



**Politecnico  
di Torino**

## **Politecnico Di Torino**

**Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica**

AA. 2023/2024

Sessione di Laurea Luglio 2024

### **METODO DI VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA DI INTERVENTO DEL CROSS-LINKING**

**Relatori:** Prof. Umberto Lucia

**Candidata:** Laura Troisi

**Correlatori:** Dott.sa Mariarosa Astori

280237

Ing. Giulia Grisolia

# Sommario

ABSTRACT.....	4
INTRODUZIONE .....	5
CAPITOLO 1: La cornea.....	6
1.1 Anatomia della cornea .....	6
1.2 Composizione .....	8
1.3 Orientamento delle fibre di collagene .....	10
1.4 Geometria.....	11
1.5 Proprietà meccaniche della cornea .....	14
CAPITOLO 2: Introduzione sulle problematiche del cheratocono .....	26
2.1 Potere diottrico e i principali difetti visivi.....	26
2.2 Problematiche del Cheratocono .....	28
2.3 Classificazione del cheratocono.....	34
2.4 Come vengono modificate le proprietà meccaniche della cornea in conseguenza al cheratocono .....	37
CAPITOLO 3: Tecnologie diagnostiche e tipologie di cura/intervento .....	42
3.1 Tipologie di cure/intervento .....	42
3.2 Lenti a contatto .....	42
3.3 Anelli intrastromali (ICRS) .....	45
3.4 Cheratoplastica .....	47
CAPITOLO 4: Cross-Linking.....	49
4.1 Dispositivi diagnostici: Topografia corneale .....	49
4.2 Mappe topografiche .....	52
4.3 Principi di funzionamento del Cross-Linking.....	55
4.4 Procedure di intervento .....	60
4.5 Trattamenti di Cross-Linking effettuati presso l’Azienda Ospedaliera Nazionale SS. Antonio e Biaggio e Cesare Arrigo di Alessandria .....	62
4.6 Tipi di dispositivi e di macchine .....	64
CAPITOLO 5: Indici topografici .....	68
5.1 Indici topografici .....	68
5.2 Indici e screening per il cheratocono sub-clinico.....	71
5.3 Analisi degli indici topografici estratti per il modello statistico.....	76
5.4 Analisi statistica degli indici topografici e risultati.....	79

5.5	Calcolo statistico dell'indice cheratometrico che valuta l'efficacia del Cross-Linking e risultati.....	122
	CONCLUSIONE.....	135
	BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA .....	136

# ABSTRACT

Il cheratocono è una malattia ectasica caratterizzata da uno sfiancamento, da un assottigliamento progressivo con relativo incurvamento della superficie corneale che si traduce in un astigmatismo irregolare e in una diminuzione dell'acuità visiva. I parametri meccanici ed elastici si alterano compromettendo la stabilità strutturale, la rigidità e lo spessore della cornea.

Il Cross-Linking del collagene corneale (CXL) è una terapia innovativa mininvasiva che mira a rallentare e ad arrestare la progressione del cheratocono e delle altre malattie ectasiche della cornea. Lo scopo del trattamento è irrobustire la cornea, creando nuovi legami covalenti incrociati tra le fibre corneali, questi nuovi legami vengono indotti da una sostanza fotosensibilizzante chiamata Riboflavina o Vitamina B2 sottoposta a irradiazione UV-A a lunghezza d'onda 370 nm.

L'obiettivo di questa tesi magistrale è la valutazione dell'efficacia dell'intervento del Cross-Linking proponendo un nuovo indice cheratometrico che permetta di valutare quantitativamente il risultato terapeutico per consentire una valutazione maggiormente oggettiva all'Oculista al fine di istituire eventuali ulteriori azioni terapeutiche.

Il campione di pazienti su cui si sono svolte le indagini statistiche è stato estratto dal Dipartimento di Oculistica dell'Azienda Ospedaliera Nazionale SS. Antonio e Biagio e Cesare Arrigo di Alessandria. Il lavoro di tesi si è concentrato sull'analisi e sull'elaborazione statistica degli indici delle mappe topografiche prima, a un mese e a sei mesi dall'intervento relative all'occhio destro.

Dai risultati ottenuti è possibile affermare che il Cross-Linking agisca principalmente sulla superficie anteriore della cornea e l'indice valutato a 1 mese di distanza dall'intervento evidenzia uno stato infiammatorio dell'interna cornea che poi regredisce a 6 mesi, confermando un miglioramento della condizione del paziente.

# INTRODUZIONE

La cornea è la lente più potente del sistema visivo, contribuendo al 70% del potere di rifrazione totale dell'occhio. È composto da un tessuto connettivo avascolare e trasparente che protegge le strutture interne dell'occhio, contiene i fluidi di riempimento e resiste alla pressione intraoculare esercitata da quest'ultimi.

Lo strato principale della cornea è lo stroma e l'architettura precisa al suo interno delle fibrille di collagene immerse nella matrice glicoproteica conferisce alla cornea trasparenza, resistenza, elasticità e viscosità, conosciute come proprietà viscoelastiche.

Un cambiamento della tipica forma corneale approssimativamente sferica compromette la riflessione e la trasmissione della luce al cristallino e alla retina, sfociando in difetti visivi rilevanti, caratteristici delle patologie ectasiche corneali. La più comune tra queste è il cheratocono, malattia non infiammatoria, bilaterale, asimmetrica, che provoca un progressivo assottigliamento ed incurvamento della cornea assumendo una forma conica e irregolare.

Il Cross-Linking (CXL) è la terapia mininvasiva di elezione che mira ad arrestare la progressione del cheratocono, creando nuovi legami covalenti tra le fibrille di collagene nello stroma corneale attraverso l'azione combinata di una sostanza fotosensibilizzante (Riboflavina) con raggi UV-A a lunghezza d'onda 370 nm. Dopo il trattamento sebbene la cornea rimanga indeformata risulta irrobustita grazie alla formazione di collagene di neosintesi.

L'obiettivo di questa tesi magistrale è la valutazione dell'efficacia dell'intervento del Cross-Linking proponendo un nuovo indice cheratometrico, espresso attraverso una formula matematica, che permetta di valutare quantitativamente il successo in percentuale del trattamento nel corso del tempo, al fine di consentire una valutazione maggiormente oggettiva all'Oculista e che lo affianchi nell'eventuale scelta di adottare ulteriori azioni terapeutiche.

È stato eseguito un attento studio sugli indici estratti dalla mappa topografica, utilizzati per ricavare la formula matematica del nuovo indice cheratometrico proposto. Inoltre sono stati descritti gli indici di screening per il cheratocono sub-clinico presenti in letteratura.

Gli indici topografici su cui si è effettuata l'analisi statistica sono stati ricavati dalle mappe topografiche di cornee cheratoconiche di un campione di pazienti, in cura presso il Dipartimento di Oculistica dell'Azienda Ospedaliera Nazionale SS. Antonio e Biagio e Cesare Arrigo di Alessandria.

Le cornee colpite da cheratocono, considerate in questo lavoro di tesi magistrale, sono state trattate con tre tecniche differenti di Cross-Linking: l'**EPI-OFF**, che prevede l'esportazione dell'epitelio prima dell'irraggiamento continuo; l'**EPI ON IONTOFORESI**, in cui non è previsto la rimozione dell'epitelio prima dell'irraggiamento continuo; l'**EPI ON IONTO PLUS**, che evita la rimozione dell'epitelio prima dell'irraggiamento pulsato.

In questa tesi si è verificata l'efficacia dell'intervento del Cross-Linking delle 23 cornee prese in esame attraverso il nuovo indice cheratometrico proposto a 1 mese e a 6 mesi dal trattamento.

# CAPITOLO 1: La cornea

## 1.1 Anatomia della cornea

La cornea è un tessuto trasparente connettivo, avascolare che riveste la pupilla e l'iride ed è situato nella porzione anteriore del bulbo oculare. Insieme alla sclera costituisce il rivestimento più esterno della tonaca fibrosa, è collegato posteriormente alla sclera attraverso il limbus, mentre anteriormente è ricoperta da un film lacrimale. La cornea e l'umor acqueo rappresentano la prima lente naturale convessa a potenza fissa da 43 diottrie, quindi svolge la funzione di focalizzare le immagini sulla retina. Protegge le zone interne dell'occhio, trattenendo i fluidi presenti nella cavità oculare e resiste grazie alla sua rigidità alla pressione intraoculare (IOP) operata dai fluidi di riempimento. Nell'adulto medio il diametro orizzontale della cornea varia tra 11.5 mm e 12.0 mm ed è circa di 1 mm più grande rispetto al diametro verticale. Lo spessore aumenta progressivamente da circa 0.5 mm nella sezione centrale fino ad arrivare 0.7 mm nella sezione periferica. La forma della cornea è "prolata" in periferia e più tondeggiante al centro, ciò crea un sistema ottico asferico [1].

Questo tessuto è privo di vasi sanguigni, i nutrienti vengono così assimilati dalle zone più periferiche della cornea innervate da piccoli vasi o trasmesse dai rami periferici di arterie facciali tramite l'umor acqueo o il film lacrimale [2]; perciò, la avascolarità è fondamentale per il corretto passaggio della luce e la sua trasparenza. In condizione patologiche, nuovi vasi entrano nello stoma trasparente del limbus causando una perdita di trasparenza [3].

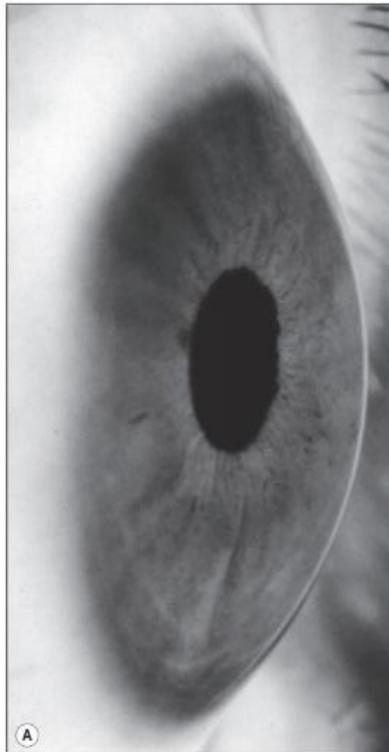


Figura 1: La cornea umana [4].

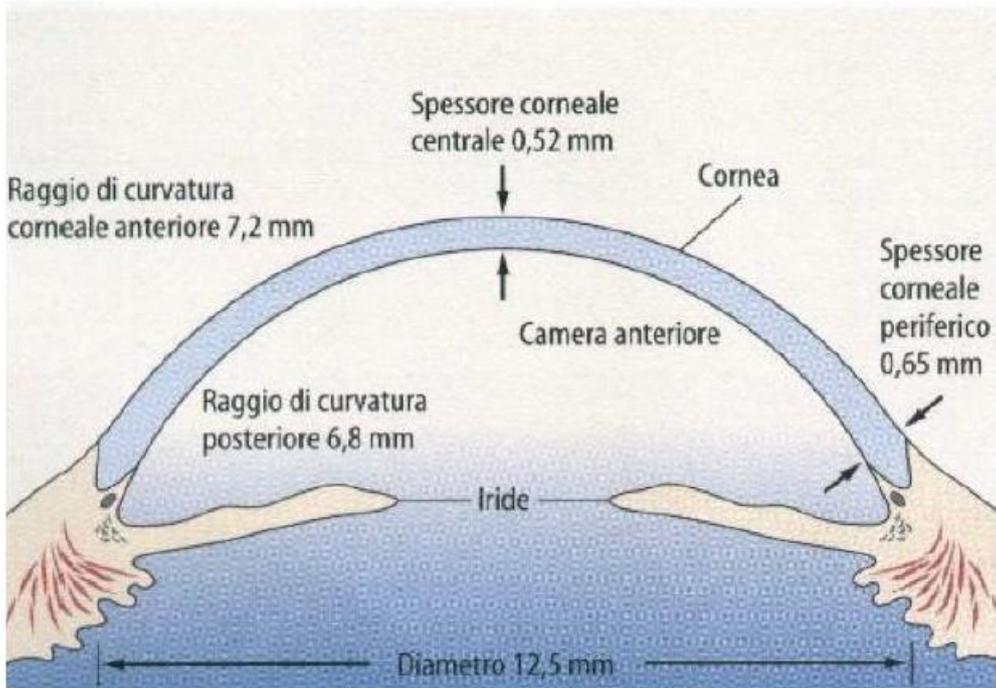


Figura 2: Schematizzazione della cornea [5].

La cornea ha un organizzazione a strati, dall'esterno all'interno troviamo: l'epitelio corneale, la membrana elastica anteriore di Browman, stroma, membrana di Descemet e l'endotelio.



Figura 3: Struttura stratificata della cornea, 1 epitelio, 2 membrana basale dell'epitelio, 3 strato di Bowman, 4 stroma, 5 membrana di Descemet, 6 endotelio [4].

