma che si avvale di fibre ottiche fino ad una risoluzione di 10000 pixel che, grazie i sistemi ad alta definizione oggi disponibili, consente una buona visualizzazione del canale lacrimale.

Previa dilatazione del puntino lacrimale come per un comune sondaggio, l'introduzione del dispositivo di cui è dotato il manipolo (che può essere rigido o flessibile o con una curvatura che riproduce quelle del canale lacrimale) consente la visualizzazione e l'osservazione delle strutture tramite un monitor come per le altre tecniche endoscopiche. Tale esame consente di valutare:

- la qualità delle superfici delle pareti interne delle vie lacrimali di deflusso;
- la presenza e consistenza di stenosi a vari livelli (pre-saccali o postsaccali);
- il riscontro di eventuali piccole neoformazioni endoluminali (papillomi del canalino) e la verifica di anomalie di contenuto del sacco lacrimale (dacrioliti, corpi estranei o neoformazioni);
- l'esito di procedure chirurgiche (DCR, ricanalizzazioni, ecc.);
- l'osservazione delle possibili cause del fallimento di questi interventi (edema infiammatorio, granulomi, placca fibrotica a livello dell'ostio intranasale, stenosi canalicolari);
- l'efficacia di procedure alternative (follow-up dei pazienti sottoposti a stenting lacrimale o a dacrioplastica);
- la valutazione di lacerazioni canalicolari o fistole (utilità della metodica per verificare il lume a fine intervento o nel follow-up)

- eventuali alterazioni endonasali prossimi allo sbocco delle vie di deflusso (superata la valvola di Hasner è possibile visualizzare la mucosa del meato inferiore) o del nuovo ostio esito di una DCR.

Nelle immagini che proponiamo dalla fig. 4 alla fig. 13 sono riportati con alcuni fotogrammi gli aspetti delle vie di deflusso normali ed altri relativi a quadri patologici, ivi compreso il riscontro di "false vie" (falsi tragitti derivanti da manovre incongrue o nel tentativo di ricanalizzare a cielo coperto tratti stenotici troppo lunghi o, non infrequentemente, da cause iatrogene) ed alcuni suggerimenti per saper discriminare una condizione fisiologica rispetto ad un quadro patologico.

Controindicazioni e limiti

La metodica non è ovviamente utilizzabile in caso di atresia o stenosi completa del puntino.

Anche la presenza di un'ostruzione del canalino già

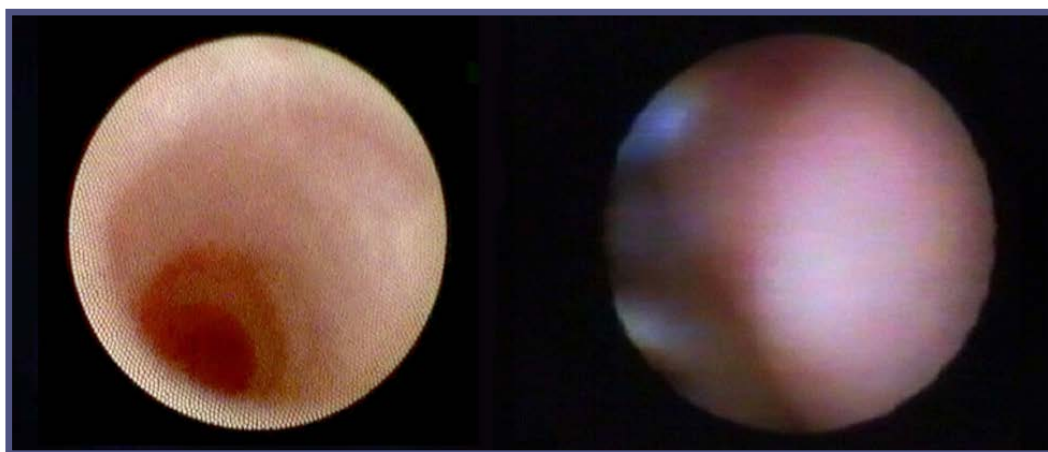


Fig. 4 - Immagine dacrioendoscopica di canalicolo lacrimale (notare il tipico aspetto elicoidale dovuto all'inserzione muscolare paracanalicolare) e dello sbocco attraverso la valvola di Hasner (evidente la bolla d'aria in fossa nasale).

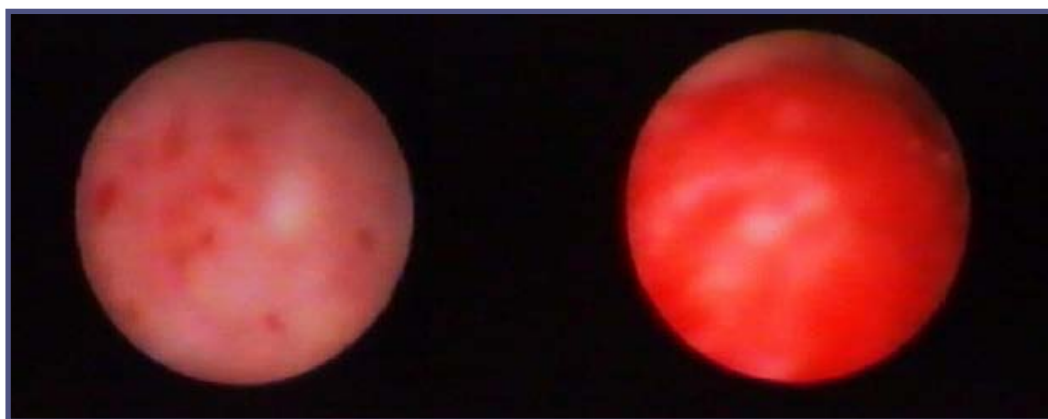


Fig. 5 - Immagini dacrioendoscopiche a livello del sacco lacrimale che nella foto a destra presenta esiti di sanguinamento nel corso della procedura.

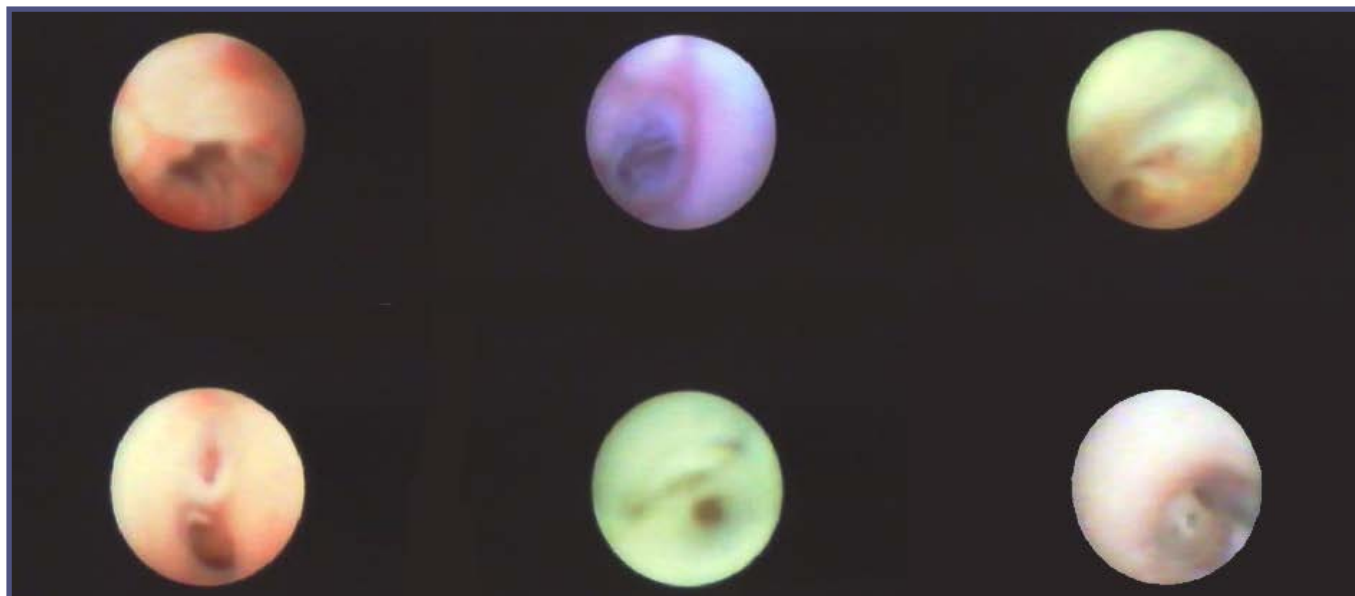


Fig. 6 - Alcune immagini dacrioendoscopiche relative a false vie/falsi tragitti: questi ultimi si differenziano per il tipico aspetto irregolare e, se prossimi o attraversati dalla fibra ottica, senza aspetto elicoidale e con presenza di fibrille o maglie intrecciate (canalizzazione di tessuto attiguo). Nell'ultima immagine si può notare l'effetto del microdrill sul tessuto stenotico attiguo alla porzione di canalino pervio.

presente a 3-5 mm dal puntino lacrimale rappresenta una controindicazione relativa all'endoscopia, per la facile possibilità di creare false vie: in genere la percentuale di successo nel ripristino della pervietà canalicolare decresce quando la presenza dell'ostruzioni dei canalini abbia meno di 7- 8 mm di canalico- lo residuo a partire dal puntino. In questi casi una procedura di sondaggio, anche se videoguidato come nell'endoscopia, presenta comunque un rischio di fallimento e recidiva.

Una controindicazione temporanea è rappresentata da una canaliculite o da una dacriocistite in atto ed ovviamente in caso di presenza di dacriocistoceli o dacrioflemmoni, per la possibile disseminazione di germi patogeni ai tessuti e al microcircolo circostante.

Non è questa la sede per trattare gli ambiti in cui una endoscopia da diagnostica può trasformarsi in chirurgica, ma, per completezza, li riassumiamo rapidamente:

1. Nelle ostruzioni canalicolari, si può affermare che la dacrioendoscopia chirurgica mantiene il suo ruolo



Fig. 7 - Immagine dacrioendoscopica di papilloma del canalino e del dotto comune.



Fig. 8 - Immagine endoscopica lacrimale di stenosi canalicolari di diversa entità (nell'ultima immagine a destra: ostruzione completa).

come indicazione principale, anche se non bisogna dimenticare quanto sostenuto da numerosi autori [2-6] a proposito delle percentuali di successo nella risoluzione delle ostruzioni canalicolari ed ai limiti

del sondaggio in ostruzioni troppo estese (si veda la cosiddetta “regola degli 8 mm” di cui si è detto). Secondo quanto riportato da Kuchar [6], a proposito del trattamento con laser-Er-Yag di stenosi canalicolari, le ostruzioni superiori a 2 mm di estensione presentavano la più bassa percentuale di successo (malgrado fosse prevista un'intubazione). Per quel che riguarda la tecnica non pare che esista un sistema (laser, trapano coassiale o micro-drill) con potenzialità maggiori. In linea teorica effettuando una corretta manovra di tensionamento del canalino per prevenire la creazione di false vie, il tipo di trapanazione non dovrebbe aver molta influenza. In tutti i casi di cui si è detto è consigliabile l'intubazione, specie per stenosi superiori a 0,5 mm (molto indicati i “monoka” ideati da Bernard, ma anche intubazioni bicanalicolari eventualmente autobloccati per minimizzare l'invasività della procedura).

2. In caso come già accennato di neoformazioni, di corpi estranei ed, ovviamente, di dacrioliti situazioni in cui una visualizzazione diretta può esser finalizzata a preparare meglio una chirurgia tradizionale eventualmente necessaria, specie in caso di contemporanea stenosi del dotto naso-lacrimale.
3. Nella chirurgia laser transcanalicolare l'osservazione della transilluminazione nasale dal sacco è fondamentale per una corretta ubicazione del punto in cui eseguire l'osteotomia. Per analoghi motivi l'osservazione endoscopica in questa sede degli esiti di DCR è fondamentale per valutare l'ubicazione, la dimensione e la pervietà di una osteotomia (anche per un eventuale intervento contestuale disostruttivo) o l'esclusione di una “sump-syndrome” (che ricordiamo rappresenta quella condizione in cui si verifica un ristagno di lacrime, malgrado l'ostio della DCR risulti pervio, per la presenza di un recesso, in genere mucoso, tra sbocco dei canalini e fosse nasali).

Fig. 9 - Visualizzazione endoscopica lacrimale di fibrosi a livello del sacco lacrimale.

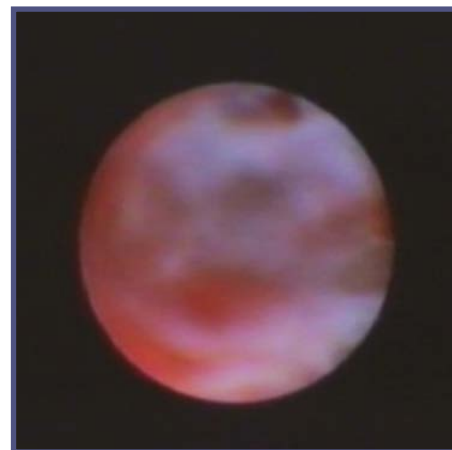


Fig. 10 - Visualizzazione endoscopica lacrimale attraverso l'osteotomia post-DCR (notare la presenza di bolla d'aria che indica che ci si trova nelle fosse nasali).