All'interno dell'**epitelio** si distinguono fondamentalmente tre tipi di cellule, basali, intermedie (o poligonali) e superficiali, che rappresentano differenti stadi maturativi di una stessa unità cellulare [5]. Nello strato basale del limbus si trovano le cellule staminali che svolgono la normale funzione di ricambio dell'epitelio. L'epitelio è ricoperto da un film lacrimale composto da strati lipidici, proteici e acquosi, questo rivestimento protettivo è fondamentale non solo per la corretta lubrificazione ma anche per il mantenimento di una superficie liscia.

Lo **stato di Bowman** è una membrana acellulare composta da fibre di collagene prive di organizzazione all'interno della matrice extracellulare.

Lo **stroma** è lo strato più massiccio della cornea, è altamente idratato, infatti contiene il 78% di acqua, proprio questa differenza di idratazione, dovuta alla prossimità della regione anteriore all'ambiente secco esterno e della regione posteriore all'umor acqueo, genera un gradiente di rigidità, che causa la caratteristica curvatura [6]. È uno strato cellulare costituito prevalentemente da una precisa e compatta organizzazione di fibrille di collagene e matrice extracellulare, questa organizzazione conferisce trasparenza alla cornea e favorisce la non dispersione della luce incidente.

La **membrana di Descemet** è uno strato acellulare, omogeneo e sottile, formato da un reticolo di fibre di collagene che le dona elasticità oltre a svolgere da membrana di separazione tra stroma ed endotelio. È il basamento dell'endotelio.

L'**endotelio** è lo strato interno della cornea ed è composto da un sottile rivestimento di cellule. La trasparenza della cornea dipende dalla sua idratazione ed essa è regolata dall'endotelio, oltre ad avere la funzione di mantenimento costante dello spessore corneale controllando il flusso di fluidi organici che giungono dalla camera anteriore [7].

Si osserva che la membrana di Bowman non influenza la rigidità meccanica del tessuto corneale così come, la membrana di Descemet risulta essere troppo sottile per dare un contributo significativo alle proprietà meccaniche [8], tuttavia le caratteristiche meccaniche della cornea sono principalmente determinate dallo stroma [9].

## 1.2 Composizione

Lo stroma è lo strato principale che compone la cornea e l'organizzazione delle fibrille di collagene all'interno di questo è la chiave della sua trasparenza [10]. Le fibrille sono organizzate in strati o in lamelle approssimativamente perpendicolari tra di loro [11]. Infatti, lo stroma corneale umano è costituito da oltre 300 lamelle [10].

La cellula più diffusa nella matrice extracellulare è il cheratocita, il quale regola e dirige la disposizione delle fibrille di collagene e organizza le lamelle stromali durante il suo sviluppo [11].

Ogni singola catena polipeptidica è composta da una sequenza di amminoacidi, i quali sono molecole organiche formate da un gruppo amminico (-NH<sub>2</sub>) e un gruppo carbossilico (COOH). Il carbonio a cui sono legati i gruppi NH<sub>2</sub> e COOH viene detto  $\alpha$ -carbonio e l'amminoacido viene chiamato  $\alpha$ -amminoacido. Due amminoacidi possono reagire tra di loro attraverso la reazione di condensazione, che prevede un legame covalente, ovvero un legame ammidico tra il gruppo carbossilico del primo amminoacido con il gruppo amminico del secondo amminoacido. Questa reazione porta alla

liberazione di una molecola d'acqua e alla formazione della molecola  $\text{NH}_2\text{CHR}\text{COOH}$ . Agli estremi di questa nuova molecola possono legarsi altri amminoacidi che porta ad una estesa catena polipeptidica di collagene, dove il gruppo funzionale R determinerà le caratteristiche chimiche e fisiche della catena stessa.

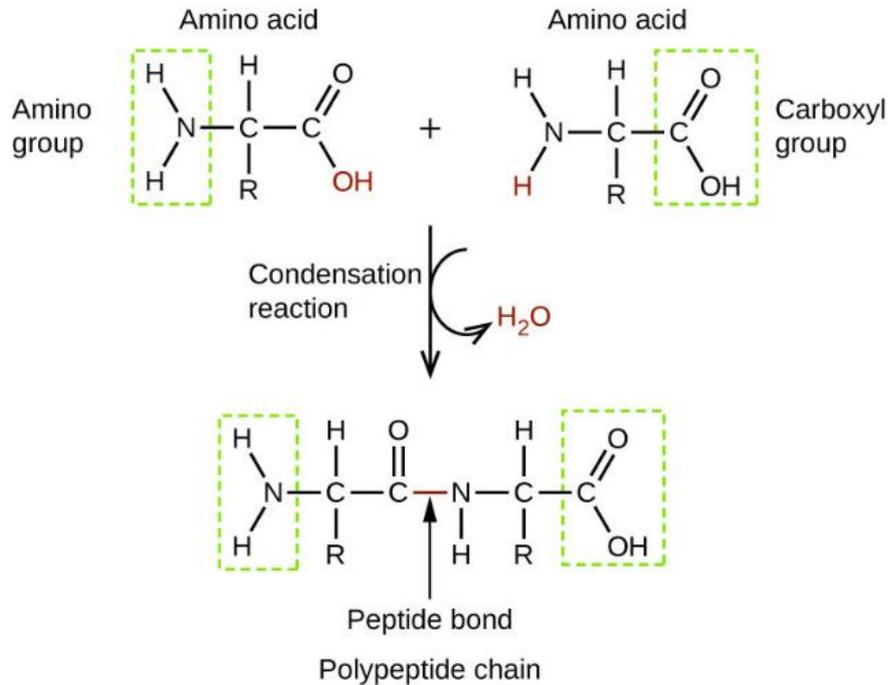


Figura 4: Reazione di condensazione tra il gruppo carbossilico del primo amminoacido e il gruppo amminico del secondo amminoacido che prevede la liberazione di una molecola d'acqua [12].

Tre singole catene polipeptidiche di collagene si avvolgono tra di loro in una tripla elica formando il procollagene, che poi maturando perde i propeptidi e diventa tropocollagene. I gruppi terminali del tropocollagene si legano frontalmente e lateralmente, dando luogo a una fibrilla di collagene. Quest'ultime si dispongono parallelamente tra di loro dando origine alle fibre. Infine le fibre si organizzano in lamelle.

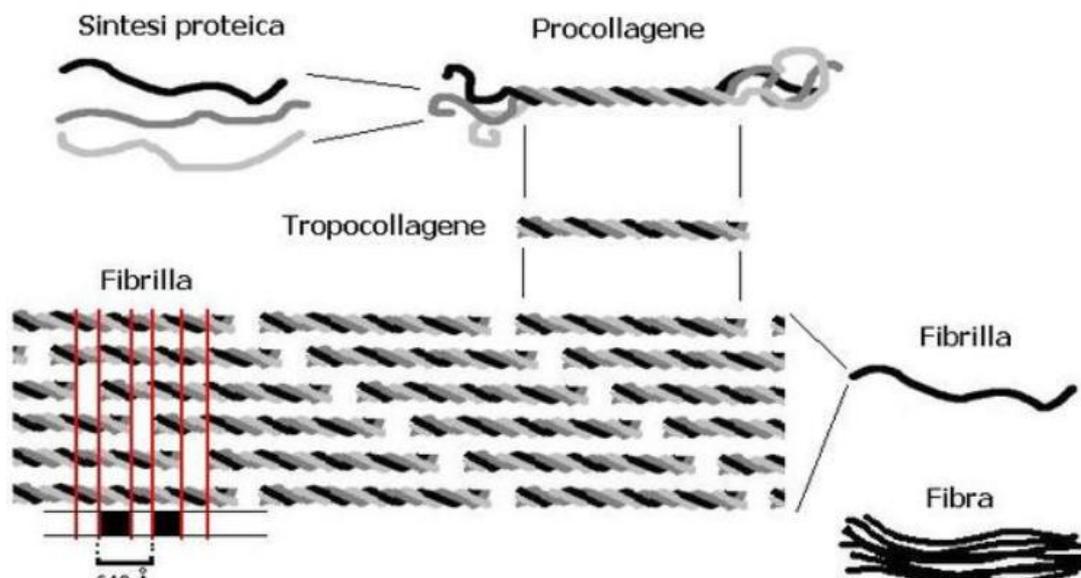


Figura 5: Biosintesi del collagene [13].

Il collagene I è la proteina più abbondante nella stroma, mentre il collagene V e XI sono presenti in minor quantità ed essi sono denominati “collageni regolatori”, poiché regolano l’assemblaggio delle fibre [11]. Dopo il collagene, la seconda classe principale di proteine extracellulari presenti sono i proteoglicani. La disposizione del collagene all’interno dello stroma è molto precisa ed è probabilmente controllata dalla complessa organizzazione dei proteoglicani, i quali interagiscono con il collagene di tipo I, VI e XII. La natura delle interazioni è apparentemente debole, ma studi sul rigonfiamento hanno dimostrato che la struttura creata è molto resistente, effettivamente entro certi limiti la cornea può gonfiarsi e successivamente ritornare alla sua idratazione di partenza senza modifiche nell’organizzazione del collagene [10].

### 1.3 Orientamento delle fibre di collagene

La trasparenza dello stroma corneale deriva dalle dimensioni uniformi delle fibrille di collagene e dalla loro disposizione ordinata all’interno delle lamelle stromali [14], mentre l’orientamento degli strati fibrillari adiacenti attraverso l’intera cornea risulta essere un fattore determinante per le proprietà meccaniche della cornea [15]. Il loro orientamento ha il potenziale effetto di influenzare la curvatura corneale, di fatto problemi come l’astigmatismo, che comporta una curvatura errata, possono essere correlati proprio all’orientamento delle fibrille. Quest’ultime nella regione posteriore hanno una direzione preferenziale [16], ovvero nella zona centrale sono disposte ortogonalmente tra di loro lungo le due direzioni principali: superiore-inferiore e nasale-temporale e circolarmente nell’area del limbus [9].

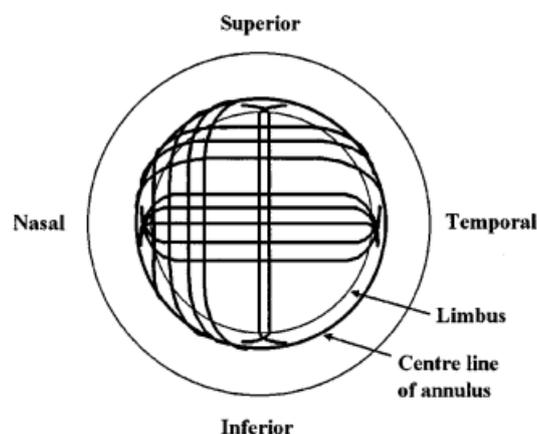


Figura 6: Vista dall'alto dell'orientamento delle fibrille corneali [16].

Queste direzioni preferenziali sono più pronunciate nello stroma posteriore che in quello anteriore [16], dove risultano invece ondulate e intrecciate.

La tensione esercitata dai muscoli retti nella direzione NT è sorretta dall’orientamento delle fibre di collagene, invece il movimento dello sbattere delle ciglia è dovuto all’orientazione nella direzione SI [9].

## 1.4 Geometria

La cornea è caratterizzata da una superficie anteriore convessa che divide l'epitelio dai fluidi lacrimali e una posteriore concava che separa l'endotelio dall'umor acqueo. La superficie anteriore è ellittica con asse orizzontale maggiore di quello verticale, invece quella posteriore è di forma più sferica. La cornea viene suddivisa in due aree come conseguenza della rapida variazione della curvatura in prossimità del limbus: sono presenti la zona ottica, ovvero la circonferenza centrale di raggio 3 mm e un anello periferico [17].



Figura 7: Visione frontale della zona ottica e della zona periferica [9].

La forma sferica nella zona ottica è dovuta dall'azione della pressione intraoculare sulla superficie superiore, mentre la forma ellittica nella zona periferica è causata dalla rigidità del limbus che obbliga tale regione ad impiegare una struttura differente da quella sferica. Per tale motivo la configurazione corneale è considerata conica [18].

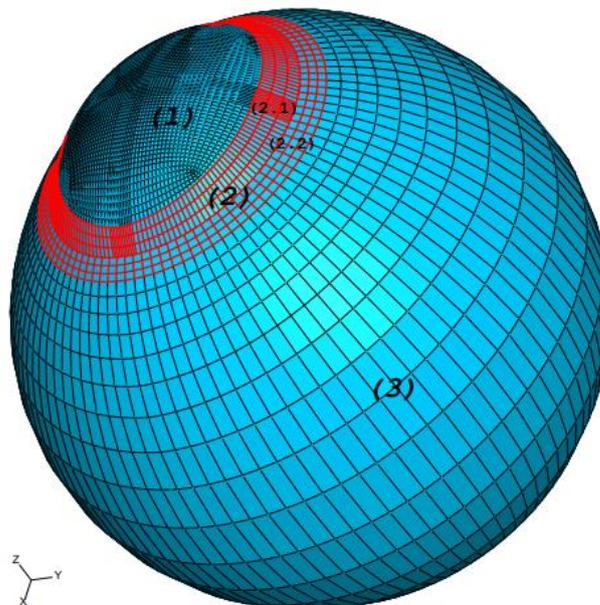


Figura 8: (1) Cornea; (2) limbus, (2.1) limbus corneale, (2.2) limbus della sclera, (3) sclera [19].