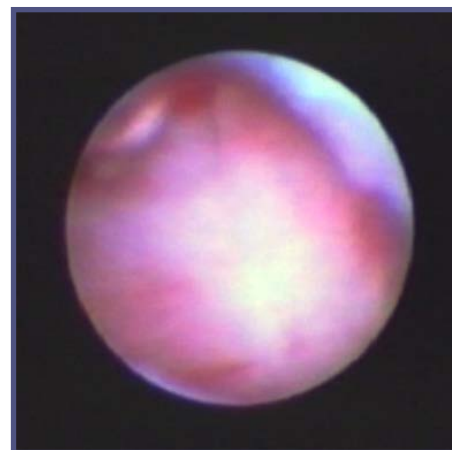


Fig.11 - Riscontro di dacriolitiasi in corso di endoscopia lacrimale.

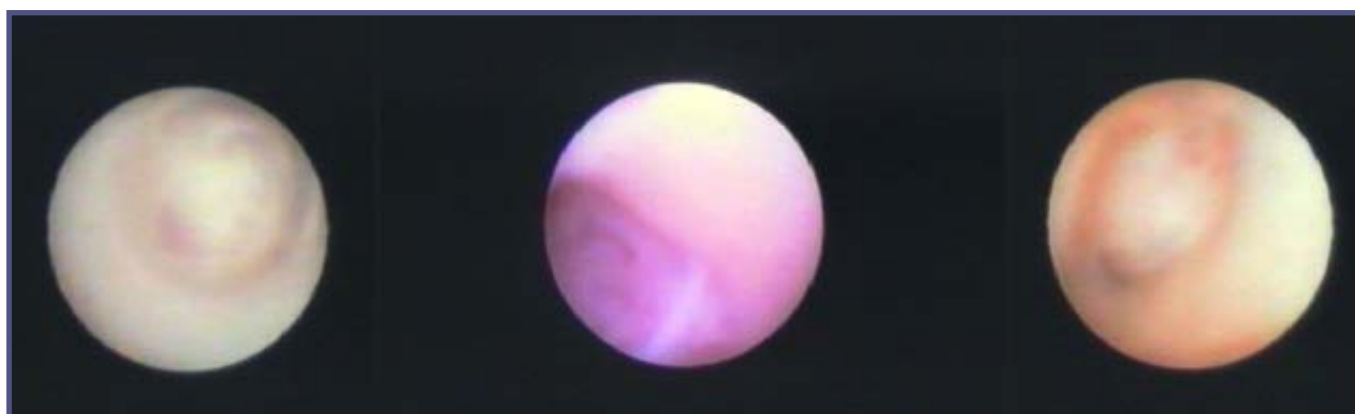


Fig.12 - Alcune immagini dacrioendoscopiche di stenosi del dotto naso-lacrimale.

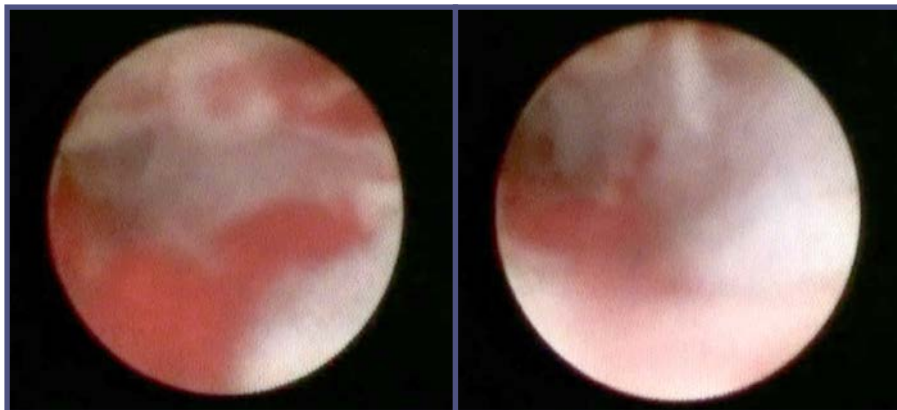


Fig. 13 - Alcuni fotogrammi relativi all'aspetto del dotto naso-lacrimale dopo procedura di ricanalizzazione endoscopica.



Fig. 14 - In caso di doppio sbocco canalicolare (presente in circa il 30% dei casi) sia l'operatività diagnostica del sistema che quella terapeutica possono esser implementate dalla possibilità di utilizzo concomitante del secondo ingresso nel sistema di deflusso con contemporanea osservazione endoscopica.

Vantaggi e svantaggi

La possibilità di visualizzare direttamente le strutture dal puntino lacrimale alla valvola di Hasner rendono la metodica di utilità diagnostica senza pari, anche se rispetto a una dacriocistografia o a una dacrio-TC mancano le indicazioni relative alle condizioni anatomiche delle strutture vicine. Resta il grande limite di non poter visualizzare la cupola del sacco e l'area attorno allo sbocco della valvola di Rosenmüller.

Nel caso di neoformazioni o di corpi estranei, la strumentazione in genere può solo essere utile a documentare, anche se alcuni accessori proposti (micropinze, microspazzole e minicestelli) possono consentire un uso operativo per eseguire prelievi biotipici o rimuovere corpi estranei e dacrioliti.

Questi ultimi, se di piccole dimensioni, possono, in ogni caso, essere espulsi attraverso la valvola di Hasner o frantumati all'interno del canale lacrimale sotto visualizzazione endoscopica.

Indiscutibile svantaggio è rappresentato dai costi della strumentazione (anche se possono essere ridotti grazie alla possibilità di interfacciare il sistema con le tradizionali colonne endoscopiche in uso ad altre specialità) e dal non rapido ed agevole utilizzo per eseguire un esame diagnostico pari a quello che comunemente si esegue in ambulatorio e di cui ci siamo

4. Nelle ostruzioni del dotto naso-lacrimale, a meno che non si tratti di imperforazioni nel bambino o di ostruzioni basse membranose (in cui la tecnica endoscopica fondamentale non ha grossi vantaggi rispetto ad un comune sondaggio se non per il contemporaneo riscontro visivo dell'avvenuta disostruzione), la dacriocistoscopia operativa non rappresenta certamente la tecnica d'elezione. Una substenosi, specie se di recente insorgenza, o la presenza di una dacriolitiasi isolata può rappresentare invece un'indicazione relativa, specie se associata ad una tecnica parachirurgica come quella che si avvale di "balloon-catheter" (dacrioplastica).

mo occupati nella prima parte di questa trattazione.

La tecnica rimane quindi utile in ambito diagnostico per un esame di secondo livello o quando si prevede in contemporanea di eseguire una procedura di dacriocistoscopia chirurgica o parachirurgica (laser o di canalicolo/dacrioplastica) (Fig. 14).

Rimangono comunque ancora oggi le riserve nel voler considerare l'endoscopia delle vie lacrimali come una metodica terapeutica in grado di potersi sostituire a tecniche chirurgiche come la DCR, sia ab-externo che endonasale, la cui percentuale di successo è superiore al 90% dei casi trattati [7].

La grande attenzione che a fine anni '90 ha avuto per



Fig. 14 - Esame endoscopico nasale con fibra ottica rigida la cui inclinazione è finalizzata ad esplorare le aree di interesse sia per un corretto inquadramento clinico che per la pianificazione chirurgica.



Fig. 15 - L'osservazione macroscopica del pz. eseguita nel corso di una visita oculistica può già dare, insieme all'anamnesi, un orientamento su possibili cause o concause dalle quali dipende l'epifora. E' inoltre fondamentale identificare tali condizioni nella prospettiva della chirurgia che dovesse rendersi necessaria.

qualche anno la metodica endoscopica lacrimale nel Vecchio Continente, ha visto una successiva riproposizione nei Paesi Asiatici [8].

Malgrado ciò, grazie alla completa recente review di Singh ed Ali [9] che hanno effettuato un'ampia revisione critica e sistematica dalla letteratura sull'argomento, le conclusioni rilevano che l'esame dacrioendoscopico del canalicolo e del dotto nasolacrimale gioca un ruolo significativo nella diagnosi e nella gestione dei disturbi lacrimali, ma preconizza che solo ulteriori miglioramenti nelle tecniche e della strumentazione microendoscopica che ne amplieranno l'uso clinico, potrebbero dare impulso ad ulteriori applicazioni nella chirurgia lacrimale mini-invasiva.

ENDOSCOPIA NASALE NELL'INQUADRAMENTO DEL PAZIENTE CON EPIFORA

Il ruolo dell'endoscopia nasale nella patologia delle vie

lacrimali è negli ultimi anni diventato sempre più importante nell'inquadramento diagnostico, che in molti casi richiede l'integrazione con la diagnostica per immagini, nella prospettiva di una corretta pianificazione terapeutica per il trattamento del paziente affetto da epifora. Lo specialista in oculistica, non possedendo in genere l'endoscopio, dovrebbe necessariamente in fase diagnostica cercare di escludere che non vi siano delle patologie a livello rino-sinusale e tramite l'anamnesi e l'osservazione capire se sia il caso che il paziente debba essere valutato dal collega ORL.

Innanzitutto l'anamnesi dovrebbe dirigersi verso chiare ostruzioni nasali riferite, episodi di senso di pressione al volto o rinorrea ricorrente, così come l'uso cronico di spray vaso-costrittori e l'anamnesi positiva per allergia. Anche all'ispezione se vi sono delle chiare asimmetrie della piramide nasale, o esiti chirurgici di rinoseptoplastica si potrebbe sospettare una deviazione del setto nasale



Fig. 16 - Immagine di endoscopia della fossa nasale di sinistra, con il setto nasale sulla sinistra e la parete nasale laterale sulla destra, ove si reperta il turbinato medio e l'area subito anteriore nella sua parte craniale (ascella) che coincide con la proiezione del sacco lacrimale.

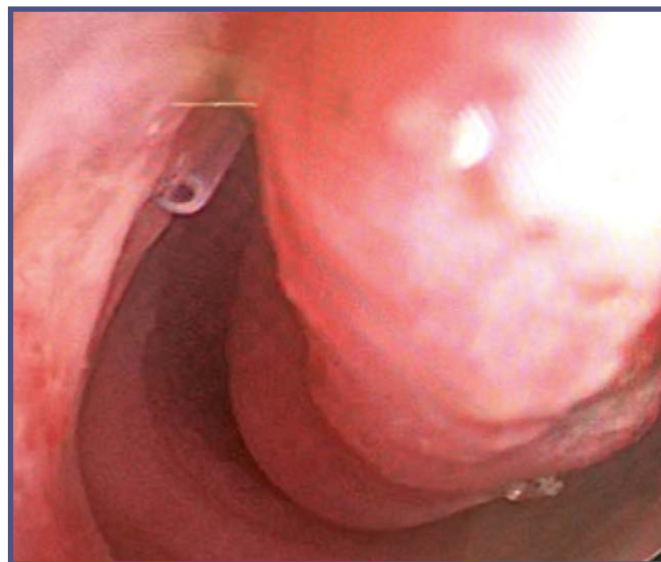


Fig. 17 - Immagine endoscopica del turbinato inferiore della fossa nasale di destra. Si noti l'intubazione che fuoriesce dalla valvola di Hasner.

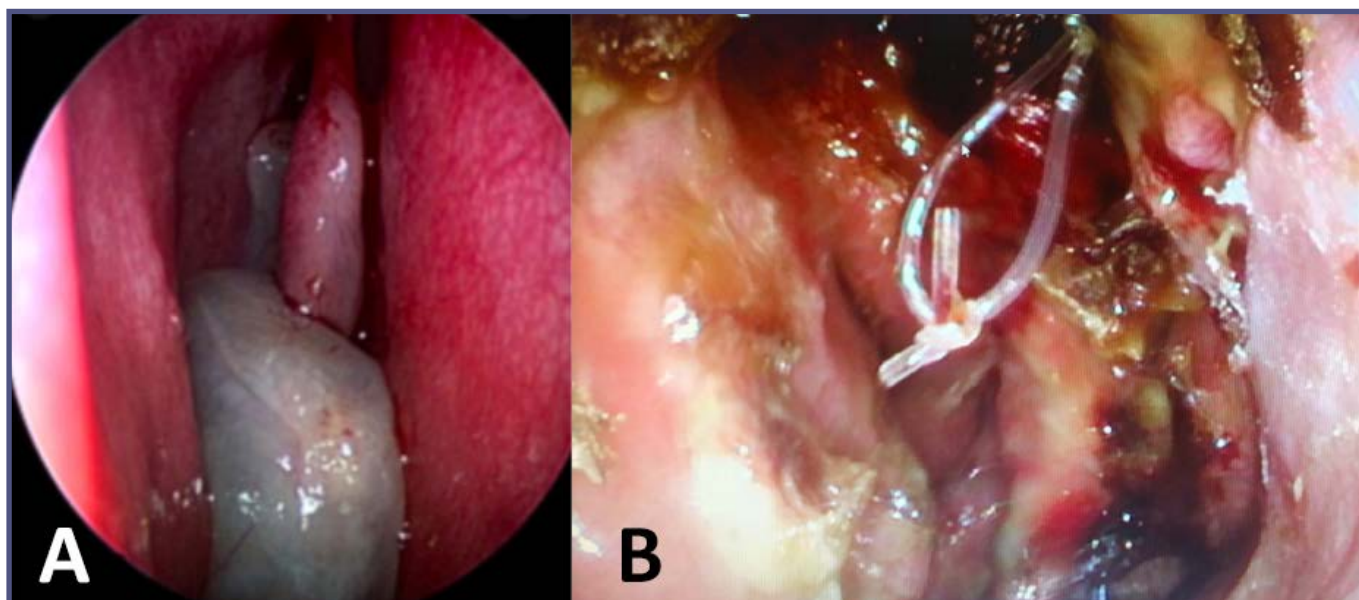


Fig. 18 - Immagine endoscopica nasale di paziente affetto da poliposi di primo grado (A) e di un paziente dipendente da sostanza stupefacente (B) nel quale si può solamente osservare il repero dello stent inserito a sinistra (in questo caso mancano tutti i punti di repero normalmente visibili).

o una riduzione dello spazio respiratorio (Fig. 14). A quel punto il collega otorinolaringoiatra valuterà tramite l'uso dell'endoscopia le variabili anatomiche e la patologia nasale o naso-sinusale che possa influire sulla chirurgia della via lacrimale sia essa fatta per via intranasale o per via esterna (Fig. 15). Nell'immagine endoscopica vi sono determinati punti di repero da conoscere che ci aiutano ad orientarci ed a stabilire la posizione di alcune strutture. Le strutture principali sono il setto nasale e la parete laterale

del naso (Fig. 16), che ci consentono di capire la lateralità della fossa nasale, poi ci sono i turbinati inferiori (Fig. 17) ed i turbinati medi. Nella chirurgia delle vie lacrimali per via endoscopica si rimane nel comparto anteriore naso-sinusale e quindi i reperi sono pochi e semplici in una anatomia normale. In alcuni casi però l'anatomia può essere in parte o completamente sovvertita ed anche strutture di solito osservabili, potrebbero essere modificate in modo irrisconoscibile, oppure non essere presenti.