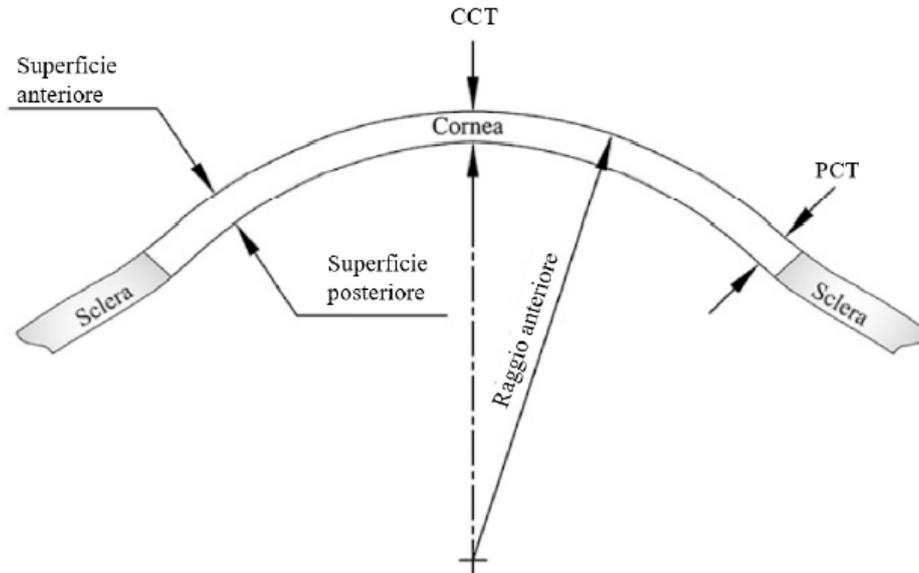


Figura 9: Curvatura corneale dovuto all'IOP e alla rigidità del limbus. CCT è lo spessore corneale centrale, PCT è lo spessore corneale periferico [18].

La forma delle superfici interne ed esterne della cornea non è facile da descrivere attraverso formule matematiche, perché bisogna considerare la rapida variazione di curvatura in prossimità del limbus. La zona ottica è responsabile della corretta focalizzazione dei raggi luminosi sulla retina e può essere rappresentata da un'equazione biconica in coordinate cilindriche:

$$z(\rho, \theta, R_x, R_y, Q_x, Q_y, a, z_o) = z_o - \frac{Q^2 A}{Q + \sqrt{1 - Q^2 B}} \quad (1)$$

Dove

$$A = \frac{\cos^2(\theta - a)}{R_x} + \frac{\sin^2(\theta - a)}{R_y} \quad (2)$$

$$B = (Q_x + 1) \frac{\cos^2(\theta - \alpha)}{R_x^2} + (Q_y + 1) \frac{\sin^2(\theta - \alpha)}{R_y^2} \quad (3)$$

All'interno dell'equazione troviamo i seguenti parametri:

- il raggio di curvatura apicale  $R$
- costante di asfericità  $Q$ , il quale indica il discostamento della curva dalla circonferenza descritta dal raggio apicale

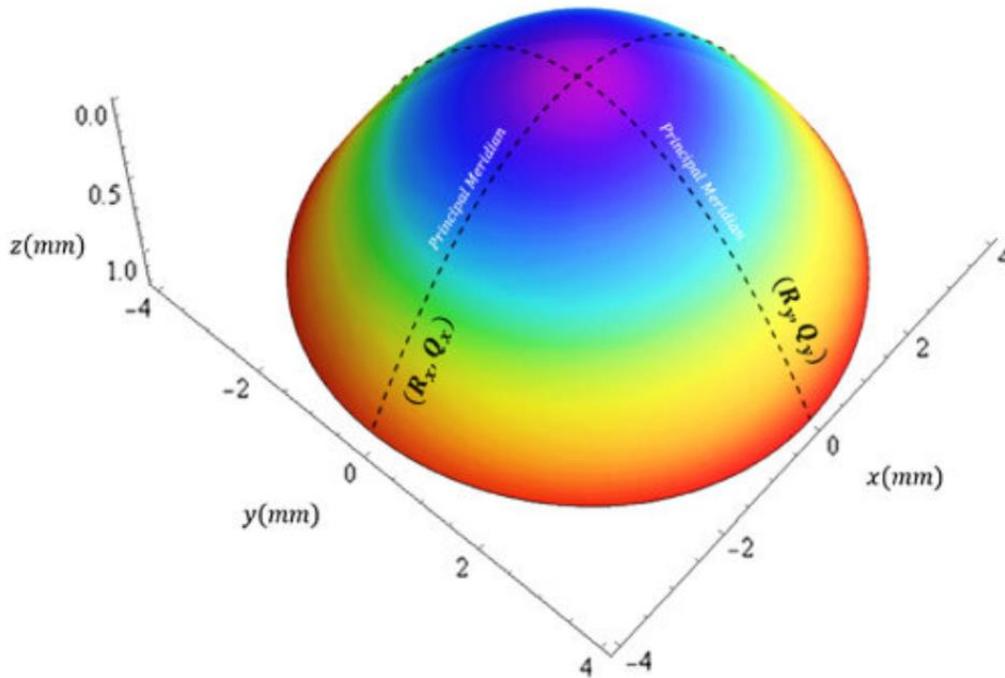


Figura 10: Illustrazione delle curvature massime e dei parametri di asfericit  lungo i meridiani principali [20].

Nell' equazione 1  $R_x$  e  $R_y$  sono le curvature massime dei meridiani principali,  $\alpha$    la direzione del meridiano principale pi  ripido,  $Q_x$  e  $Q_y$  sono i parametri di asfericit  lungo la direzione  $\alpha$  e  $\alpha + \pi/2$

Il valore massimo della funzione  $z$  si trova a  $\rho = 0$ , ovvero in corrispondenza dell'apice corneale.

Le cornee sane vengono assimilate a un ellissoide prolato, composto da una curvatura consistente al centro e pi  piatta in periferia, in questo caso il valore di  $Q$  varia tra -1 e 0 [21]. La deviazione di  $Q$  da questo valore comporta cornee patologiche.

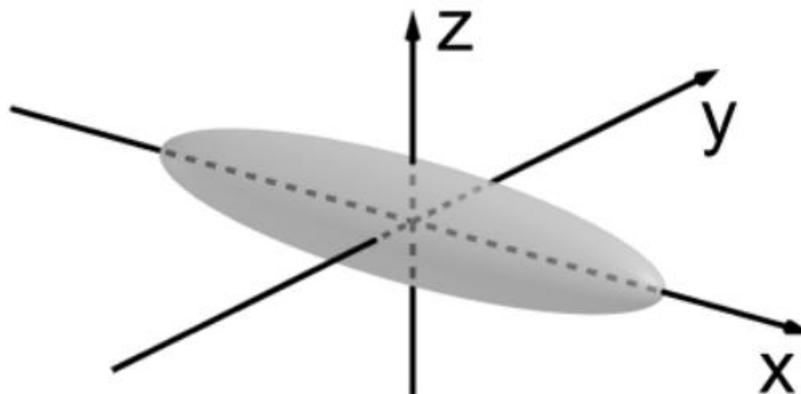


Figura 11: Ellissoide prolato [22].

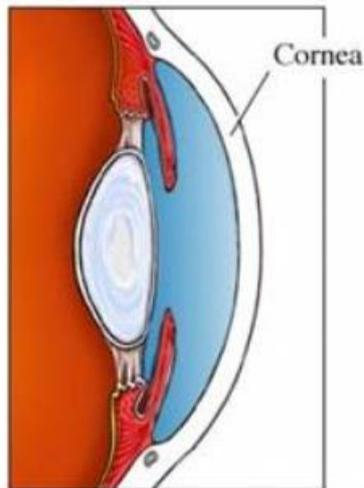


Figura 12: Forma ellissoidale prolata di una cornea sana [23].

## 1.5 Proprietà meccaniche della cornea

La precisa architettura e composizione dello stroma sia dal punto di vista microscopico che macroscopico influiscono sulle sue proprietà meccaniche, come sulla resistenza, sull'elasticità e sulla viscosità. Il collagene dona forza ed elasticità, mentre i componenti cellulari e i proteoglicani conferiscono proprietà viscoelastiche allo stroma ed all'intera cornea. Le adeguate proprietà meccaniche non solo assicurano sostegno, elasticità e protezione all'occhio, ma contribuiscono anche negli stimoli biomeccanici necessari per il mantenimento della corretta condizione fisiologica delle cellule stromali e cheratociti [6].

La cornea umana si comporta come tessuto molle. È una sostanza viscoelastica e la sua risposta ad una forza applicata dipende non solo dall'intensità della forza stessa ma anche dalla sua velocità di applicazione [24].

Fornita una sollecitazione esterna il materiale elastico risponde istantaneamente, per poi ritornare alla sua forma iniziale una volta cessato il carico applicato [25], a differenza dei materiali viscosi che non la riacquistano quando la sollecitazione viene rimossa [26]. Al contrario, un materiale viscoelastico ha un comportamento sia elastico che viscoso, ovvero una volta rimosso il carico torna alla sua conformazione iniziale dopo un certo intervallo di tempo [25].

Valutare la risposta di un tessuto vivente è complesso e riuscire a caratterizzare la cornea con un unico valore valido per tutti gli esseri umani è irrealistico. I materiali lineari elastici sono definiti attraverso un singolo modulo elastico, calcolato dalla pendenza della curva sforzo-deformazione e il comportamento di carico e quello di scarico seguono la stessa linea retta. Maggiore è il modulo elastico, maggiore è la pendenza della curva e più rigido sarà il materiale, e per deformare un materiale più rigido sarà necessaria una forza di intensità maggiore.

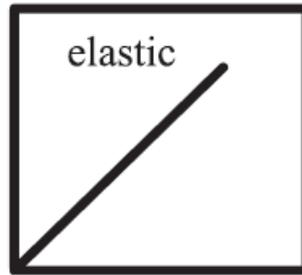


Figura 13: Curva sforzo-deformazione di un materiale elastico [25].

Nel caso di un materiale viscoelastico il comportamento durante la fase di carico differisce da quello di scarico, infatti è presente un'area d'isteresi, caratteristica tipica di questa tipologia di materiali, mentre la risposta ad una forza applicata è tempo-dipendente. Il modulo elastico misurato sperimentalmente non dipende solo dal modulo della forza applicata, ma anche dalla storia temporale della sua applicazione e questo porta a valori della risposta biomeccanica della cornea molto variabili. Una deformazione più veloce produce una risposta corneale più rigida, perciò le condizioni sperimentali influenzano i risultati ottenuti [27].

A causa della sua natura viscoelastica, durante una sollecitazione applicata viene dissipata energia, rappresentata proprio dall'isteresi, ossia l'area tra le due curve [26].



Figura 14: Curva sforzo-deformazione di un materiale viscoelastico [25].

La relazione tra *stress* e *strain* della cornea non è lineare sia durante la fase di carico sia durante la fase di scarico, presentando anche un modulo elastico non costante.

La cornea può essere modellizzata come una sezione di una parete esterna di un recipiente pressurizzato, a cui si applica la legge di Laplace, la quale afferma che la tensione alla parete è in funzione della pressione interna. Ciò implica che all'aumentare della pressione intraoculare (IOP), cioè la pressione generata dall'equilibrio tra la produzione e il drenaggio dei liquidi all'interno dell'occhio, aumenterà a sua volta la tensione alla parete. A causa delle proprietà non lineari della cornea in presenza di IOP elevata cornea e sclera saranno più rigide.

Una cornea morbida con IOP elevata assume un comportamento più rigido rispetto a una cornea più rigida con IOP inferiore. L'età è un'altra variabile da considerare, che influisce sulla relazione tra il modulo elastico e la IOP.

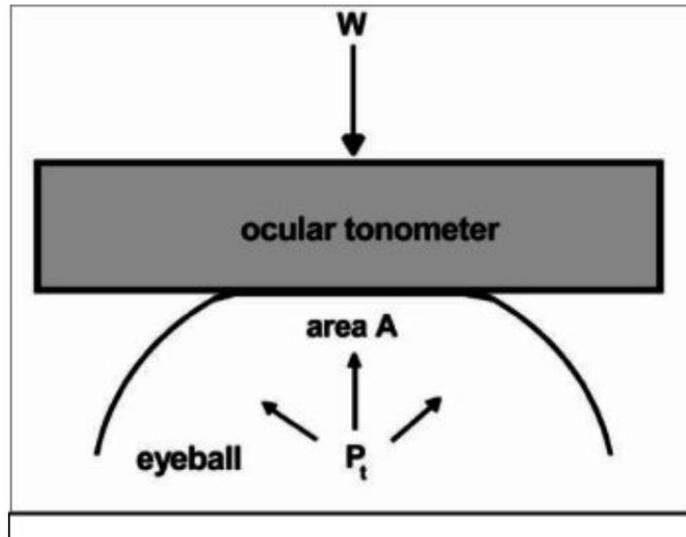


Figura 15: Rappresentazione schematica del principio di misurazione della IOP tramite relazione di Imbert-Fick [28].