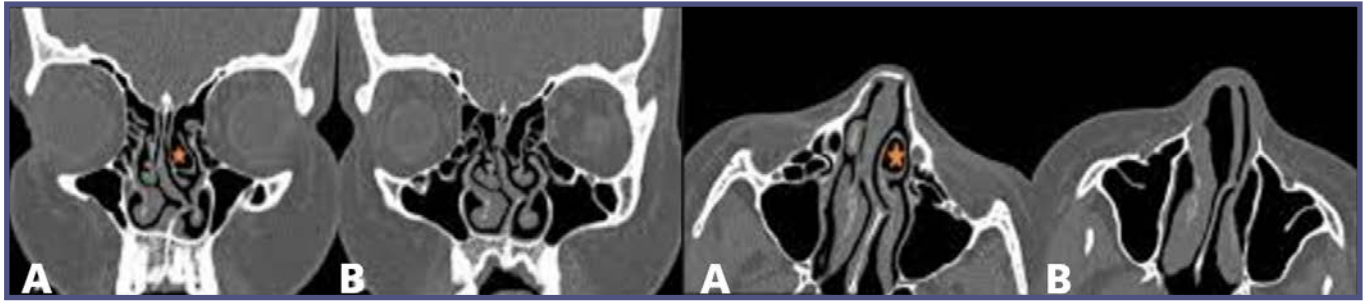


Fig.19 - Deviazioni settali complesse anche con concha bullosa riducono lo spazio respiratorio e lo spazio al davanti alla proiezione saccale e quindi vanno identificate per una corretta pianificazione chirurgica combinata in corso di DCR.

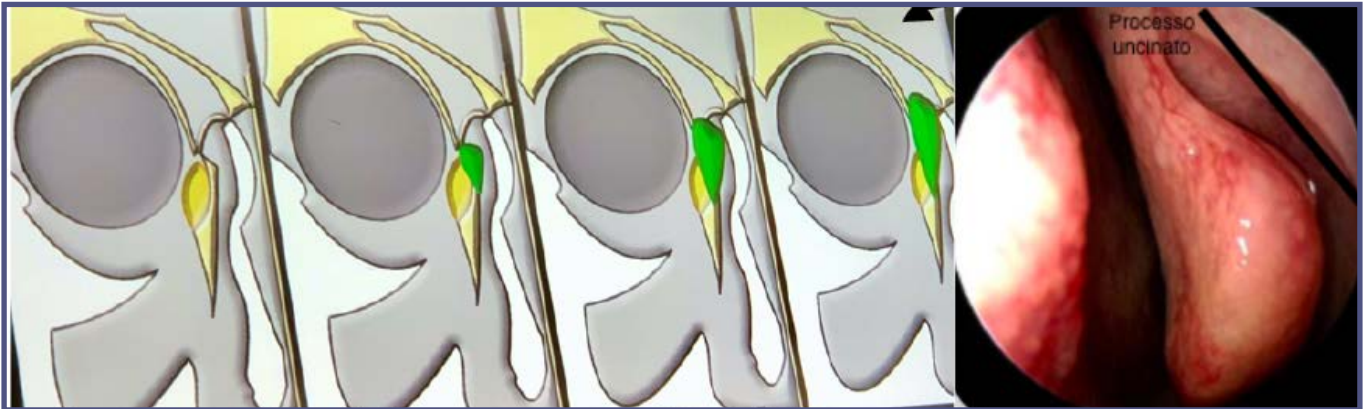
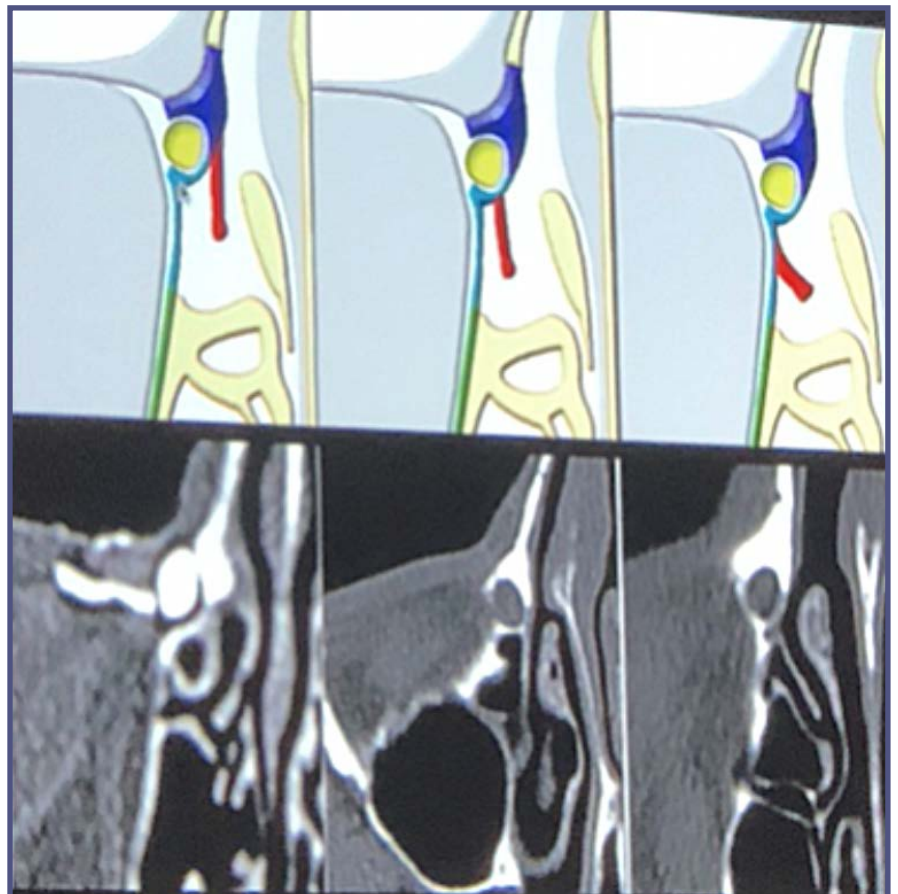


Fig. 20 - L'Agger Nasi (la prima cellula dell'etmoide anteriore) ed il processo uncinato (in verde) possono interpersi per nulla o in modo completo tra parete laterale del naso e sacco lacrimale (in giallo) a seconda della sua modalità di inserzione e della sua ipertrofia [13].

Fig. 21 - Il processo uncinato ed il turbinato medio visti in proiezione assiale nelle varianti anatomiche più comuni con cui possono co-primere l'area di proiezione del sacco lacrimale [13].



Nel caso in cui si osservino esiti chirurgici o deformità evidenti della piramide nasale bisognerà escludere che non vi siano deviazioni settali che possano ridurre lo spazio tra il setto e l'area di proiezione saccale con conseguente rischio aumentato di sinechie post-operatorie e di possibile recidiva.

Ciò può capitare anche nelle rinosinusiti con polipi (Fig. 18a) oppure a seguito di infiammazione cronica, tumori, uso di sostanze stupefacenti (Fig. 18b).

Durante l'indagine endoscopica e tramite diagnostica per immagini è importante, dal punto di vista della variabilità anatomica, stabilire,

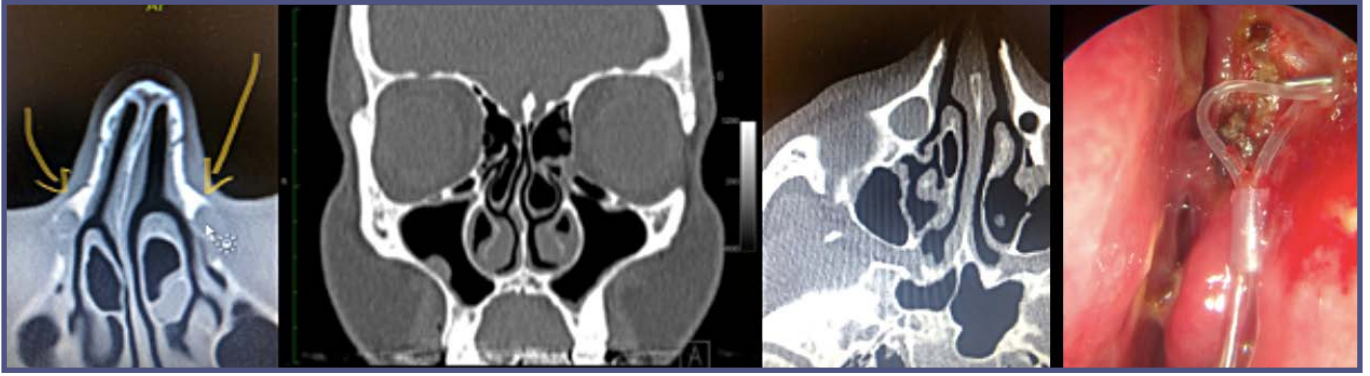


Fig. 22 - Un esempio di concha bullosa bilaterale con una deviazione del setto nasale, un dacriocistocele proiettato al davanti di una concha bullosa ed una visione post-operatoria in fossa nasale sinistra di un turbinato medio modificato per consentire una buona esposizione del sacco lacrimale.



Fig. 23 - Visualizzazione endoscopica nasale dell'ostio di una DCR per via transcanalicolare-laser al termine della procedura.

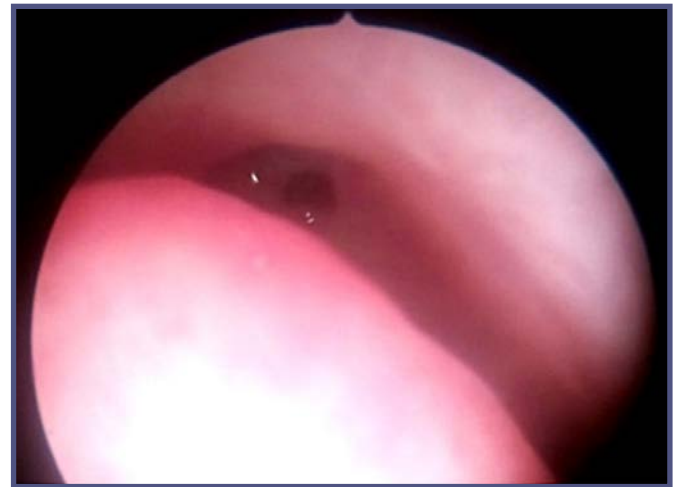


Fig. 24 - Visualizzazione endoscopica nasale dell'ostio di una DCR ab-esterno dopo alcuni mesi dall'intervento. Notare la presenza del deflusso delle lacrime durante l'ammiccamento ed anche il fatto che la corretta esecuzione della DCR-ex anche in spazi ridotti (turbinato medio vicino all'ostio) può non complicarsi se si presta attenzione a rispettare la mucosa nasale che in questo caso poteva produrre la formazione di sinechie con conseguente mal funzionamento o restenosi del drenaggio delle lacrime in fossa nasale

(cortesia in corso di esame endoscopico eseguito dal dott. F. Gedda, Clinica ORL Città della Salute e della Scienza di Torino).

qualora vi siano delle strutture che possano coprire l'area di proiezione del sacco, la loro rimozione o, più spesso, modifica al fine di evitare un possibile restenosi della stomia (Fig. 19).

In particolare va posta attenzione al setto nasale, al processo uncinato ed al turbinato medio se si prevede di dover pianificare una DCR, mentre attenzioni maggiori vanno rivolte all'area del turbinato inferiore qualora si sospetti una ostruzione della porzione terminale delle vie di deflusso.

Il setto nasale può essere deviato in modo sintomatico dando ostruzione al paziente, o spingendosi verso la parete laterale del naso andando a togliere spazio al davanti dell'area di proiezione saccale.

Il processo uncinato è un osso a sviluppo verticale e nella sua porzione più craniale può essere più o meno coprente l'area saccale (Fig. 20).

La sua posizione è ben osservabile tramite la diagnostica per immagini (Fig. 21).

Il turbinato medio può essere ipertrofico, paradossale o contenere aria al suo interno creando una ipertrofia anche di importanti dimensioni (concha bullosa) che può parzialmente o completamente coprire l'area saccale (Fig. 22).

Anche il turbinato inferiore può essere ipertrofico e può parzialmente o completamente coprire la valvola di Hasner ed una sua malposizione, spesso presente nelle dacriostenosi congenite, può esser di per sé causa

di mancato deflusso lacrimale.

In conclusione nell'approccio al paziente con epifora è importante anche considerare le possibili patologie naso-sinusali concomitanti. Una buona anamnesi ed una attenta osservazione devono consentire di capire se chiedere la collaborazione del collega ORL.

L'endoscopia nasale è uno strumento diagnostico importante per la valutazione preoperatoria del paziente che deve essere sottoposto ad intervento di dacriocistorinostomia o nel corso dell'intervento a prescindere della tecnica utilizzata (ma indispensabile nella tecnica

ab-interno o trans-canalicolare laser) (Fig. 23) e nel follow-up post-operatorio (Fig. 24).

Nella diagnostica per immagini è altrettanto fondamentale la corretta interpretazione e lo studio dell'anatomia naso-sinusale relativa al comparto lacrimale, da parte dello specialista oculista, che vada aldilà della diagnosi dell'ostruzione lacrimale, ma esamini anche le varianti anatomiche e le eventuali patologie o condizioni che debbano essere trattate o modificate nel corso dell'intervento o con una procedura separata, prima di quest'ultimo [10-12].

Type	n	(%)
Type -I	9	(56.2)
Type -II	3	(18.75)
Type -III	3	(18.75)
Type -IV	1	(6.3)

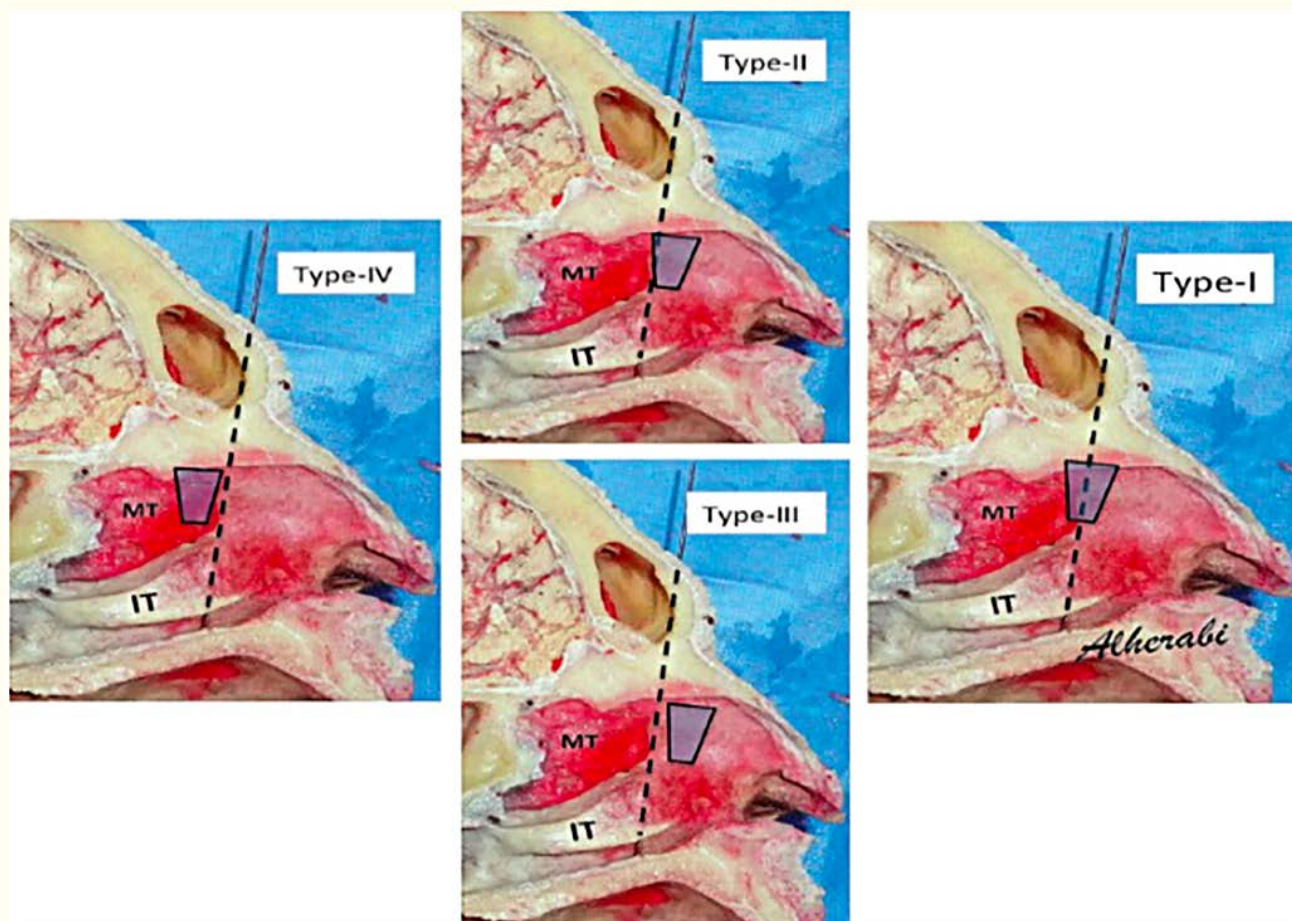


Fig. 25 - Oltre alla posizione del processo uncinato o del turbinato medio che possono coprire l'area di proiezione del sacco, in una valutazione endoscopica in preparazione ad un intervento, c'è anche da considerare che rispetto all'asse passante per l'ascella del turbinato medio il sacco lacrimale può trovarsi (come indicato dalla figura trapezoidale) in diverse posizioni sia più anteriormente che più posteriormente [14].

REFERENCES

1. Bauchiero L., Vadalà G.: L'endoscopia lacrimale: storia, indicazioni e controindicazioni. In Spinelli D. "Endoscopia delle vie lacrimali" Ed. Ghedini, Milano, 2006.
2. Haefliger I.O., Piffaretti J.M. : Lacrimal drainage system endoscopic examination and surgery through the lacrimal punctum. *Klin Monbl Augenheilkd*, 2001 May;218(5):384-7.
3. Maier M. Schmidt T, Schmidt M. Endoscopically controlled surgery with the micro-drill and intubation of the lacrimal ducts. *Ophthalmologe* 2000; 97 (12): 870-3.
4. Mullner K, Bodner E, Mannor GE. Endoscopy of the lacrimal system. *Br J Ophthalmol*. 1999; 83(8):949-52
5. Mullner K. Opening of lacrimal duct stenoses with endoscope and laser. *Ophthalmologe*. 1998; 95 (7):490-3.
6. Kuchar A, Novak P, Fink M, Steinkogler FJ. Recent developments in lacrimal duct endoscopy. *Klin Monatsbl Augenheilkd*. 1997; 210(1):23-6.
7. Vinciguerra A., Nonis A., Giordano Resti A, Bussi M., Trimarchi M.: Impact of Post-Surgical Therapies on Endoscopic and External Dacryocystorhinostomy: Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Rhinol Allergy*, 2020;34(6):846-856.
8. Javate R.M., Pamintuan F.G., Lapid-Lim S.I., Cruz R.T.: Endoscopy and Microendoscopy of the Lacrimal Drainage System - Endo-Press Ed., 2012
9. Singh S., Ali M. J.: A Review of Diagnostic and Therapeutic Dacryoendoscopy, *Ophthalmic Plast Reconstr Surg*, 2019;35(6):519-524.
10. Rajakab S.N., Psaltis A.J.: Anatomical considerations in endoscopic lacrimal surgery. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger* Vol. 224, July 2019, Pages 28-32
11. Shams P.N., Wormald P.J., Selva D.: Anatomical landmarks of the lateral nasal wall: implications for endonasal lacrimal surgery. *Curr Opin Ophthalmol* . 2015 Jul;26(5):408-15.
12. UllrichK., Malhotra R., Patel B.C.: Dacryocystorhinostomy. NCBI Bookshelf. A service of the National Library of Medicine, National Institutes of Health. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan.
13. Castelnuovo P, Palma P, Simoncello F, Cambria C., Carena P, Delù G.: Anatomia chirurgica propedeutica alla DCR endonasale. Editore EndoPress Tuttlingen, Germania 2013
14. Alherab A., Marglani O., Herzallah I., Shaibah H., Alaidarous T., Alkaff H., Farooq M., Bamahfouz A., Al-Khatib T., Marzouki H.: Endoscopic anatomy of the lacrimal sac for dacryocystorhinostomy. A cadaveric study. *Saudi Med J*. 2017 Mar; 38(3): 245–250.

CXL Up To Date

CXL accelerato basato sulla pachimetria, il "nomogramma M" per il trattamento standardizzato delle cornee sottili



Cosimo Mazzotta

Unità Dipartimentale di Oculistica, AUSL Toscana Sud Est, Ospedale Alta Val D'Elsa, Campostaggia, Siena
U.O. di Oculistica, Ospedale del Casentino, Bibbiena, Arezzo
Docente della Scuola di Specializzazione in Oftalmologia dell'Università di Siena
Fondatore e Responsabile Scientifico del "Siena Crosslinking Center", Siena

Abstract

Scopo: Valutazione della efficacia e della sicurezza del nuovo nomogramma di crosslinking accelerato (ACXL) personalizzato "M nomogram" a guida pachimetrica nel cheratocono progressivo, nelle ectasie corneali iatrogene e nelle cornee sottili.

Metodi: analisi comparativa comprendente le profondità misurate delle linee di demarcazione mediante microscopia confocale in vivo (IVCM) e OCT corneale in 20 occhi trattati con CXL convenzionale 3mW/cm^2 , 20 occhi trattati con ACXL 30mW/cm^2 con luce continua e luce pulsata con esposizione UV-A 1 sec on: 1 sec off, 20 occhi trattati con ACXL in luce pulsata 15mW/cm^2 ACXL e 20 occhi trattati con il protocollo ACXL 9mW/cm^2 , mantenendo la fluenza standardizzata di 5.4J/cm^2 l'indagine IVCM è stata eseguita mediante Rostock Cornea Module HRT II® (Heidelberg, Germany) e mediante OCT corneale OptoVue® (Freemont, Irvine, USA). Il profilo matematico di reticolazione foto-dinamica è stato calcolato in base alla profondità della linea di demarcazione e al valore di concentrazione soglia di crosslinks, adottando il protocollo convenzionale di Dresda 3mW/cm^2 come standard di riferimento.

Risultati: Le profondità medie di demarcazione sono risultate $350 \pm 50\mu\text{m}$ per il protocollo convenzionale 3mW/cm^2 , $200 \pm 50\mu\text{m}$ per l'ACXL a luce continua 30mW/cm^2 , $250 \pm 50\mu\text{m}$ per l'ACXL a luce pulsata da 30mW/cm^2 e $280 \pm 30\mu\text{m}$ per l'ACXL 15mW/cm^2 pulsato. E' stata dimostrata una correlazione molto alta tra la profondità della linea di demarcazione misurata mediante OCT e IVCM ed i dati calcolati mediante simulazione matematica, con una pendenza di $m = 1,03$ e un valore $R^2 0,73$.

Conclusioni: il "nomogramma M" consente un'impostazione sicura ed efficace dei parametri di CXL in base allo spessore corneale minimo preoperatorio, permettendo anche il trattamento standardizzato delle cornee ectasiche sottili ed ultrasottili di spessore minimo compreso tra 250 e $400\mu\text{m}$.

Keywords and abbreviations: nomogramma M, crosslinking, reticolazione corneale foto-dinamica, cheratocono, ectasie iatrogene, cornee sottili, cornee ultrasottili.

Introduzione

Il Crosslinking (CXL) o Reticolazione Foto-Dinamica del Collagene Corneale (PD-CCR) Photodynamic Corneal Collagen Reticulation, ha rivoluzionato la gestione conservativa dei disturbi ectasici corneali progressivi primari e secondari¹⁻⁸. Prima dell'avvento della procedura di CXL, non esisteva alcun trattamento conservativo per l'ectasia corneale, con il 20 per cento dei pazienti affetti da Cheratocono (KC) che progrediva verso una cheratoplastica lamellare o perforante⁹. La procedura di CXL corneale convenzionale Riboflavina UV-A con rimozione dell'epitelio (Epi-OFF) rappresenta un trattamento "cost-effective", basato sull'evidenza scientifica e con efficacia clinico-strumentale documentata per stabilizzare il cheratocono progressivo e l'ectasia secondaria in pazienti pediatrici e adulti in modo chiaro e documentato in una serie di studi clinici di follow-up a lungo termine non randomizzati e randomizzati¹⁻⁸, riducendo la necessità dei trapianti di cornea dal 30% fino al 50%^{10,11}. Inoltre, secondo i dati della Banca degli Occhi del Veneto, molti pazienti con KC in stadio avanzato giungono alla cheratoplastica con almeno 5 anni di ritardo rispetto all'epoca pre-CXL. Oltre alla stabilizzazione dell'ectasia, l'irraggiamento standard di 3mW/cm² per 30 minuti ha dimostrato la sua utilità nella gestione della cheratite infettiva resistente agli antibiotici a causa dell'effetto citotossico delle specie reattive dell'ossigeno (ROS) generate durante il processo foto-ossidativo del CXL¹². La procedura di CXL convenzionale (protocollo di Dresda) richiedeva quasi 1 ora di trattamento ed una cornea con uno spessore corneale stromale minimo di 400 µm¹³, quindi nuovi protocolli di CXL accelerato o ad alta fluenza (ACXL) sono stati proposti per accorciare l'intero tempo di trattamento CXL da 1 ora a circa 20-25 minuti, migliorando così il comfort del paziente e mantenendo al contempo un buon profilo di sicurezza ed efficacia¹⁴⁻²³.