Una relazione utile nel contesto della misurazione della IOP, e più in generale delle caratteristiche visco-elastiche della cornea, è il teorema di Imbert-Fick. Tale teorema mette in relazione la forza esercitata per appianare un corpo sferico ( $F$ ), l'area appianata ( $A$ ) e la pressione interna al corpo sferico ( $P$ ) tramite l'equazione:

$$F = PA \quad (4)$$

È pertanto possibile ricavare la pressione interna dell'occhio (IOP) tramite una procedura di appianazione (Figura 15). Attraverso il dispositivo di appianazione Dynamic Bidirectional Applanation si è potuto rilevare i parametri biomeccanici della cornea e constatare il suo comportamento viscoelastico. Il dispositivo insuffla un getto d'aria che deforma la cornea da convessa a concava e contemporaneamente la illumina tramite un emettitore ad infrarossi (IR). La deformazione prodotta dal getto d'aria altera il segnale IR, in particolare il raggio riflesso, che viene catturato da un rivelatore.

Inizialmente il getto d'aria è spento e la luce IR rilevata è di quantità ridotta.

## Time Course of Dynamic Bidirectional Applanation

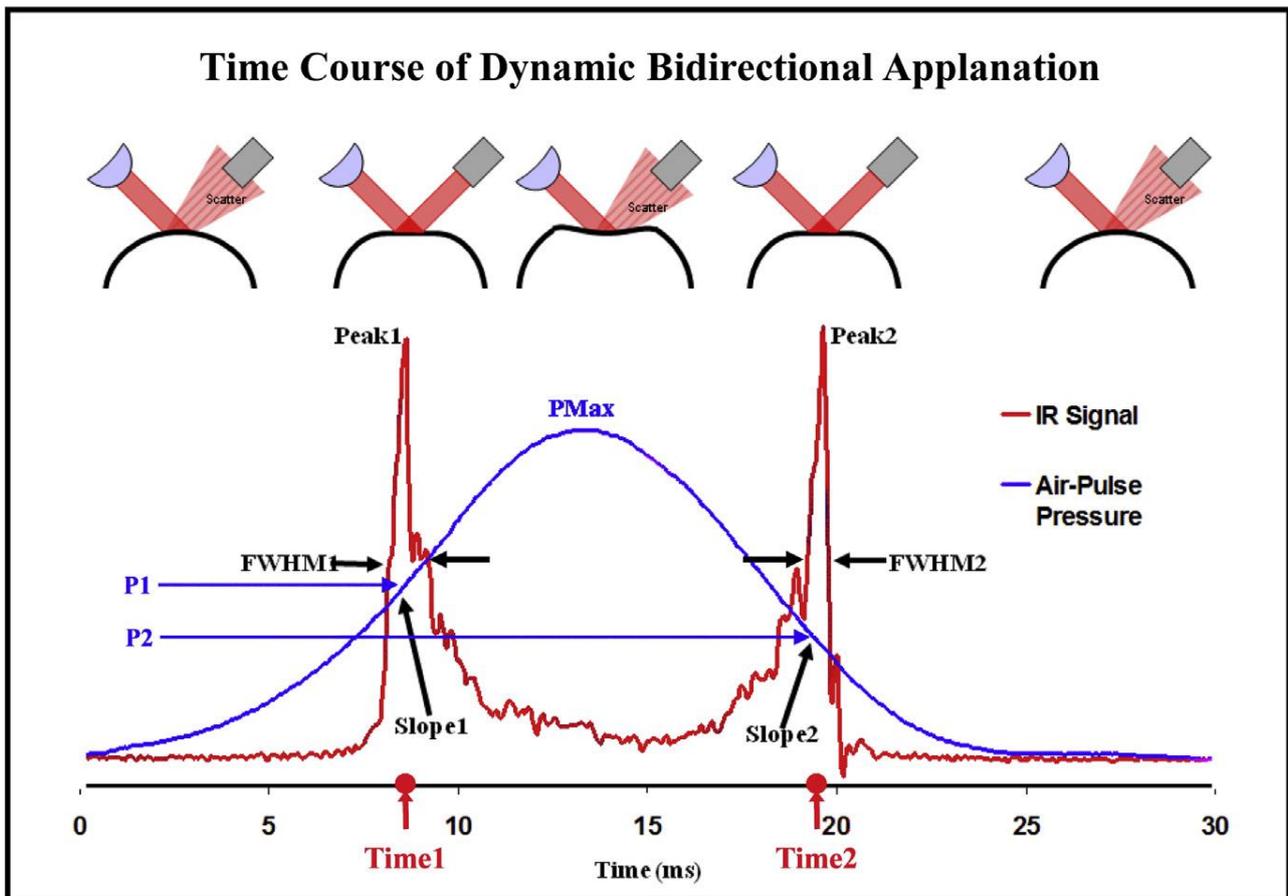


Figura 16: In alto è mostrato la deformazione della cornea attraverso il dispositivo Dynamic Bidirectional Applanation. In basso in blu il segnale sottoforma di pressione del getto d'aria e in rosso il segnale IR rilevato dal dectetor [27].

La curva blu rappresenta l'andamento della pressione d'aria, mentre il segnale in rosso è la luce detectata dal rivelatore. Durante l'insufflazione d'aria la cornea passa da convessa a piatta e rifletterà perfettamente il raggio IR incidente. Il segnale catturato sarà massimo, generando il picco PEAK1 all'istante time1. Successivamente il dispositivo sarà spento, ma la pressione dell'aria prodotta dal pistone, a causa della sua inerzia, continuerà ad aumentare, raggiungendo il suo massimo  $P_{max}$ , facendo sì che la cornea continui a deformarsi, fino ad assumere una forma concava in corrispondenza di  $P_{max}$ .

Nel momento in cui la pressione incomincia a ridursi, la cornea, rilassandosi, tenderà a recuperare la sua forma originale da concava a convessa e proprio all'istante time2 assumerà per la seconda volta la forma piatta in corrispondenza del secondo picco PEAK2.

Tuttavia il valore della pressione  $P_1$  non corrisponde al valore di  $P_2$ , questa differenza tra carico e scarico è derivato dalla viscoelasticità corneale, che reca una riduzione nella seconda pressione di appiattimento. Se la cornea fosse puramente elastica i due valori coinciderebbero.

I valori FWHM 1 e 2 delineano le ampiezze a metà picco dei due picchi PEAK1 e PEAK2 e descrivono la velocità con cui la cornea attraversa la fase di appiattimento in ciascuna direzione.

$P_1$  e  $P_2$  sono le pressioni misurate e la loro differenza è chiamata isteresi corneale CH, ovvero è la risposta viscoelastica della cornea ad una forza applicata definita da una specifica curva di pressione dell'aria.

$$CH = a[P_1 - P_2] \quad (5)$$

Dove:

- $a$  è una costante di calibrazione
- $P_1$  pressione di carico
- $P_2$  pressione di scarico

A bassa viscosità e a un modulo elastico alto è associato un CH piccolo, invece ad alta viscosità e a un modulo elastico alto corrisponde un CH alto. Quindi la relazione tra CH, viscosità e modulo elastico è complessa.

Cornee cheratoconiche, caratterizzate da modulo elastico e CH basso, vennero inizialmente testate con il Dynamic Bidirectional Applanation, pertanto come fornito dalla letteratura a un CH basso si correla una cornea danneggiata o debole o molle. Questo erroneamente perché un CH basso è misurato anche in una cornea rigida con IOP elevata.

La larghezza dei PEAK IR corrisponde alla velocità con cui la cornea arriva all'appiattimento, più essa è ampia più necessita di tempo per passare alla forma piatta e questo è legato alla sua rigidità, infatti più la cornea è rigida più il movimento sarà lento.

L'ampiezza del primo picco IR è associata alla grandezza dell'area di appiattimento, un'estesa area produce una maggiore ampiezza perché viene catturata più luce. È stato ipotizzato che ciò sia dovuto alla rigidità della cornea, poiché una cornea più morbida con un modulo elastico inferiore avrebbe una deformazione maggiore a parità di carico. Pertanto cornee più morbide producono deformazione profonde e strette mentre quelle più rigide realizzano deformazioni ampie e superficiali [27].

Sulla base dei parametri  $P_1$  e  $P_2$  estratti dal Dynamic Bidirectional Applanation è possibile calcolare anche la IOP<sub>CC</sub> (IOP compensata) secondo la seguente legge

$$IOP_{CC} = b[P_2 - 0.43P_1] + c \quad (6)$$

Dove:

- $c$  è la costante di regressione
- $P_1$  pressione di carico
- $P_2$  pressione di scarico [27]

La IOP<sub>CC</sub> è una misura teoricamente meno condizionata dalle proprietà corneali, come la CCT, ovvero spessore corneale centrale [29]. E' noto come la IOP sia influenzata dallo spessore corneale, tanto è che sarà sovrastimata in cornee spesse e sottostimata in quelle sottili. La relazione tra questi due parametri è molto complessa ed è di tipo non lineare, un aumento della CCT è seguito da un aumento della IOP. La Figura 17 esplica che la variazione della IOP dovuta alla CCT è legata a sua

volta all'elasticità corneale, infatti nelle cornee più rigide con modulo elastico più alto gli effetti della CCT sono più pronunciati rispetto a quelle più morbide con modulo elastico più basso [26].

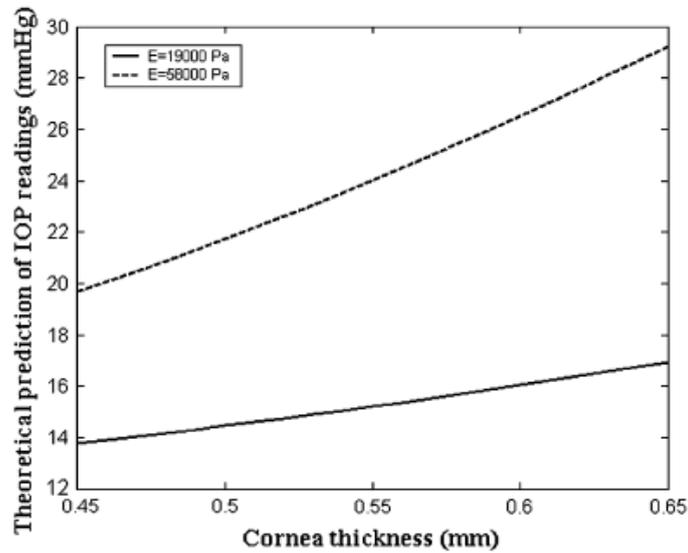


Figura 17: La relazione tra CCT-IOP dipende dalle proprietà meccaniche della cornea. A un modulo di Young più elevato corrisponde una pendenza più ripida, a uno più basso corrisponde una curva meno profonda [26].

È fondamentale notare la forte influenza della IOP sulla rigidità corneale, nella Figura 18 ciascuna curva rappresenta un diverso andamento ipotetico corneale. In rosso e giallo sono le cornee più morbide, invece quelle verdi e blu sono quelle più rigide. Una curva morbida con IOP elevata avrà una rigidità apparente maggiore rispetto a una cornea fondamentalmente più rigida ma con IOP inferiore, indicata dai due punti neri.

Le cornee più morbide a qualsiasi valore di IOP avranno una rigidità minore rispetto a quelle rigide [27].

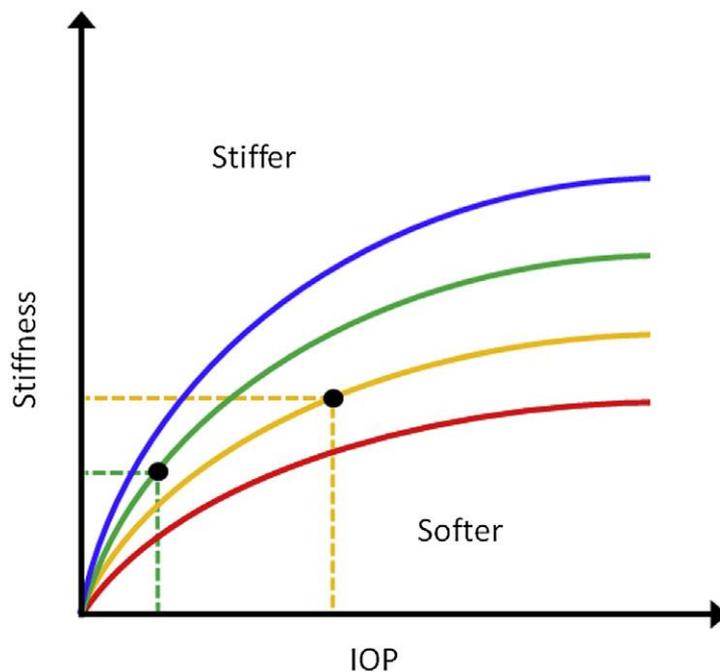


Figura 18: Diagramma della rigidità in funzione della IOP [27].