Background microstrutturale del "M nomogram"

ACXL guidato da pachimetria

I protocolli di ACXL si basano sul cosiddetto "principio di equi-dose" enunciato nella legge di reciprocità fotochimica di Bunsen-Roscoe²⁴. Questa legge fisica afferma che l'effetto biologico è proporzionale alla dose totale di energia erogata indipendentemente dall'irradiazione e dal tempo applicati, *rectius*, noi trasferiamo una energia (fluenza) o dose al tessuto stromale e la stessa quota di energia si può trasferire al tessuto biologico in tempi differenti modificando il potere UV-A ed il tempo di esposizione, generando lo stesso risultato. Effettivamente, durante il trattamento di CXL ciò

che trasferiamo allo stroma corneale è una Energia (E) o Fluenza (F), e non la potenza UV-A. La potenza UV è espressione di energia x tempo, quindi impostando la potenza UV-A su 9mW / cm² x 10 min, 18mW / cm² x 5 min, 15mW / cm² x 6 min, 30mW / cm² x 3 min, 45mW / cm² x 2 min, mantenendo E costante a 5,4 J / cm², possiamo teoricamente ottenere lo stesso effetto biomeccanico e biochimico (ovvero biologico) del protocollo di CXL standard a 3mW / cm² per 30 min. In realtà, questo è solo un principio teorico della fotochimica perché, secondo gli studi biomeccanici di microscopia di Brillouin²⁵, che dimostrano che i trattamenti con epitelio "in situ" (Epi-ON) penetrano fino a 100 µm invece di 300 µm in profondità stromale (con una proporzione di circa un terzo), come confermato dal *match* di rilevazione tra OCT corneale e microscopia confocale *in vivo* (IVCM) circa la profondità delle linee di demarcazione²⁶⁻²⁹, ha un'efficacia biomeccanica del 70% in meno rispetto al protocollo di Dresda Epi-OFF o standard (o solo un'efficacia del 30%) assumendo come riferimento il protocollo di Dresda¹.

Se un trattamento accelerato (ACXL) penetra a 200 µm di profondità dello stroma corneale³⁰, la proporzione secondo i dati di Brillouin²⁵ è 200 vs 300 µm con un'efficienza biomeccanica stimata del 60% rispetto allo standard di Dresda considerato come riferimento, avendo questo il massimo valore (99-100%) in una cornea con 400µm di spessore stromale¹³. Tuttavia, nonostante queste proporzioni apparentemente corrette, le cose non sono proprio così. Non vi sono infatti, come abbiamo recentemente dimostrato e pubblicato su una major review⁵⁶, relazioni lineari tra profondità ed efficacia biomeccanica del CXL, i quali dipendono da molteplici fattori come la quantità di legami chimici, l'ossigenazione stromale e la saturazione dei legami crociati (*crosslinks*), età dei pazienti, sfregamento degli occhi (*eye-rubbing*), fattori genetici ed ambientali.³¹ Secondo modelli teorici e studi di laboratorio, una stabilità duratura dell'ectasia può essere raggiunta se almeno i due terzi dello spessore corneale di base sono "saturati" di *crosslinks*, permettendo così una quantità ed un volume sufficienti di stroma corneale reticolato foto-dinamicamente^{32,33}.

Lo studio preclinico di laboratorio condotto da Krueger et al.³⁴ sul CXL ad alta fluenza ha dimostrato una sostanziale "equivalenza biomeccanica" in termini di comportamento del tessuto alla deformazione da sforzo o "stress-strain test" tra cornee trattate con soluzione di riboflavina standard isotonica 0.1% e 3mW/5.4J/cm² (protocollo di Dresda), 9mW / cm² e 15mW / cm² di luce UV-A continua o pulsata sempre mantenendo la stessa dose energetica di 5.4 J/cm².

Kamaev³⁵ et al hanno documentato che quando si fraziona l'esposizione UV pulsando la luce con un ciclo 1:1 (1 secondo *On* ed 1 secondo *Off*), l'efficienza della reticolazione del collagene e dei proteoglicani della matrice stromale migliora grazie ad una parziale ridiffusione intraoperatoria dell'ossigeno durante le pause, fenomeno noto come "*amplificazione della fase oscura*" o *dark phase oxygen amplification*. Questo studio fisico di laboratorio ha stabilito che l'erogazione UV-A pulsata migliora la saturazione di legami crociati durante la procedura ACXL in cui l'ossigeno viene consumato più rapidamente e ne aumenta la profondità dal 20 al 30%³⁶.

Mazzotta et al³⁰ hanno dimostrato per la prima volta nell'uomo, mediante microscopia confocale in vivo (IVCM) e tomografia a coerenza ottica corneale (OCT), che uno dei principali vantaggi della pulsazione della luce durante il CXL, inducendo una ossigenazione parziale intraoperatoria della cornea, consisteva in una maggiore penetrazione dell'effetto foto-ossidativo (almeno 50 μm rispetto alla esposizione continua alla luce UV), come dimostrato da IVCM e OCT, aumentando così il volume del CXL, la saturazione dei *crosslinks* espressi dalla maggiore profondità della linea di demarcazione ottica rispetto all'esposizione alla luce UV continua. Questi dati inizialmente dimostrati da Mazzotta per la prima volta a livello internazionale utilizzando il protocollo ACXL 30mW/cm² sono stati confermati successivamente da Moramarco al³⁷ e da Peyman et al³⁸.

Inoltre Jang et al³⁹, hanno confermato ulteriormente i dati ottenuti da Mazzotta, avvalorando anche l'altro vantaggio della luce pulsata nel CXL sostenuto da Mazzotta al confocale e consistente in un danno microstrutturale minore ed una riduzione della stimolazione dei cheratociti stromali della guarigione delle ferite, molto utile nella prevenzione dell'*haze* postoperatorio.

Gli studi pilota di Mazzotta con la IVCM^{22,26-30,41} hanno permesso per la prima volta a livello internazionale un'analisi qualitativa e quantitativa precisa della cornea dopo CXL. L'analisi *in vivo* ha incluso la valutazione della profondità della linea di demarcazione ottica da parte dell'OCT corneale *spectral-domain* del segmento anteriore e le variazioni corneali globali tempo-dipendenti a livello cellulare con una risoluzione assiale di 1 μm ottenute mediante IVCM a

scansione laser comprendenti: stratificazione epiteliale corneale progressiva, scomparsa dei nervi, rigenerazione nervosa plessica ed interconnessioni neurali, apoptosi dei cheratociti e ripopolamento stromale progressivo, risposta alla guarigione delle ferite e cambiamenti del complesso matrice extracellulare-collagene-proteoglicani (ECM-CPC) dello stroma, inclusa l'analisi dell'endotelio corneale (esagonalità, polimegatismo e conteggio cellulare).

Le scansioni OCT corneali hanno fornito un semplice esame clinico non invasivo con una "*corrispondenza perfetta*" con il più potente strumento diagnostico della IVCM, documentando la linea di riflessione ottica (*demarcation line*) correlata al danno foto-ossidativo indotto da CXL stimando così la penetrazione volumetrica del trattamento a cui si correla in maniera non-lineare ma asintotica e crescente, il potere biomeccanico-biochimico del CXL come recentemente pubblicato da Mazzotta Wollensak e Spoerl in collaborazione con il prof.ssa Pandolfi del Dipartimento di Ingegneria strutturale del Politecnico di Milano⁵⁶.

La combinazione di queste metodologie, documentando in vivo le modificazioni cellulari corneali, la sicurezza endoteliale ed il confine della linea di demarcazione tra stroma foto-reticolato e non reticolato, ha generato la possibilità per la creazione di un nomogramma di CXL personalizzato e standardizzato "*basato sulla pachimetria*", chiamato "*nomogramma M*" sviluppato da Mazzotta. L'autore ha sviluppato il nomogramma chirurgico di CXL che consente di trattare in modo standardizzato le cornee di qualsiasi spessore, abbinando i modelli matematici simulati di profondità del CXL calcolati dal Prof. Marc Friedman a Boston, con le

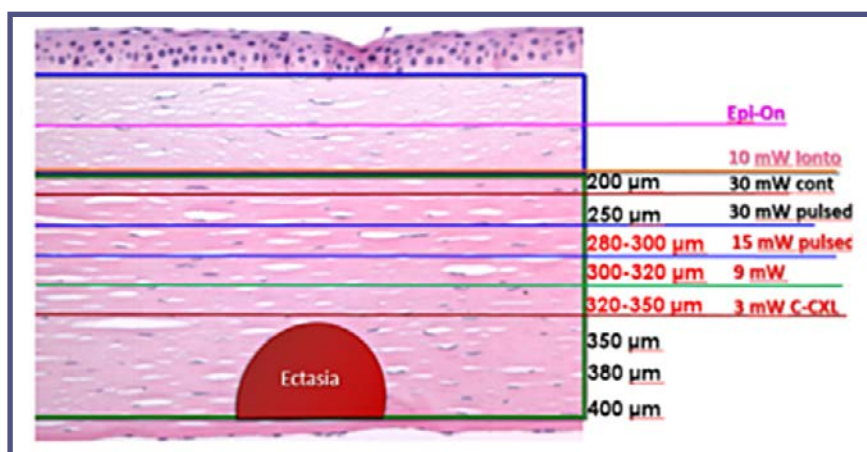


Fig. 1 - Illustrazione schematica della penetrazione del CXL in diverse impostazioni di potenza UV-A e conseguente modalità di esposizione alla luce UV (continua e pulsata) e tempi che indicano la profondità delle linee di demarcazione relative secondo gli studi morfologici in vivo IVCM e OCT.

misurazioni IVCN e OCT *in vivo*. Il "nomogramma M" consente di stimare preoperatoriamente la profondità del trattamento di CXL in base ai dati di pachimetria ottica nel punto più sottile o *thinnest point ottico* o *minimum corneal thickness* (MCT), mantenendo così la sicurezza endoteliale (nell'*offset* del nomogramma M viene utilizzato per ulteriore salvaguardia un margine di sicurezza endoteliale di + 50 μm in relazione alla *deviazione standard* della profondità di *demarcation line* di cui si parla più avanti) ed includendo anche le cornee sottili (*Thin corneas*) con spessore tra 350 e 400 μm e le ultrasottili (*Ultra-thin corneas*) con spessore compreso tra 250 e 350 μm (intervallo 250-400 μm con epitelio), Figura 1.

A questo protocollo si associa la *new enhanced-fluence pulsed light iontophoresis* (EF-ICXL) o nuova iontoforesi che rappresenta la sintesi di alcune delle novità del CXL Epi-ON ideata da Mazzotta^{57,58}.

La Figura 2 illustra la base comparativa micro-morfologica del "nomogramma M" che mostra l'apoptosi dei cheratociti IVCN rilevata e la profondità delle linee ottiche di demarcazione in *Spectral domain OCT* contemporanee, corrispondenti alla penetrazione stromale del CXL convenzionale (protocollo di Dresda) mediamente rilevate a 300 \pm 30 μm (350 μm misurati dalla superficie epiteliale) ed assunto come riferimento.

Il "nomogramma M" include le seguenti impostazioni di potenza UV-A mantenendo sempre l'energia standardizzata del protocollo di Dresda Epi-OFF (5,4 J/cm²)¹ ed includendo un margine di sicurezza endoteliale (*offset* + 50 μm) per lo spessore corneale minimo di inclusione (ad es. lo spessore corneale minimo incluso è 250 μm con epitelio): trattamento ACXL in luce continua a 30mW/cm² (protocollo ACXL di Avedro)^{29,30,40,41,42} generante un effetto apoptotico foto-ossidativo IVCN-rilavabile ed una media linea di demarcazione ottica documentata all'OCT corneale di 150 μm di profondità media (range 100 - 200 μm) epitelio incluso, circa 50 μm in meno rispetto all'impostazione della luce pulsata a 30m/cm².

Il trattamento in luce pulsata (protocollo ACXL a luce pulsata di Avedro)^{29,30} genera una apoptosi dei cheratociti (effetto foto-ossidativo CXL-indotto) ad una

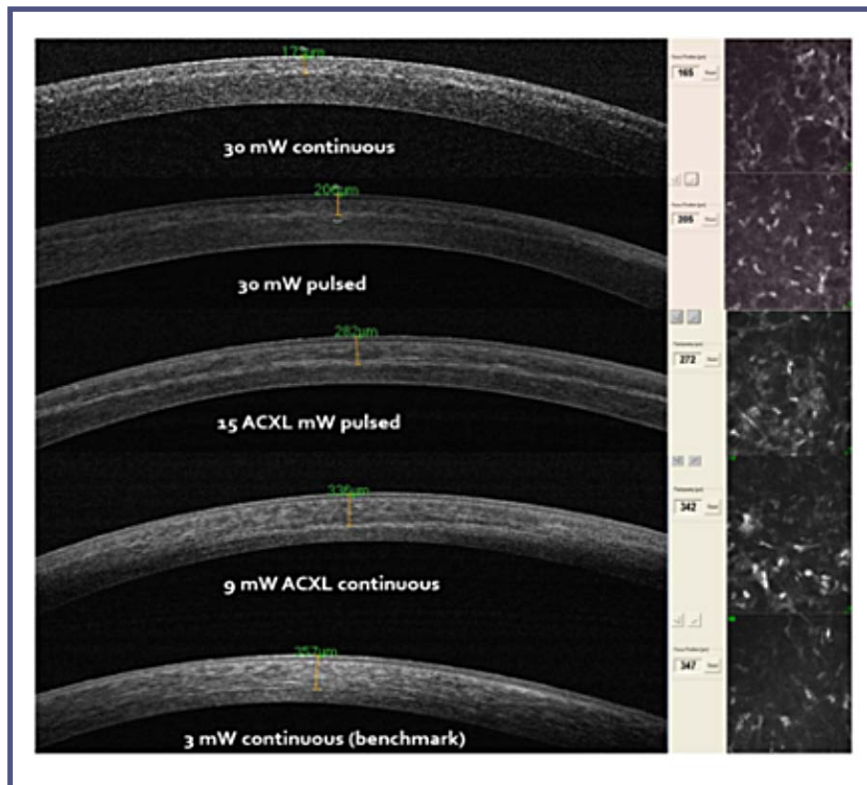


Fig. 2 - Profondità "M nomogramma" delle linee di demarcazione rispetto al protocollo 3 mW / cm² (benchmark) e relativa corrispondenza della vitalità cellulare (apoptosi dei cheratociti) registrata 1 mese dopo i trattamenti che mostrano che la penetrazione del danno fotoossidativo può essere calibrata in base alla pachimetria di base che necessita (Archivi di imaging post-CXL di C. Mazzotta).

profondità stromale media di 200 μm (intervallo 150 - 250 μm) misurato dalla superficie epiteliale. I risultati su 30mW/cm² con irraggiamento UV a luce continua che raggiunge una profondità media di 150 μm sono stati documentati per la prima volta da Touboul et al⁴² e confermati subito dopo da Mazzotta et al³⁰.

Il "nomogramma M" comprende anche il protocollo ACXL a luce pulsata a 15mW/cm² (chiamato protocollo Accelerato di Siena) recentemente pubblicato da Mazzotta et al⁴³, e basato sugli studi preclinici di "equivalenza biomeccanica" pubblicati da Krueger et al³⁴ che comparavano il CXL standard con l'accelerato ad alta radianza nell'intervallo 9mW - 15mW/cm² di potenza UV-A, mantenendo l'Energia a 5.4J/cm² e rivelando una linea di demarcazione ben distinta ad una profondità stromale media di 280 μm (range 250-310 μm) documentata da Mazzotta mediante IVCN e scansioni comparative OCT⁴³.

Anche il 9mW/cm² accelerato per 10 minuti di esposizione UV-A¹⁵⁻²⁰ (protocollo accelerato di Dresda) è stato incluso nel "nomogramma M" e si avvia verso la sostituzione del protocollo originale di Dresda risultando allo stato attuale (dati in corso di valutazione ed

in press) il protocollo di CXL accelerato più eseguito al Mondo e recentemente divulgati all'ESCRS virtual meeting 2020 da Mazzotta.

Gli studi comparativi IVCN e OCT dopo ACXL 9mW/cm² hanno mostrato circa la stessa penetrazione del CXL a 3mW/cm² (benchmark) come riportato in Figura 1 ed hanno dimostrato efficacia nella stabilizzazione dei parametri topografici ad oltre 5 anni di follow-up nel cheratocono (Mazzotta et al, in press). Inoltre, il protocollo accelerato a 9mW/cm² ha migliorato UDVA e CDVA, si è rivelato sicuro per l'endotelio corneale, ha stabilizzato la progressione del cheratocono e dell'ectasia iatrogena con una significativa riduzione dei valori cheratometrici topografici comparabili con il CXL convenzionale 3mW/cm² nel follow-up di medio termine^{15,18,20}.

Il protocollo ACXL 18mW/cm² 5,4J/cm² riportato da Hashemi et al⁴⁴ ha raggiunto una profondità di demarcazione media di 220µm (range 170-280µm) e non è stato incluso nel "nomogramma M" a causa del minore appiattimento del K massimo (K max) dimostrato in letteratura e rivelando dati di penetrazione inferiori al protocollo accelerato di Siena di 15mW/cm² ed anche a causa dei dati non testati né convalidati dallo studio preclinico di laboratorio di "equivalenza biomeccanica" pubblicato da Krueger et al.³⁴ che rappresenta la necessaria fonte di impostazione preclinica di laboratorio ispirante il "nomogramma M".

I dati relativi alla sicurezza endoteliale sono stati riportati nella major review basata sui dati di IVCN pubblicata da Mazzotta et al su Ocular Surface²⁹. Secondo gli studi biomeccanici condotti da Shumacher et al³³ sul modello di ottimizzazione del CXL corneale Riboflavina-UV-A ed i risultati sperimentali forniti da Kohlaas et al³² i quali dimostrano che il trattamento più efficace di CXL dovrebbe coprire almeno due terzi dello stroma corneale, in relazione alla pachimetria

minima basale, il "nomogramma M", basandosi sui dati morfologici riscontrati e pubblicati in letteratura e sui modelli di match matematico, consente con un elevatissimo livello di precisione e sicurezza, se si rispettano tutte le procedure, di impostare la profondità

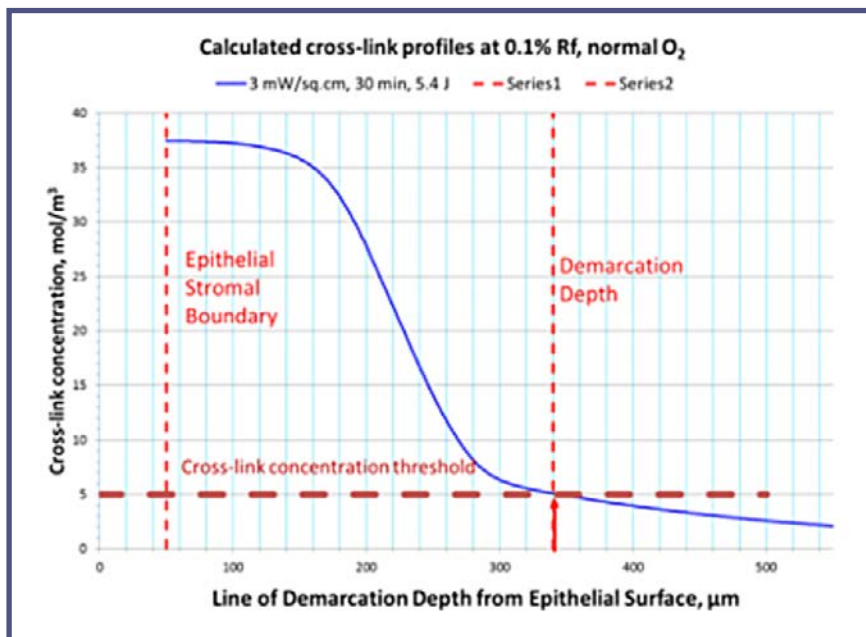


Fig. 3 - La valutazione matematica della soglia di concentrazione dei crosslinks secondo la linea di demarcazione misurata ipotizzando il protocollo di Dresda come parametro di riferimento ha dimostrato che la massima interazione tra complesso UV-A, Riboflavina 0.1%, Ossigeno e Collagene-Proteoglicani nei primi 200 µm era del 70% delle interazioni riboflavina-UV-A, mentre il restante 30% della reazione foto-ossidativa del CXL viene dissipato nello stroma profondo tra 200 µm e 300 µm di profondità.

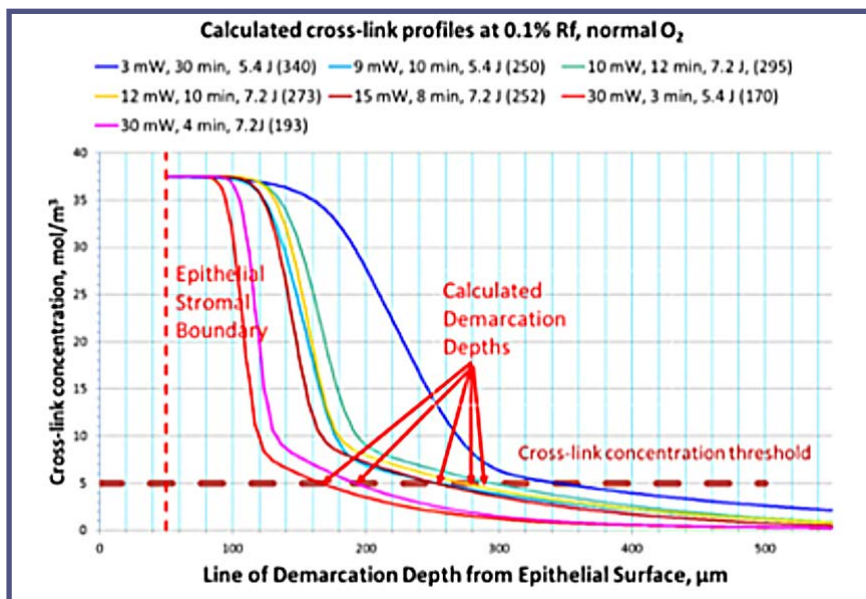


Fig. 4 - Soglia di concentrazione dei crosslinks in diversi protocolli di CXL epi-off ad alta radianza calcolati per i loro profili di distribuzione di foto-reticolazione e profondità previste in relazione alla linea di demarcazione.

Riboflavin Soaking time (minutes)	UVA irradiation (mW/cm ²)	UVA irradiation Time (minutes) and modality	Energy Dose (E) (Joule/cm ²)	Measured Demarcation Line depth (µm)	Calculated Demarcation Line depth (µm)
30	3	30 continuous	5.4	294.2±51.2	352
30	3	30 continuous	5.4	350±20	352
30	3	30 continuous	5.4	341.8±47.02	352
30	3	30 continuous	5.4	350.78±49.34	352
30	3	30 continuous	5.4	337±46.46	352
15	30	3 continuous	5.4	140.4±39.1	185
30	30	4 continuous	7.2	200±20	209
30	30	8 pulsed 1:1 sec	7.2	250±20	255
15	30	4 continuous	7.2	153.85±33.11	195
10	30	8 pulsed 1:1 sec	7.2	213±47	239
10	20	12 pulsed 1:1 sec	7.2	233±92	262
20	30	4 continuous	7.2	160±20	202
20	9	10 continuous	5.4	288.46±42.37	265
20	18	5 continuous	5.4	208.64±18.41	219
30	18	5 continuous	5.4	240.37±18.89	225
30	18	7 continuous	7.56	313.37±48.85	245
30	18	5 continuous	5.4	223±32	225
30	9	14 continuous	7.56	322.91±48.28	296
10	30	4 continuous	7.2	159.88	195
10	30	8 pulsed 1:1 sec	7.2	201.11	213

Tabella 1. Linee di demarcazione misurate e calcolate in diversi protocolli di reticolazione.

desiderabile del trattamento di CXL, salvaguardando l'endotelio corneale ed includendo finalmente anche le cornee ectasiche *thin* "sottili" ed *ultra-thin* "ultrasottili", con *minimum corneal thickness* (MCT) tra 250 e 400µm (epitelio incluso), risolvendo così il problema del trattamento standardizzato delle cornee sotto i 400 µm⁴⁵⁻⁵². Per il suo valore scientifico e tecnico il "Nomogramma M" è stato pubblicato recentemente sull'*International Journal of Keratoconus and Ectatic Corneal Diseases* e Cosimo Mazzotta è stato insignito del "Premio Joseph Colin 2019 per il Cheratocono" per il miglior contributo tecnico-scientifico al Congresso ESCRS di Parigi del 2019.

Background Fisico-Matematico del "Nomogramma M"

Il modello sperimentale che contrasta la dinamica dell'ossigeno e della radianza durante il CXL può essere modulato per raggiungere diverse quantità di *crosslinks* intra-stromali e differenti distribuzioni volumetriche

prevedibili e sufficientemente controllate⁴⁰.

La linea di demarcazione rappresenta la profondità dell'impatto foto-ossidativo reticolante e la risposta di guarigione dei tessuti ad una certa soglia, sebbene non coincida linearmente con l'effetto funzionale e biomeccanico del CXL cui si legano molteplici altri fattori biologici e variabili individuali^{26,53,54}. Questa "soglia" è correlata alla concentrazione minima di ossigeno singoletto che provoca un impatto foto-ossidativo sufficiente a suscitare una risposta tissutale adeguata, poiché la linea di demarcazione è più visibile circa 1-3 mesi dopo il trattamento. Friedman M.⁴⁰ in uno studio sulle reazioni fotochimiche durante il CXL presentato al *Congresso Internazionale sul CXL (Boston MA, USA, 2015)*, ha mostrato il profilo teorico di reticolazione determinato in funzione della profondità della *demarcation line* ed una potenziale concentrazione di reticolazione soglia rappresentativa, basata sulla profondità della linea di demarcazione, assumendo il protocollo di Dresda come riferimento, Figura 3.

Diversi protocolli accelerati di reticolazione foto-dinamica, secondo la letteratura, sono stati calcolati in relazione alla profondità di demarcazione ed i profili di distribuzione dei legami, Figura 4.

Il rapporto sulla profondità delle linee di demarcazione misurate e calcolate (Tabella 1), incluso l'epitelio, *mostra un'alta correlazione* tra le linee di demarcazione misurate e quelle calcolate (pendenza di $m = 1,03$ e un valore $R^2 0.73$). I cerchi verdi mostrati in Figura 5 sono relative ai dati pubblicati da Mazzotta C.²⁹ che misurano *in vivo* le profondità medie delle linee di demarcazione a partire dalla superficie epiteliale.