Un altro parametro calcolato attraverso il Dynamic Bidirectional Applanation è la resistenza corneale CRF, la quale è un'equazione lineare correlata alle proprietà elastiche della cornea [29], su cui non incide la IOP.

$$CRF = P_1 - kP_2 \quad (7)$$

Dove:

- $k$  è una costante determinata da un'analisi empirica della relazione tra  $P_1$  e  $P_2$  e CCT
- $P_1$  pressione di carico
- $P_2$  pressione di scarico [26]

Studi hanno riportato l'intervallo di normalità per il CH e CRF, i valori medi di CH sono compresi tra  $9.3 \pm 1.4$  mmHg SD e  $11.43 \pm 1.52$  mmHg, invece quelli per il CRF si trovano tra  $9.2 \pm 1.4$  mmHg e  $11.9 \pm 1.5$  mmHg.

L'età è un fattore che agisce sui parametri biomeccanici secondo Kamiya et al., in particolare CH e CRF diminuiscono con l'avanzare dell'età, mentre non si rileva cambiamenti significativi nella CCT e nella IOP. Elsheikh et al. hanno comparato il comportamento della cornea a una funzione di potenza esponenziale, notando che essa diventa considerevolmente più rigida con l'avanzare dell'età [29].

La cornea ha un comportamento anisotropo dovuto all'orientamento preferenziale delle fibrille, mostrando una stiffness e frattura a fatica maggiore nelle direzioni verticali e orizzontali rispetto all'altre direzioni. Ciò è verificato da Elsheikh et al. attraverso test su cornee suine, utilizzate grazie alla loro elevata disponibilità e somiglianza alla cornea umana, successivamente sono stati validati su cornee umane. Hanno conseguito i diagrammi sforzo-deformazione dei campioni suini nelle diverse direzioni: verticali, orizzontali e lungo la diagonale fino al loro punto di rottura con un carico uniassiale a diverse velocità di deformazione 500% al minuto e 1% al minuto (Figura 19). L'equazione che descrive l'andamento di queste curve è di tipo esponenziale.

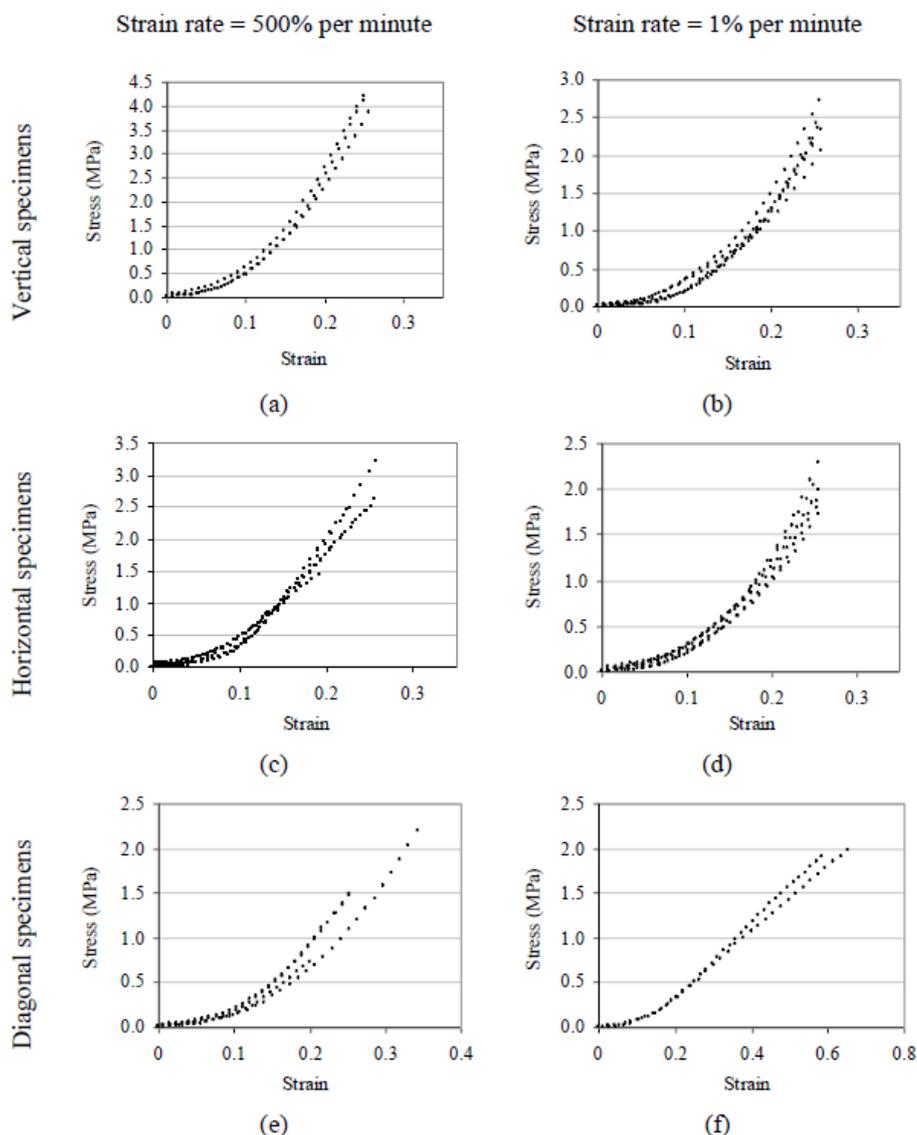


Figura 19: Stress-strain dei campioni suini, a e b campioni verticali, c e d campioni orizzontali, e e f campioni diagonali. a, c ed e testati con velocità di deformazione 500% al minuto, b, c e f testati con velocità di deformazione 1% al minuto [30].

Nella Figura 20 vengono invece confrontate i comportamenti stress-strain nelle diverse direzioni all'interno dello stesso grafico a velocità 500% al minuto (a) e a 1% al minuto (b). Hanno osservato che i campioni verticali hanno un comportamento più rigido quando testati con una deformazione elevata (500% al minuto) rispetto alle altre due direzioni. In presenza di una velocità di deformazione inferiore non esiste una differenza significativa tra la direzione verticale e orizzontale, invece la direzione diagonale mostra una rigidità significativamente minore.

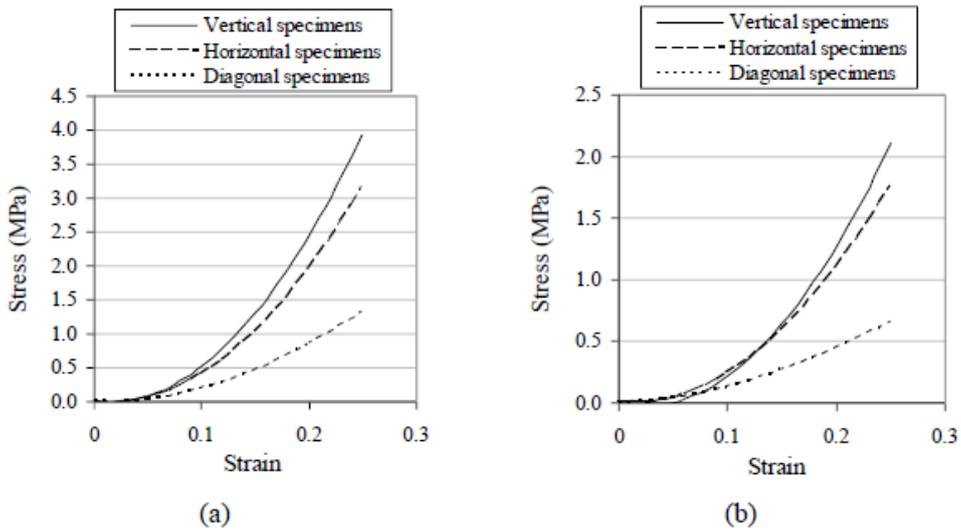


Figura 20: Comportamento della cornea suina nelle diverse direzione anatomiche, a campioni con velocità di deformazione del 500% al minuto, b campioni con velocità di deformazione dell'1% al minuto [30].

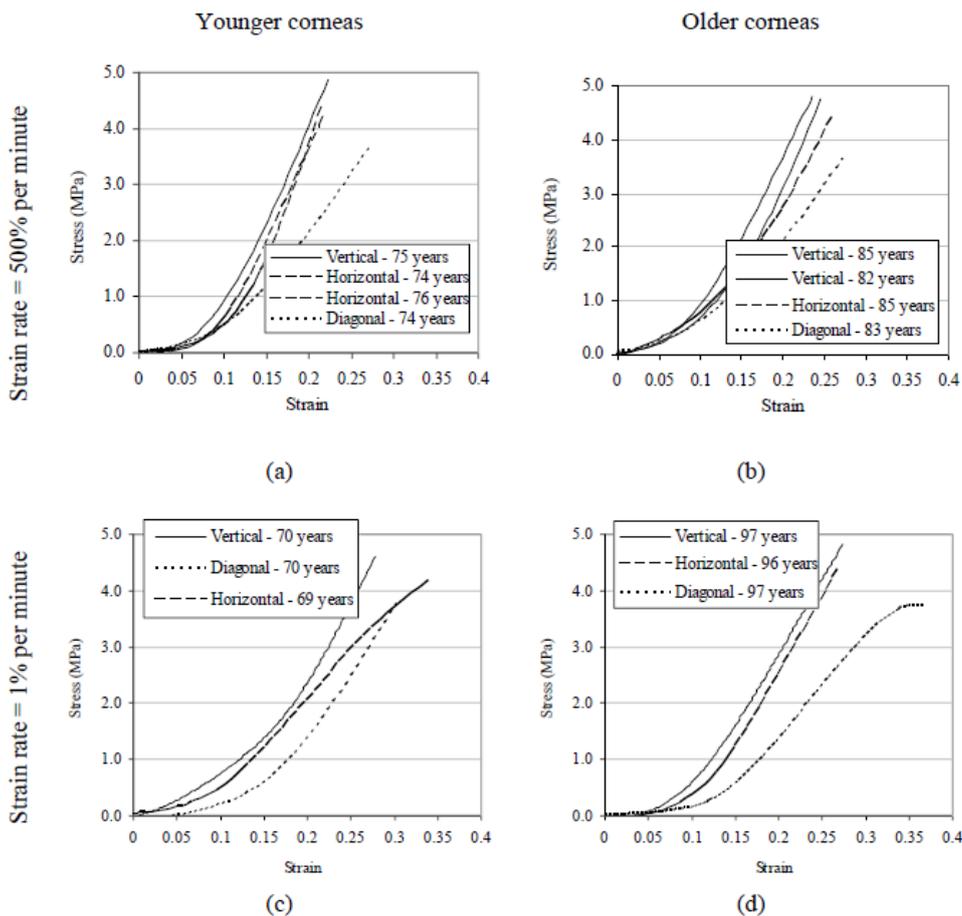


Figura 21: Stress-strain relative a cornee umane a diverse fasce di età nelle differenti direzioni, a e b si riferiscono a test con velocità di deformazione del 500% al minuto, c e d test con velocità di deformazione 1% al minuto [30].

Nella Figura 21 viene mostrato il comportamento della deformazione da sforzo di strisce corneali umane nelle diverse direzioni in età differenti. A velocità di deformazione inferiore i provini verticali e orizzontali hanno una rigidità maggiore rispetto a quelle diagonali e a sua volta le strisce verticali

si sono dimostrate più rigide e resistenti di quelle orizzontali. Stessa cosa è stata riscontrata anche con una velocità di deformazione più elevata. Pertanto questo studio ha validato l'anisotropia della cornea umana e suina, valutando sia la *stiffness* e la resistenza nelle diverse direzioni, mostrando la stessa tendenza tra cornea umana e suina con un comportamento più rigido e resistente nella direzione verticale rispetto alle altre due direzioni.

In tutti gli orientamenti anatomici si è osservato la non linearità caratterizzata da valori iniziali di rigidità bassi e finali alti [30].

I fattori tissutali che influenzano la biomeccanica corneale riguardano principalmente i costituenti della matrice extracellulare: glicosamminoglicani e proteoglicani. È infatti noto che alcune classi di proteoglicani (keratan solfati) regolano il diametro delle fibre collagene, mentre altre (dermatan solfati) ne determinano lo spazio interfibrillare e le proprietà di adesione tra le lamelle; i glicosamminoglicani interferiscono col collagene elettrostaticamente, pertanto ne influenzano i processi di crescita.

Ognuno degli stati corneali contribuisce in maniera più o meno importante a determinare la resistenza biomeccanica corneale, sebbene epitelio ed endotelio non agiscano direttamente sulla rigidità, tuttavia collaborano indirettamente sulla determinazione della resistenza della cornea, regolandole l'idratazione. Infatti il livello di idratazione non influenza solo la trasparenza ma anche il suo modulo elastico: maggiore è l'idratazione minore sarà il suo modulo elastico [31].

Il modulo di Young è una misura della rigidità della cornea, l'intervallo di variazione di questo parametro è compreso tra 0.01 e 10.00 Mpa. Secondo i test effettuati da Elsheikh et al esiste una relazione diretta tra il modulo di Young  $E$  e la pressione  $p$  rappresentata dalla seguente formula:

$$E = AP + B \quad (8)$$

Dove:

- $E$  è il modulo di Young
- $P$  è la pressione
- $A$  e  $B$  sono delle costanti

Dalla rappresentazione grafica  $E-p$  ottenuti dai test compiuti da Elsheikh et al si evince che il modulo di Young varia in base alla pressione, all'età dell'individuo e alla velocità con cui la pressione viene applicata.

In presenza di una bassa pressione il modulo di Young è piccolo e quindi la cornea si presenta meno rigida, con l'aumento della pressione il modulo di Young cresce e la cornea si presenta più rigida. Il modulo di Young dipende anche dall'età dell'individuo: infatti all'aumentare dell'età la cornea si presenta con rigidità maggiore. Infine  $E$  è legata in maniera non lineare, a causa delle sue proprietà viscoelastiche, alla velocità della pressione con cui il carico viene applicato.

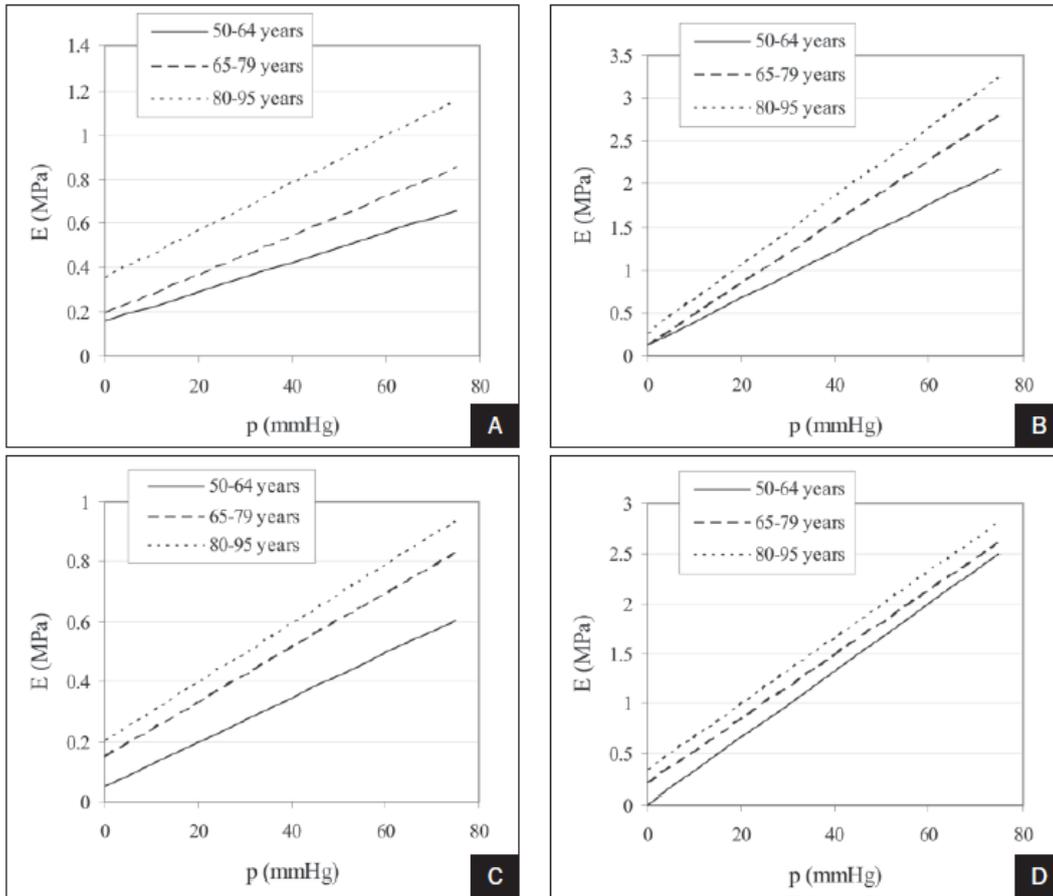


Figura 22: Diagrammi E-p in base alle diverse fasce di età di cornee umane, A-B applicazione rapida della velocità della pressione, 37,5 mmHg, C-D applicazione lenta della velocità della pressione, 37,5 mmHg [32].

È stata ricavata sperimentalmente la relazione quasi lineare tra la  $E$  e la IOP, in questo legame si nota un chiaro effetto di irrigidimento associato all'età, dovuto probabilmente all'accumulo in età avanzata dei prodotti finali della glicazione non enzimatica che provoca l'aumento della reticolazione delle fibrille stromali [32].

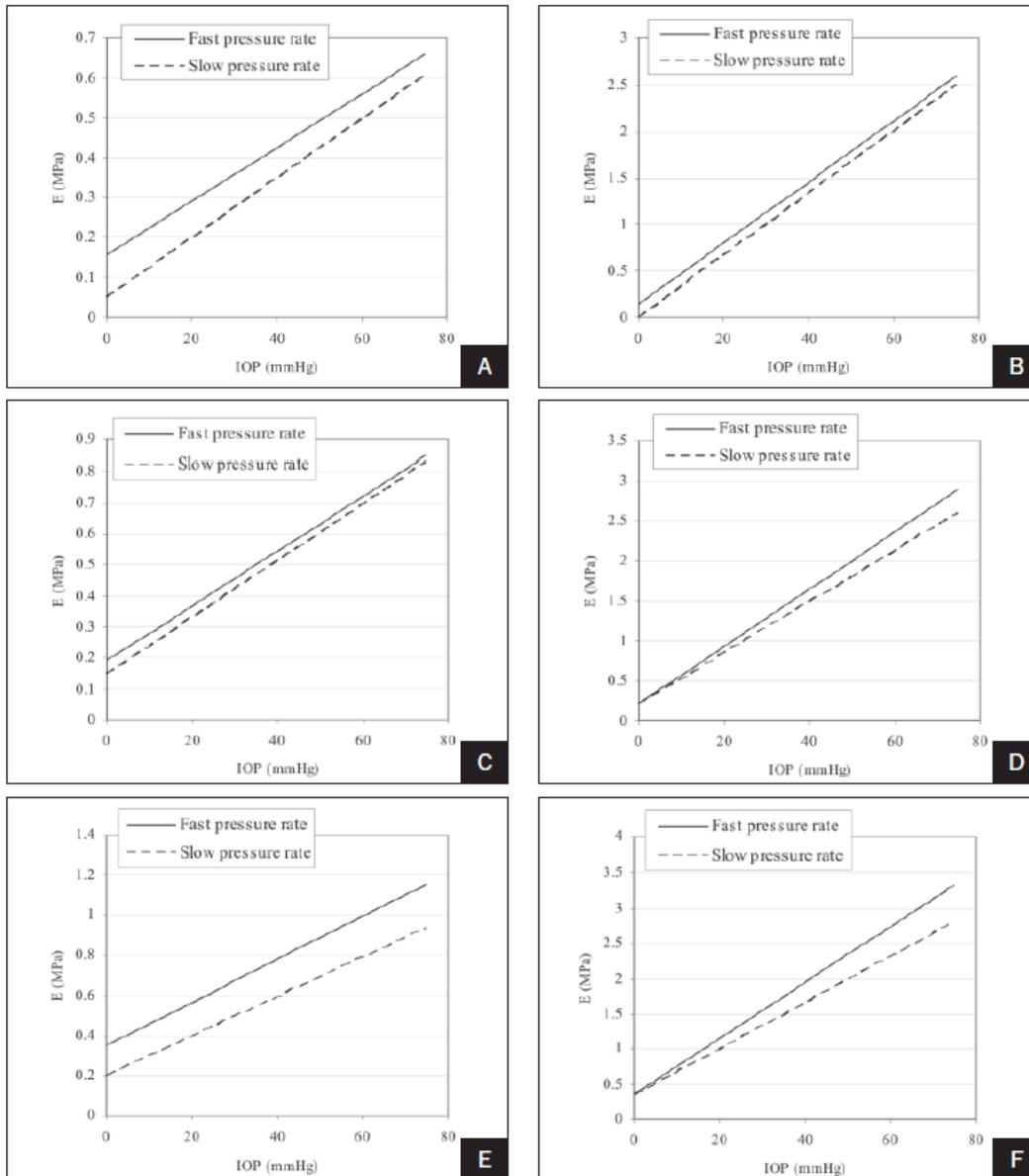


Figura 23: Diagrammi E-IOP in base alle diverse fasce di età di cornee umane, A-B fascia di età dai 50 ai 64 anni, C-D fascia di età dai 65 ai 79 anni, E-F fascia di età dai 80 ai 95 anni [32].

# CAPITOLO 2: Introduzione sulle problematiche del cheratocono

## 2.1 Potere diottrico e i principali difetti visivi

La cornea è un tessuto funzionale rilevante dell'occhio perché riflette e trasmette la luce al cristallino e alla retina [3]. Una sua lesione o l'insorgenza di una patologia hanno serie conseguenze visive e per questo motivo la struttura e la funzione devono ricevere numerose attenzioni [33].

I raggi luminosi per raggiungere la superficie retinica devono attraversare l'aria, il film lacrimale, la cornea, l'umor acqueo, il cristallino, e l'umor vitreo.

La cornea e il cristallino sono i mezzi diottrici, che consentono di ricevere la luce e la proiettano sulla fovea centrale, a differenza del cristallino la cornea non ha capacità di adattamento, i raggi luminosi vengono indirizzati verso la retina in maniera fissa, invece il cristallino si adatta a seconda delle immagini da proiettare grazie a delle fibre della tonaca fibrosa. Il potere diottrico maggiore è quello della cornea, con potere diottrico si intende la capacità di far convergere i fasci luminosi in un punto detto fuoco. La cornea è una lente concava-convessa che rientra nella categoria menisco-convergente.

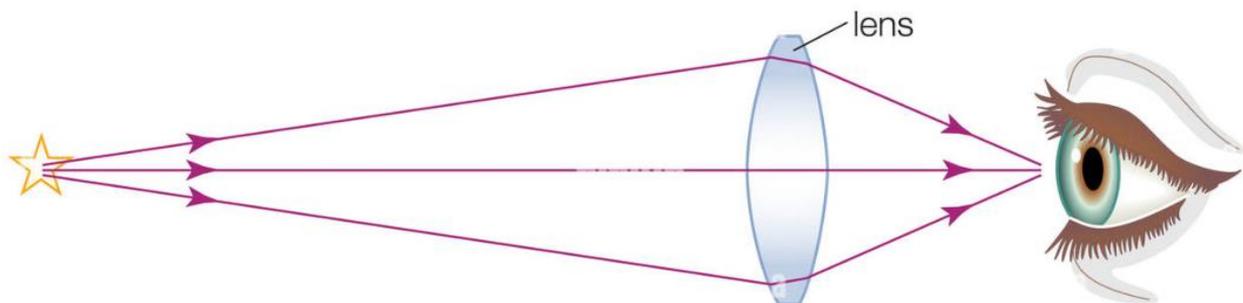


Figura 24: La cornea è la prima lente naturale che ha il compito di far convergere i raggi luminosi sulla retina [34].

Il potere diottrico della cornea è dato dalla somma algebrica dei poteri rifrattivi della superfici esterna e interna di quest'ultima ed è formulato attraverso la seguente equazione:

$$D = D_1 + D_2 \quad (9)$$

$D_1$  è il potere diottrico convergente della superficie anteriore composta dall'aria e cornea:

$$D_1 = \frac{n_c - n_a}{R_{ext}} = 48.83 \text{ D} \quad (10)$$

$D_2$  è il potere diottrico divergente della superficie posteriore composta dall'umor acqueo e cornea:

$$D_2 = \frac{n_{ah} - n_c}{R_{int}} = -5.88 \text{ D} \quad (11)$$

Dove

- $n_a$  è l'indice di rifrazione dell'aria,  $n_a = 1$
- $n_c$  è l'indice di rifrazione della cornea,  $n_c = 1.376$
- $n_{ah}$  è l'indice di rifrazione dell'umor acqueo,  $n_{ah} = 1.336$
- $R_{ext}$  è il raggio di curvatura della superficie esterna della cornea, ovvero della cornea anteriore ( $R_{ext} = 7.7 \text{ mm}$ )
- $R_{int}$  è il raggio di curvatura della superficie interna della cornea, ovvero della cornea posteriore ( $R_{int} = 6.8 \text{ mm}$ )

$$D = D_1 + D_2 = 48.83 - 5.88 = 42.95 \text{ D} \quad (12)$$

Se nel calcolo si considera anche lo spessore corneale il potere diottrico di una cornea umana sana assume il valore di circa  $43.05 \text{ m}^{-1}$  diottrie [9], [18].