L'analisi comparativa ha incluso le profondità delle linee di demarcazione misurate mediante microscopia confocale *in vivo* (IVCM) ed OCT corneale in 20 occhi trattati con CXL convenzionale $3mW/cm^2$, 20 occhi trattati con ACXL $30mW/cm^2$ con luce continua (10 occhi) e pulsata (10 occhi), con esposizione UV-A 1:1 (1 secondo on ed 1 secondo off), 20 occhi trattati con ACXL $15mW/cm^2$ in luce pulsata e 20 occhi usando il protocollo di ACXL $9mW/cm^2$. Le linee di misurazione delle profondità di demarcazione²⁹ hanno mostrato un'elevata correlazione con il modello fisico-matematico calcolato da Friedman M et al.⁴⁰ nel quale il profilo teorico matematico di foto-reticolazione CXL-indotta è stato determinato in funzione della profondità della linea di demarcazione per ciascun protocollo. La potenziale "concentrazione soglia di crosslinks", rappresentata della linea di demarcazione, è stata matematicamente calcolata e stimata partendo dal protocollo di Dresda come *standard* di riferimento. Come si evidenzia nella Tabella 1, le deviazioni standard riportate per questa misurazione sono ampie, rivelando una variabilità fino al 40% in termini di profondità della linea di demarcazione per protocolli clinici nominalmente equivalenti. Molti fattori come l'irradiazione UV-A, il tempo di esposizione, la modalità di esposizione (pulsata o continua), le soluzioni di riboflavina adoperate e la loro concentrazione, la somministrazione delle gocce prima e soprattutto durante l'esposizione UV-A, il profilo del *beam* di illuminazione, l'utilizzo di ossigeno supplementare (*boost oxygen CXL*), la messa a fuoco del fascio radiante, le condizioni ambientali, determinano questa variabilità di risultato clinico. La riboflavina può

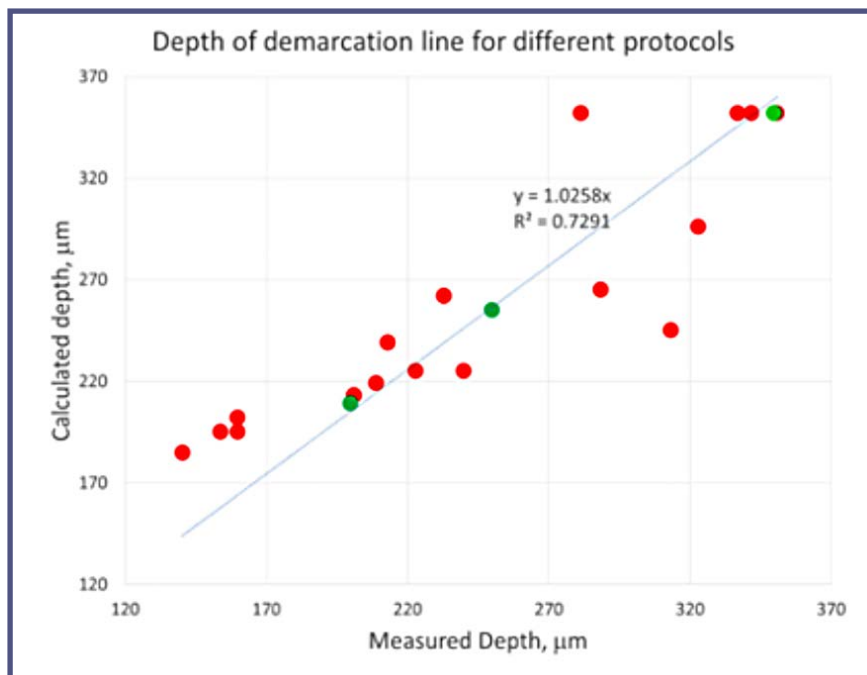


Fig. 5 - Calcolo (cerchi rossi) rispetto alla linea misurata della profondità di demarcazione per vari protocolli per il trattamento del cheratocono. I cerchi verdi sono i risultati dimostrati da Mazzotta et al. in letteratura.

variare dallo 0.1% allo 0.15% allo 0.25% in concentrazione e l'impatto di una concentrazione aumentata dallo 0.1 allo 0.15% sulla profondità della profondità di una linea di demarcazione è di circa - 22 μm in impatto sulla profondità. Al contrario, usando una soluzione salina ipotonica, la linea di demarcazione può risultare di +22 μm. La calibrazione e la messa a fuoco dei singoli dispositivi emettitori UV-A possono modificare la profondità della linea di demarcazione di ± 34 μm e la varianza dal centro al bordo in base ai profili del fascio di ± 51 μm (più profonda al centro, meno in periferia in relazione alla distanza relativa tra sorgente e volta corneale). L'utilizzo di ossigeno può determinare un incremento di profondità dal 20 al 30% come dimostrato recentemente da Mazzotta et al nel primo studio sul *crosslinking customizzato ad energia variabile* con l'utilizzo di ossigeno intraoperatorio supplementare (*boost-oxygen ACXL*) e che rappresenta una delle novità assolute nel panorama del *crosslinking* futuro⁵⁸. La variabilità del 40% della profondità della linea di demarcazione durante l'utilizzo dello stesso protocollo accelerato ad alta fluensa può spiegare la mancanza di coerenza e ripetibilità nell'applicazione delle procedure chirurgiche di CXL, portando così a una potenziale variabilità nei risultati clinici. Sebbene la correlazione con l'esito clinico del CXL non sia ancora stata determinata, il raggiungimento di profondità delle linee di demarcazione coerenti e ripetibili richiede attenzione, standardizzando la procedura chirurgica in modo consistente^{35,40}.

Discussione e Conclusioni

Il "nomogramma M" guidato dalla pachimetria sviluppato da Cosimo Mazzotta si basa sui rapporti tra linee di demarcazione misurate in vivo mediante IVCN ed analisi OCT corneale in diversi protocolli di CXL ad alta radianza (accelerati) le cui osservazioni cliniche e strumentali microstrutturali coincidono in modo statisticamente significativo con i modelli fisico-matematici, consentendo così il trattamento di ogni spessore corneale rispetto allo spessore minimo basale, comprese le cornee sottili ed ultrasottili con pachimetria ottica minima compresa tra 250 e 400µm misurate con epitelio (intervallo minimo di pachimetria stromale tra 200 e 350 µm) senza alterare l'endotelio corneale (un margine endoteliale di sicurezza di + 50 µm è stato scelto e raccomandato nell'*offset* del *Nomogramma M* considerando la variabilità del 40% della profondità della linea di demarcazione all'OCT e le relative deviazioni standard dell'apoptosi dei cheratociti misurate con la IVCN, rispettando così in tutti i casi, la dose di energia di 5.4 J/cm² standardizzata nel protocollo di Dresda¹ e basata sull'evidenza scientifica e follow-up molto lunghi e consistenti su migliaia di trattamenti effettuati.

Nel tempo, sono stati proposti molti "metodi non standardizzati" sebbene ognuno con i suoi vantaggi e svantaggi, per il trattamento delle cornee sottili⁴⁵⁻⁵² tra cui si annoverano l'espansione stromale con soluzioni ipotoniche di riboflavina di Hafezi et al^{45,46}, il CXL transepiteliale⁴⁷, la tecnica dell'isola epiteliale (EICXL) di Mazzotta e Ramovecchi^{48,49}, che prevedeva di lasciare una piccola area (isola) di epitelio in corrispondenza del punto più sottile dell'apice, il CXL assistito da lenti a contatto proposto da Soosan Jacob et al^{50,51}, il CXL mediante apposizione di lenticoli stromali provenienti da SMILE pensato originariamente da Sachdev et al⁵², tutte tecniche personali "non standardizzate" su campione molto piccolo, talora inaccessibili per i costi, con risultati variabili e talvolta contraddittori, limiti fotochimici e tecnici. Fino ad oggi, in sostanza non avevamo a disposizione un metodo standardizzato ed universale per il trattamento delle cornee sottili, che desse con accessibilità, fruibilità, ad ogni latitudine e nelle mani di ciascun chirurgo oftalmico un risultato omogeneo.

Il "nomogramma M" offre finalmente il vantaggio di un metodo standardizzato, uniforme ed accessibile a tutti, per il trattamento delle cornee ectasiche di qualsiasi spessore minimo, includendo un *range* tra 250 e 400 µm, garantendo una penetrazione del CXL efficace e sicura, a circa due/terzi del volume di stroma basale, predeterminando la profondità della penetrazione

dell'effetto foto-ossidativo, facilmente verificabile sul piano diagnostico in *office* mediante OCT corneale dopo 15-30 giorni dal trattamento, attraverso la visualizzazione e la misurazione diretta della profondità della linea di demarcazione.

Le cornee sottili al di sotto dei 400 µm si incontrano nella pratica clinica oftalmologica, non solo nel 5-10% degli occhi affetti da KC, ma più frequentemente le vediamo nei pazienti affetti da ectasie iatrogene post LASIK in particolare ma anche dopo SMILE e meno dopo PRK, in alcune degenerazioni marginali pellucide (PMD) ed in cornee con *shifft* ipermetropici progressivi post RK.

Il "nomogramma M", oltre alla efficacia, mantiene la sicurezza per l'endotelio corneale. Infatti, è stato incluso un margine di +50µm dall'endotelio nella pianificazione preoperatoria delle cornee sottili a causa della variabilità e della deviazione standard della profondità della linea di demarcazione per protocolli aventi il medesimo *offset*^{29,35,40}.

La linea di demarcazione^{26,29,53,54,56} osservata dopo CXL ed ACXL Epi-OFF, rappresenta un confine dell'impatto foto-ossidativo del trattamento di CXL, una stria ottica di riflessione quale espressione del *light-scattering* dovuto ai cambiamenti di riflettività tessutale all'OCT per diverse densità del tessuto, la transizione da un'area edematosa priva di cellule in apoptosi in fase precoce, verso lo stroma profondo regolarmente popolato di cellule e non raggiunto dall'effetto foto-ossidativo⁴³. Lo stroma corneale profondo oltre 350 (misurato dalla superficie epiteliale) nel CXL convenzionale, oltre 200 µm in ACXL a luce continua, i 250 µm in ACXL a luce pulsata, non subisce alterazioni tissutali oltre le linee di demarcazione con una deviazione standard di ±40-50 µm²⁹. La profondità delle linee di demarcazione riassunta in Tabella 1 e Figura 2 è l'espressione diretta del danno foto-ossidativo e della penetrazione del trattamento pur non correlando linearmente né con la sua efficacia biomeccanica e biochimica, che dipendono dal livello di densità e saturazione dei legami crociati oltre che dal volume stromale trattato, né con gli aspetti funzionali che sono legati a molteplici variabili tomografiche, di superficie, di simmetria, alla centralità o alla eccentricità dell'apice, ai rapporti tra le superfici corneali anteriore e posteriore e all'indice di rifrazione. I protocolli *crosslinking accelerato*, riducendo il tempo di trattamento entro i 20-25 minuti, offrono grandi vantaggi nelle applicazioni cliniche in cui il tempo di trattamento di 1 ora era eccessivamente lungo per la maggior parte dei pazienti, specialmente pediatrici. Inoltre, i protocolli di ACXL consentono una "personalizzazione" del trattamento CXL in base

allo spessore corneale minimo otticamente rilevato in partenza, risolvendo così il problema del trattamento delle cornee sottili senza danneggiare l'endotelio⁴⁰. Il "Nomogramma M" si applica anche alle esigenze del CXL Plus *All Surface Laser Ablation*, ai protocolli combinati di regolarizzazione corneale laser laser di trans-PTK o trans-PRK (*Stare-X protocol*), permettendo così di scegliere il più corretto protocollo di trattamento sulla base dello spessore stromale residuo post-ablativo (RSB) non solo in relazione alla salvaguardia dell'endotelio ma anche alla prevenzione dall'haze che in questi casi, grazie all'utilizzo della luce pulsata, diviene meno probabile. IN tali casi infatti il protocollo originale di Dresda risulta essere del tutto controindicato e addirittura pericoloso. Per concludere, occorre considerare anche che nel CXL corneale ci sono molti altri fattori che contribuiscono alla distribuzione tridimensionale



"Keratoconus Award 2019 Joseph Colin; ESCRS, Parigi" per il trattamento del cheratocono, oggetto di quest'articolo.

della reticolazione foto-dinamica corneale, la variabilità del singolo paziente, della struttura corneale, della sua biomeccanica, la presenza di *biomarkers* di infiammazione della superficie oculare, comorbidità come le allergie, la blefarite, lo sfregamento degli occhi, tutti elementi che possono influenzare l'esito delle procedure di CXL³¹. I fattori correlati alla procedura includono il profilo del fascio, la concentrazione e la velocità di diffusione della formulazione della riboflavina utilizzata, la durata del tempo di imbibizione della riboflavina, la viscosità del bio-film, i tempi di somministrazione della riboflavina, nonché la diffusione intraoperatoria e la concentrazione di ossigeno nel tessuto stromale che sta assumendo una crescente rilevanza terapeutica e che costituisce un cardine fondamentale delle nuove tecniche trans-epiteliali di *crosslinking customizzato* come recentemente dimostrato da Mazzotta et al⁵⁸. ■

REFERENCES

1. Wollensak G, Spoerl E, Seiler Th. Riboflavin/ultraviolet-A-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol* 2003;135(5): 620-627.
2. Caporossi A, Baiocchi S, Mazzotta C et al. 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; 32(5):837-845.
3. 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.
4. Raiskup F, Theuring A, Pillunat LE, Spoerl E. 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.
5. Mazzotta C, Traversi C, Baiocchi S, Bagaglia S, Caporossi O, Villano A, Caporossi A. Corneal Collagen Cross-Linking with Riboflavin and Ultraviolet A Light for Pediatric Keratoconus: Ten-Year Results. *Cornea*. 2018 May;37(5):560-566.
6. O'Brart DP, Patel P, Lascaratos G, Wagh VK, Tam C, Lee J, O'Brart NA. Corneal Cross-linking to Halt the Progression of Keratoconus and Corneal Ectasia: Seven-Year Follow-up. *Am J Ophthalmol*. 2015 Dec;160(6):1154-63.
7. 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(4):585-593.
8. Wittig-Silva C, Chan E, Islam FM, Wu T, Whiting M, Snibson GR. A randomized, controlled trial of corneal collagen cross-linking in progressive keratoconus: three-year results. *Ophthalmology*. 2014 Apr;121(4):812-21.
9. Rabinowitz YS. Keratoconus. *Surv Ophthalmol*. 1998 Jan-Feb;42(4):297-319.
10. Godefrooij DA, Gans R, Imhof SM, Wisse RP. Nationwide reduction in the number of corneal transplantations for keratoconus following the implementation of cross-linking. *Acta Ophthalmol*. 2016 Nov;94(7):675-678.