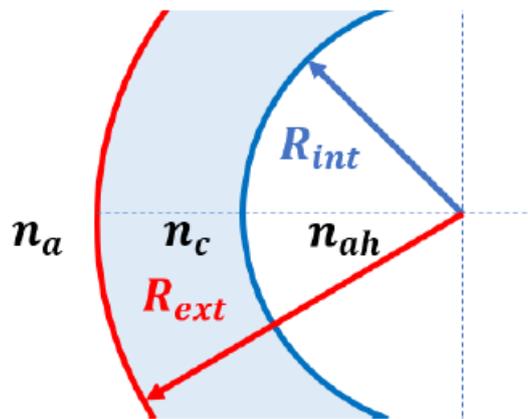


Figura 25: Visualizzazione grafica dei parametri estratti per il calcolo del potere di rifrazione [9].

In condizioni non patologiche, i raggi luminosi paralleli dell'occhio emmetrope, provenienti da una sorgente posta all'infinito, convergono su un fuoco situato sulla retina. Ciò si verifica quando la distanza focale ovvero la lunghezza del globo oculare e la curvatura della cornea sono in una corretta relazione tale che la luce converga sul punto focale posizionato sulla fovea.

L'ametropia, invece sono le condizioni patologiche in cui sono presenti difetti rifrattivi come nell'ipermetropia, miopia e astigmatismo.

Nel primo caso il potere diottrico è inferiore a quello desiderato e il punto focale è situato all'esterno dell'occhio, dovuto ad una cornea troppo piatta o un globo oculare corto.

Nella miopia il potere diottrico è superiore a quello necessario e il fuoco cade nell'umor acqueo, questo accade quando la cornea assume una forma allungata oppure quando il bulbo oculare ha una dimensione troppo estesa.

L'astigmatismo è legato all'irregolarità geometrica della cornea che si discosta dalla tipica curvatura sferica, presentandosi ovoidale, ciò è causato dal fatto che i meridiani hanno un differente potere diottrico producendo la messa a fuoco in due fuochi sulla fovea.



Figura 26: Occhio emmetrope, miope e ipermetrope [35]

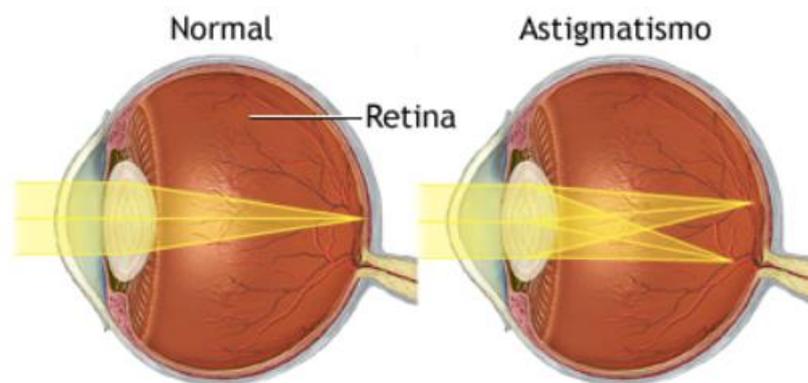


Figura 27: Occhio emmetrope e astigmatico [36].

## 2.2 Problematiche del Cheratocono

Il cheratocono è l'ectasia primaria più comune, è una malattia oculare non infiammatoria, bilaterale ed asimmetrica, che provoca un progressivo assottigliamento ed incurvatura della cornea, che porta ad un astigmatismo irregolare ed a una diminuzione dell'acuità visiva.

L'assottigliamento si verifica principalmente nella parte centrale o paracentrale della cornea, determinando il cambiamento della sua tipica forma da sferica a cono.

Un occhio è generalmente colpito più gravemente dell'altro, sebbene sia una condizione bilaterale e quindi con il tempo entrambi gli occhi saranno danneggiati.

Il cheratocono si manifesta in entrambi i sessi e in tutte le etnie, esordisce nella pubertà e progredisce in maniera variabile fino alla terza o quarta decade di vita, quando la forma corneale si stabilizza.



Figura 28: Occhio con cheratocono, in cui viene mostrata la forma a cono assunta dalla cornea [37].

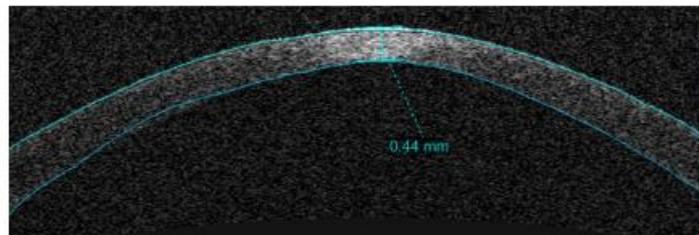


Figura 29: Assottigliamento centrale della cornea patologica estratta attraverso la tomografia a coerenza ottica [37].

È stato riscontrato che un parente di un paziente con cheratocono ha un rischio da 15 a 67 volte maggiore di sviluppare la malattia rispetto a un individuo senza storia familiare di cheratocono.

Per molto tempo si è ritenuto che il cheratocono si sviluppasse a causa di fattori genetici, data la sua associazione con altre sindromi genetiche come la sindrome di Down, l'amaurosi congenita di Leber, la sindrome di Ehler-Danlos e la sindrome di Noonan.

Infatti Heon et al hanno identificato quattro mutazioni del gene VSX1 in diversi pazienti, tuttavia si pensa che il cheratocono sia un disturbo multifattoriale e multigenetico con modelli di eredità complessi e che anche i fattori ambientali, come lo strofinamento oculare o l'uso di lenti a contatto, svolgono un ruolo decisivo nello sviluppo della malattia.

Alcuni studi hanno dimostrato non solo un collegamento tra il cheratocono avanzato e il prolasso della valvola mitralica ma anche una connessione tra cheratocono e l'osteogenesi imperfetta.

Quest'ultima è una malattia genetica congenita, causata da una mutazione dei geni COL1A1 e COL1A2, i quali controllano la normale produzione di collagene di tipo 1, presente in grande quantità nello stroma, fonte ancora di studio tutt'oggi.

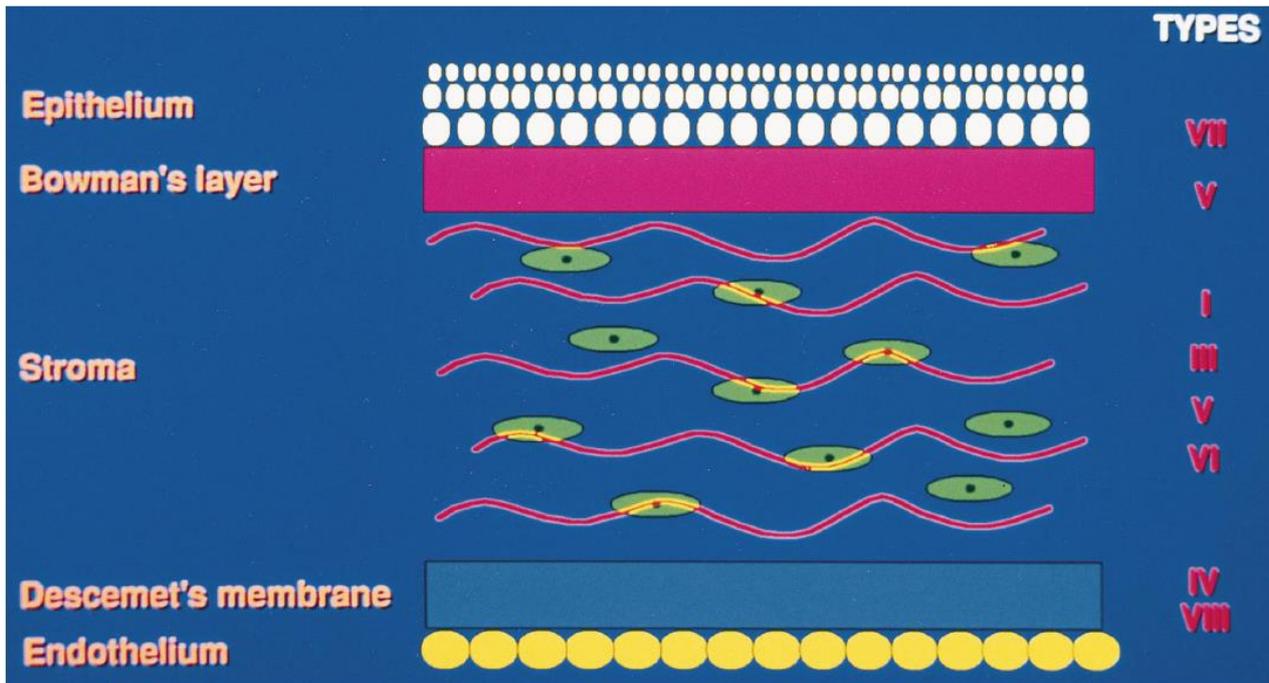


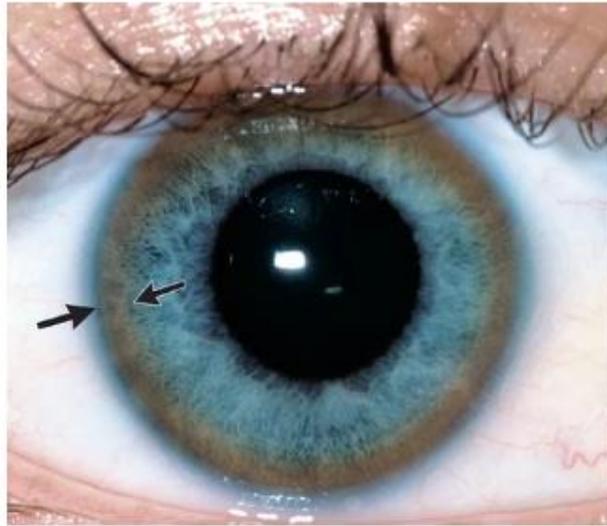
Figura 30: Distribuzione dei tipi di collagene negli strati corneali [38].

Il cheratocono si sviluppa anche in concomitanza a molteplici malattie immuno-mediate come tiroide di Hashimoto, condizioni infiammatorie della pelle, rash allergico.

I sintomi della patologia spesso sono silenti e quindi possono rimanere inosservati per tanto tempo e variano a seconda della gravità, individuare i primi stadi del cheratocono rimane una sfida, sebbene sia particolarmente importante in quanto può portare a una migliore gestione e a una prognosi a lungo termine. Si manifestano con offuscamento o distorsione della vista, che non può essere compensata attraverso l'uso degli occhiali, con un lieve irrigidimento corneale localizzato, con una differenza tra curvatura corneale inferiore e superiore.

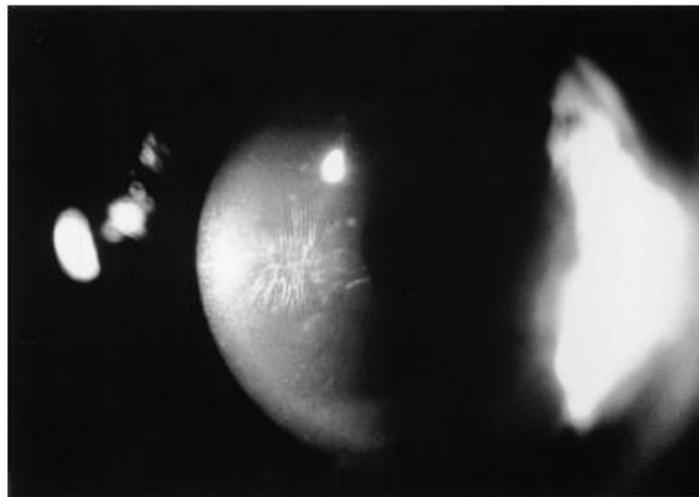
La retinoscopia evidenzia alcune caratteristiche cliniche dei soggetti con cheratocono come il riflesso a forbice e il riflesso della goccia d'olio (segno di Charleux).

Nei casi più avanzanti si rileva l'anello di Fleischer, che è un accumulo di depositi di ossidi di ferro dal film lacrimale sulla cornea, a seguito del cambiamento di curvatura e/o a causa della modifica del normale processo di scorrimento epiteliale. Si manifesta come pigmentazione da giallo-marrone al verde oliva intorno alla base del cono.