REFERENCES

11. Sandvik GF, Thorsrud A, Råen M, Østern AE, Sæthre M, Drolsum L. Does Corneal Collagen Cross-linking Reduce the Need for Keratoplasties in Patients With Keratoconus? *Cornea*. 2015 Sep;34(9):991-5.
12. Tabibian D, Mazzotta C, Hafezi F. PACK-CXL: Corneal cross-linking in infectious keratitis. *Eye Vis (Lond)*. 2016 Apr 19;3: 11.
13. 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.
14. Hagem AM, Thorsrud A, Sandvik GF, Drolsum L. Randomized Study of Collagen Cross-Linking With Conventional Versus Accelerated UVA Irradiation Using Riboflavin With Hydroxypropyl Methylcellulose: Two-Year Results. *Cornea*. 2019 Feb;38(2):203-209.
15. Elbaz U, Shen C, Lichtinger A, et al. Accelerated (9-mW/cm²) corneal collagen crosslinking for keratoconus-A 1-year follow-up. *Cornea*. 2014 Aug;33(8):769-773.
16. Ulusoy DM, Gökta E, Duru N, Özköse A, Ata M1, Yuvacı , Arifo lu HB, Zarsarsız G. Accelerated corneal crosslinking for treatment of progressive keratoconus in pediatric patients. *Eur J Ophthalmol*. 2016 Jul 20:0. doi: 10.5301/ejo.5000848.
17. Marino GK, Torricelli AA, Giacomini N, Santhiago MR, Espindola R, Netto MV. Accelerated corneal collagen crosslinking for postoperative LASIK ectasia: two-year outcomes. *J Refract Surg*. 2015 Jun;31(6):380-384.
18. Chow VW, Chan TC, Yu M, Wong VW, Jhanji V. One year outcomes of conventional and accelerated collagen crosslinking in progressive keratoconus. *Sci Rep*. 2015 Sep 25;5: 14425.
19. Hashemian H, Jabbarvand M, Khodaparast M, Ameli K. Evaluation of corneal changes after conventional versus accelerated corneal cross-linking: a randomized controlled trial". *J Refract Surg*. 2014 Dec;30(12):837-42.
20. Shetty R, Pahuja NK, Nuijts RM, Ajani A, Jayadev C, Sharma C, Nagaraja H. Current protocols of corneal collagen crosslinking - visual, refractive and tomographic outcomes. *Am J Ophthalmol*. 2015 Aug;160(2):243-9.
21. Hashemi H, Mirafteb M, Seyedian MA, Hafezi F, Bahrmandy H, Heidarian S, Amanzadeh K, Nikbin H, Fotouhi A, Asgari S. Long-term Results of an Accelerated Corneal Cross-linking Protocol (18mW/cm²) for the Treatment of Progressive Keratoconus. *Am J Ophthalmol*. 2015 Dec;160(6):1164-1170.
22. Mazzotta C, Traversi C, Paradiso AL, et al. Pulsed light accelerated crosslinking versus continuous light accelerated crosslinking one-year results. *J Ophthalmol*. 2014;2014: 1-6.
23. Sadoughi MM, Einollahi B, Baradaran-Rafii A, Roshandel D, Hasani H, Nazeri M. Accelerated versus conventional corneal collagen cross-linking in patients with keratoconus: an inpatient comparative study. *Int Ophthalmol*. 2016 Dec 29. doi: 10.1007/s10792-016-0423-0.
24. Brindley GS. The Bunsen-Roscoe law for the human eye at very short durations. *J Physiol*. 1952;118(1):135-139.
25. Scarcelli G, Kling S, Quijano E, Pineda R, Marcos S, Yun SH. Brillouin microscopy of collagen crosslinking: non-contact depth-dependent analysis of corneal elastic modulus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013 Feb 19;54(2):1418-25.
26. Mazzotta C, Balestrazzi A, Traversi C, Baiocchi S, Caporossi T, Tommasi C, Caporossi A. 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):390-7.
27. Mazzotta C, Traversi C, Baiocchi S, Caporossi O, Bovone C, Sparano MC, Balestrazzi A, Caporossi A. Corneal healing after riboflavin ultraviolet-A collagen cross-linking determined by confocal laser scanning microscopy in vivo: early and late modifications. *Am J Ophthalmol*. 2008 Oct;146(4):527-533.
28. 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. *Eur J Ophthalmol*. 2006 Jul-Aug;16(4):530-5.
29. Mazzotta C, Hafezi F, Kymionis G, Caragiuli S, Jacob S, Traversi C, Barabino S, Randleman JB. In Vivo Confocal Microscopy after Corneal Collagen Crosslinking. *Ocul Surf*. 2015 Oct;13(4):298-314.
30. Mazzotta C, Traversi C, Caragiuli S, Rechichi M. Pulsed vs continuous light accelerated corneal collagen crosslinking: in vivo qualitative investigation by confocal microscopy and corneal OCT. *Eye (Lond)*. 2014 Oct;28(10):1179-83.
31. Mazzotta C, Traversi C, Mellace P, Bagaglia SA, Zuccarini S, Mencucci R, Jacob S. Keratoconus Progression in Patients with Allergy and Elevated Surface Matrix Metalloproteinase 9 Point-of-Care Test. *Eye Contact Lens*. 2018 Nov;44 Suppl 2: S48-S53.
32. Kohlhaas M, Spoerl E, Schilde T, Unger G, Wittig C, Pillunat LE. Biomechanical evidence of the distribution of cross-links in corneas treated with riboflavin and ultraviolet A light. *J Cataract Refract Surg*. 2006 Feb;32(2):279-83.
33. Schumacher S, Mrochen M, Wernli J, Bueeler M, Seiler T. Optimization model for UV-riboflavin corneal cross-linking. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012 Feb 16;53(2):762-9.
34. Krueger R, Herekar M.S., Spoerl E: First Proposed Efficacy Study of High Versus Standard Irradiance and Fractionated Riboflavin/Ultraviolet A Cross-Linking with Equivalent Energy Exposure. *Eye & Contact Lens* 2014;40: 353-357.
35. Kamaev P, Friedman MD, Sherr E, Muller D. Photochemical kinetics of corneal cross-linking with riboflavin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(4):2360-7.
36. Kling S, Richoz O, Hammer A, Tabibian D, Jacob S, Agarwal A, Hafezi F. Increased Biomechanical Efficacy of Corneal Cross-linking in Thin Corneas Due to Higher Oxygen Availability. *J Refract Surg*. 2015 Dec;31(12):840-6.
37. Moramarco A, Iovieno A, Sartori A, Fontana L. Corneal stromal demarcation line after accelerated crosslinking using continuous and pulsed light. *J Cataract Refract Surg*. 2015 Nov;41(11):2546-51.
38. Peyman A, Nouralishahi A, Hafezi F, Kling S, Peyman M. Stromal Demarcation Line in Pulsed Versus Continuous Light Accelerated

REFERENCES

- Corneal Cross-linking for Keratoconus. *J Refract Surg.* 2016 Mar;32(3):206-8.
39. Jiang LZ, Jiang W, Qiu SY. Conventional vs. pulsed-light accelerated corneal collagen cross-linking for the treatment of progressive keratoconus: 12-month results from a prospective study. *Exp Ther Med.* 2017 Nov;14(5):4238-4244.
40. Friedman MD, Kamaev P, Smirnov M, Mrochen M, Lytle G, Muller D. Can we safely cross-link thinner corneas? Pathways for optimized CXL treatment planning, ESCRS 2015, Barcelona, Spain.
41. Mazzotta C, Paradiso AL, Baiocchi S, Caragiuli S, Caporossi A. Qualitative Investigation of Corneal Changes after Accelerated Corneal Collagen Cross-linking (A-CXL) by in vivo Confocal Microscopy and Corneal OCT. *J Clin Exp Ophthalmol* 2013, 4:6.
42. Touboul D, Efron N, Smadja D, Praud D, Malet F, Colin J. Corneal confocal microscopy following conventional, transepithelial, and accelerated corneal collagen cross-linking procedures for keratoconus. *J Refract Surg.* 2012 Nov;28(11):769-76.
43. Mazzotta C, Baiocchi S, Bagaglia SA, Fruschelli M, Meduri A, Rechichi M. Accelerated 15 mW pulsed-light crosslinking to treat progressive keratoconus: Two-year clinical results. *J Cataract Refract Surg.* 2017 Aug;43(8):1081-1088.
44. Hashemi H, Fotouhi A, Mirafteb M, Bahramandy H, Seyedian MA, Amanzadeh K, Heidarian S, Nikbin H, Asgari S. Short-term comparison of accelerated and standard methods of corneal collagen cross-linking. *J Cataract Refract Surg.* 2015 Mar;41(3):533-40.
45. Hafezi F, Mrochen M, Iseli HP, Seiler T. Collagen crosslinking with ultraviolet-A and hypoosmolar riboflavin solution in thin corneas. *J Cataract Refract Surg.* 2009 Apr;35(4):621-4. doi: 10.1016/j.jcrs.2008.10.060.
46. Raiskup F, Spoerl E. Corneal cross-linking with hypo-osmolar riboflavin solution in thin keratoconic corneas. *Am J Ophthalmol.* 2011 Jul;152(1):28-32 e1. doi: 10.1016/j.ajo.2011.01.016.
47. Caporossi A, Mazzotta C, Paradiso AL, Baiocchi S, Marigliani D, Caporossi T. Transepithelial corneal collagen crosslinking for progressive keratoconus: 24-month clinical results. *J Cataract Refract Surg.* 2013 Aug;39(8):1157-63. doi: 10.1016/j.jcrs.2013.03.026.
48. Mazzotta C, Ramovecchi V. Customized epithelial debridement for thin ectatic corneas undergoing corneal cross-linking: epithelial island cross-linking technique. *Clin Ophthalmol.* 2014 Jul 17; 8:1337-43. doi: 10.2147/OPHT.S66372.
49. Kymionis GD, Portaliou DM, Diakonis VF, Kounis GA, Panagopoulou SI, Grentzelos MA. Corneal collagen cross-linking with riboflavin and ultraviolet-A irradiation in patients with thin corneas. *Am J Ophthalmol.* 2012 Jan; 153(1):24-8.
50. Jacob S, Kumar DA, Agarwal A, Basu S, Sinha P, Agarwal A. Contact lens-assisted collagen cross-linking (CACXL): A new technique for cross-linking thin corneas. *J Refract Surg.* 2014 Jun;30(6):366-72. doi: 10.3928/1081597X-20140523-01.
51. Mazzotta C, Jacob S, Agarwal A, Kumar DA. In Vivo Confocal Microscopy After Contact Lens-Assisted Corneal Collagen Cross-linking for Thin Keratoconic Corneas. *J Refract Surg.* 2016 May 1;32(5):326-31.
52. Sachdev MS, Gupta D, Sachdev G, Sachdev R. Tailored stromal expansion with a refractive lenticule for crosslinking the ultrathin cornea. *J Cataract Refract Surg.* 2015 May;41(5):918-23.
53. Seiler T, Hafezi F. Corneal cross-linking-induced stromal demarcation line. *Cornea.* 2006 Oct;25(9):1057-9.
54. Spadea L, Di Genova L, Tonti E. Corneal stromal demarcation line after 4 protocols of corneal crosslinking in keratoconus determined with anterior segment optical coherence tomography. *J Cataract Refract Surg.* 2018 May;44(5):596-602.
55. Richoz O, Hammer A, Tabibian D, Gatzoufas Z, Hafezi F. The biomechanical effect of corneal collagen cross-linking (CXL) with riboflavin and UV-A is oxygen dependent. *Trans Vis Sci Tech.* 2013; 2(7):6.
56. Mazzotta C, Wollensak G, Raiskup F, Pandolfi AM, & Eberhard Spoerl. The meaning of the demarcation line after riboflavin-UVA corneal collagen crosslinking, *Expert Review of Ophthalmology.* (2019) DOI: 10.1080/17469899.2019.1611425.
57. Mazzotta C, Riomani A, Burrioni A. Pachymetry-based Accelerated Cross-linking: The "M Nomogram" for Standardized Treatment of All-thickness Progressive Ectatic Corneas. *International Journal of Keratoconus and Ectatic Corneal Diseases.* 2019;7(2):137-144.
58. Mazzotta C, Sgheri A, Bagaglia SA, Rechichi M, Di Maggio A. Customized corneal crosslinking for treatment of progressive keratoconus: Clinical and OCT outcomes using a transepithelial approach with supplemental oxygen. *J Cataract Refract Surg.* 2020 Aug 27. doi: 10.1097/j.jcrs.0000000000000347. Epub ahead of print. PMID: 32858580.