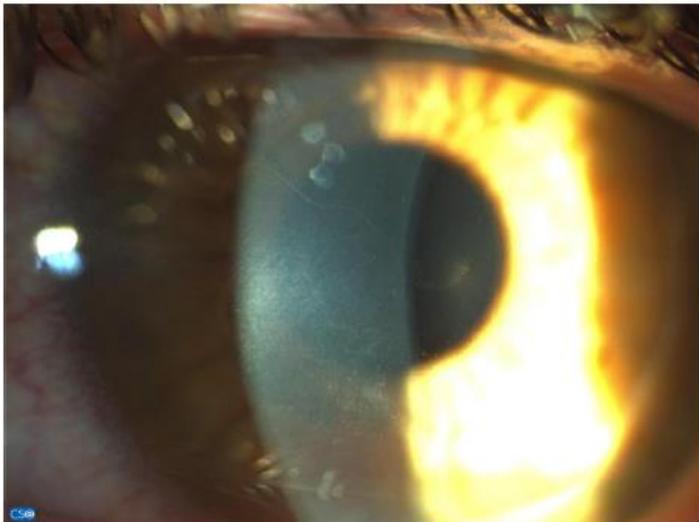
*Figura 31: Anello di Fleischer [39].*

Le strie di Vogt sono sottili linee di stress verticali visibili nello stroma posteriore causate dalla rottura della membrana di Bowman, tendono a scomparire applicando digitalmente una pressione fisica sulla cornea.



*Figura 32: Strie di Vogt in un paziente con cheratocono localizzate a livello della membrana di Descemet rilevate attraverso la lampada a fessura [38].*

Sebbene queste caratteristiche possano manifestarsi in qualsiasi momento dello sviluppo e della progressione della patologia, la probabilità che siano presenti le Strie di Vogt, l'anello di Fleischer e/o le cicatrici corneali è tanto maggiore quanto più è avanzata la malattia. In pazienti giovani è comune possibile osservare cicatrici epiteliali o sub-epiteliali, inoltre sono segni ricorrenti, in tutti gli individui con cheratocono, anche l'aumentata visibilità dei nervi e l'opacizzazione a diversi strati corneali.



*Figura 33: Aumentata visibilità dei nervi corneali in un cheratocono [40] Figura 34: Opacità stromale causata da un idrope acuta [38].*

Nei casi più gravi di coni molto pronunciati può crearsi una deformazione a forma di V della palpebra inferiore quando lo sguardo è rivolto verso il basso, noto come segno di Munson.



*Figura 35: Segno di Munson [41].*

Il segno di Rizzuti invece è un riflesso luminoso prodotto dall'area del limbo quando esso è colpito da una luce.

Il cheratocono può portare alla rottura della membrana di Descemet, che consente all'umor acqueo di entrare nello stroma e nell'epitelio, inducendo un edema acuto noto come idrope acuta, la quale può provocare un tessuto cicatriziale che compromette la visione.

Dal punto di vista istopatologico i tre fenomeni che caratterizzano il cheratocono sono: l'assottigliamento dello stroma corneale, la rottura dello strato di Bowman (lamina anteriore) e la deposizione di ferro nello strato basale, mentre la lamina posteriore ovvero la membrana di Descemet sembra essere colpita solo nei casi gravi.

L'epitelio può mostrare una degenerazione delle cellule basali, mostrando un ingrandimento, una disposizione irregolare e una diminuzione della densità cellulare rispetto alle cornee normali, collegata alla gravità della malattia. Si può verificare la rottura dell'epitelio, accompagnata da una crescita verso il basso delle cellule basali nello strato di Bowman e da accumuli di particelle di ferritina tra le cellule basali epiteliali. I depositi superficiali di ferro e le cicatrici sono cambiamenti che colpiscono un occhio su cinque con cheratocono.

Gli occhi patologici a differenza di quelli non patologici presentano una ridotta innervazione corneale, una ridotta sensibilità e una ridotta densità epiteliale basale. All'apice del cono è stata notata una tortuosa rete di fasci di fibre nervose, i quali formano degli anelli chiusi, mentre alla base sono concentrici e seguono il contorno del cono.

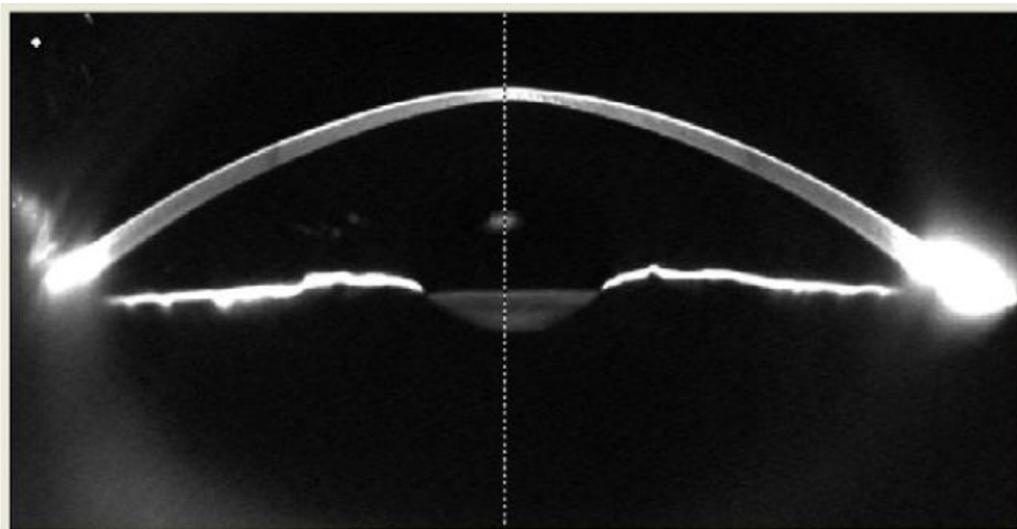
Anche l'architettura ben organizzata dello stroma, responsabile della trasparenza della cornea, è compromessa, si è osservato una riduzione del numero delle lamelle e una loro espansione nelle regioni associate allo sviluppo del cono.

Si verifica un grosso riarrangiamento delle lamelle di collagene verticali e orizzontali.

La membrana di Descemet è raramente colpita, tranne che per le rotture osservate nell'idrope acuta.

Nell'endotelio sono state riscontrate alcune anomalie tra cui "strutture oscure" intracellulari e allungamenti delle cellule lungo il loro asse verso il cono.

L'assottigliamento sembra derivare dalla perdita dei componenti strutturali della cornea, ma il motivo per cui avviene ciò non è chiaro. Può essere il risultato della presenza di meno lamelle di collagene, di una minore quantità di fibrille di collagene per ogni lamella, di un impaccamento più stretto delle fibrille o anche la combinazione di più fattori insieme. Queste condizioni sono causate da una formazione difettosa dei costituenti extracellulari, una ridistribuzione dei componenti, una maggiore distensibilità del tessuto con fibre o lamelle di collagene scorrevoli o anche una combinazione di più meccanismi.



*Figura 36: Assottigliamento della cornea centrale nel caso di cheratocono grave estratta attraverso pachimetria [40].*

L'eccessiva degradazione dello stroma può essere il risultato dell'attività degli enzimi proteolitici, attivati dall'aumento del livello di proteasi e altri enzimi catabolici o livelli ridotti degli inibitori della proteasi. La perdita dei cheratociti stromali può essere collegata all'eccesso di morte cellulare apoptotica, dovuta al fatto che esprimono recettori dell'interleuchina-1 di un numero quattro volte maggiore rispetto ai soggetti privi di cheratocono. L'interleuchina-1 è una citochina che induce la proliferazione, la differenziazione e la morte dei cheratociti ed è stato dimostrato in vitro che l'interleuchina-1 conduce a morte i cheratociti e questo porta a una perdita di massa stromale nel tempo.

Il danno ossidativo è stato descritto come un cofattore nella progressione del cheratocono, le cornee patologiche presentano livelli ridotti di aldeide deidrogenasi di classe 3 ed enzimi superossidi dismutasi. Entrambi gli enzimi svolgono un ruolo importante nei processi reattivi dell'ossigeno e l'accumulo reattivo di ossigeno provoca la deposizione citotossica di malondialdeide e perossinitriti che potrebbero danneggiare i tessuti corneali. I principali fattori legati all'aumento del danno ossidativo sono le radiazioni ultraviolette, atopia e traumi meccanici, ovvero a seguito dello sfregamento cronico degli occhi o l'uso delle lenti a contatto [37], [38], [40], [42].

## 2.3 Classificazione del cheratocono

Il cheratocono può essere classificato in base alla morfologia, alla sua evoluzione, ai sintomi e ai segni oculari come le cicatrici, le strie di Vogt e l'anello di Fleischer, in alcuni casi vengono prese anche in considerazione l'acuità visiva e l'astigmatismo. Il decorso temporale dello sviluppo dei segni e dei sintomi e la loro associazione con la gravità della malattia sono molto variabili, rendendo difficile la classificazione della gravità della patologia.

Tuttavia non esiste un sistema di classificazione clinicamente adeguato.

I cambiamenti legati allo sviluppo del cheratocono non si limitano alle alterazioni anatomiche e morfologiche della cornea, ma la malattia è associata anche ad una significativa diminuzione della qualità ottica derivante da un aumento delle aberrazioni oculari, e a una perdita di trasparenza che può influire sulla qualità della vita [40], [42].

### Classificazione morfologica (Buxton):

Questo sistema classifica la malattia in base alla forma e alla posizione del cono, le divide in rotondo, ovale e globale.

STADIO	TIPO	DIAMETRO	DESCRIZIONE
I	Rotondo	5 mm	Cono piccolo circolare situato nella cornea centrale o paracentrale
II	Ovale	>5 mm	Cono ovale decentrato
III	Globale	>6 mm	Il cono copre oltre il 75% della cornea

*Tabella 1: Classificazione in base alla morfologia.*

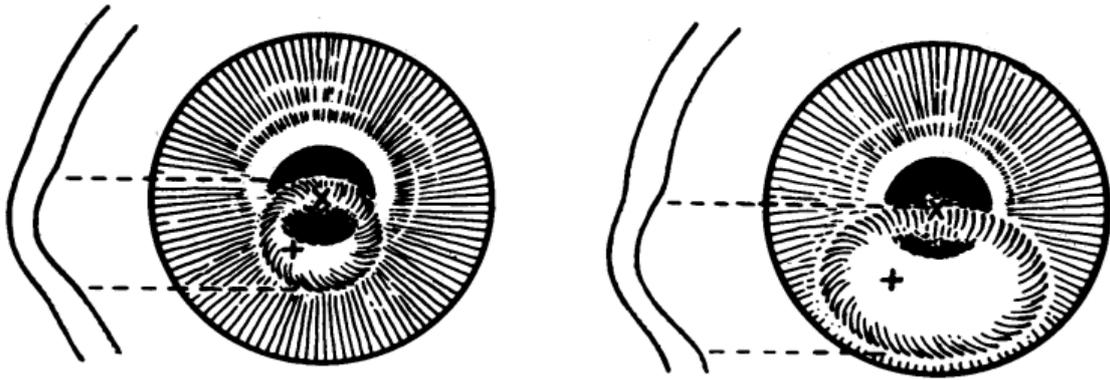


Figura 37: Disegno schematico che illustra il tipo di cono rotondo a sinistra e ovale a destra [43].

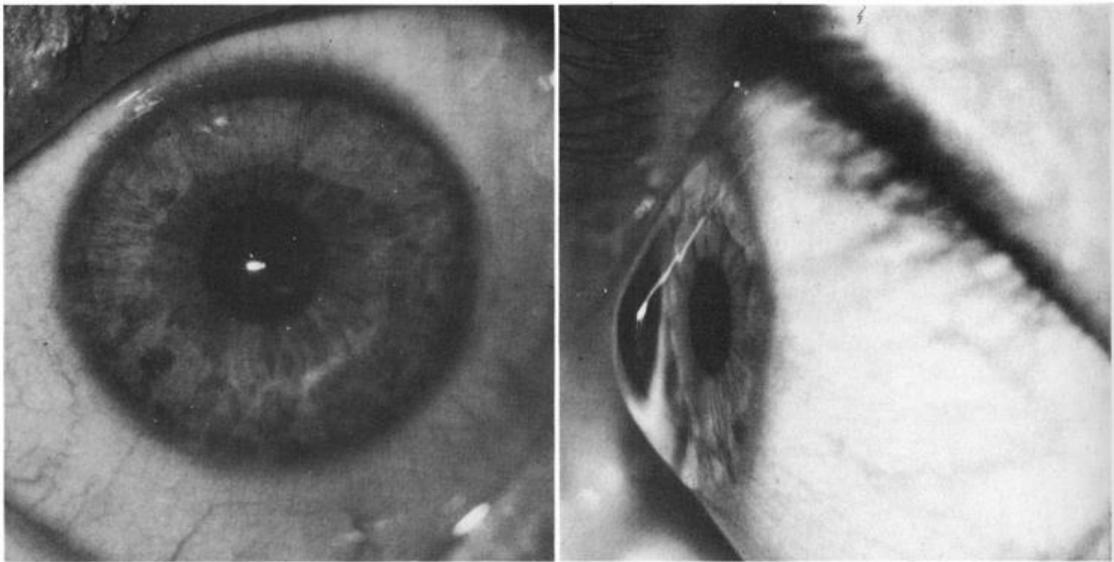


Figura 38: A sinistra vista frontale del cono rotondo e a destra vista laterale dello stesso paziente [43].

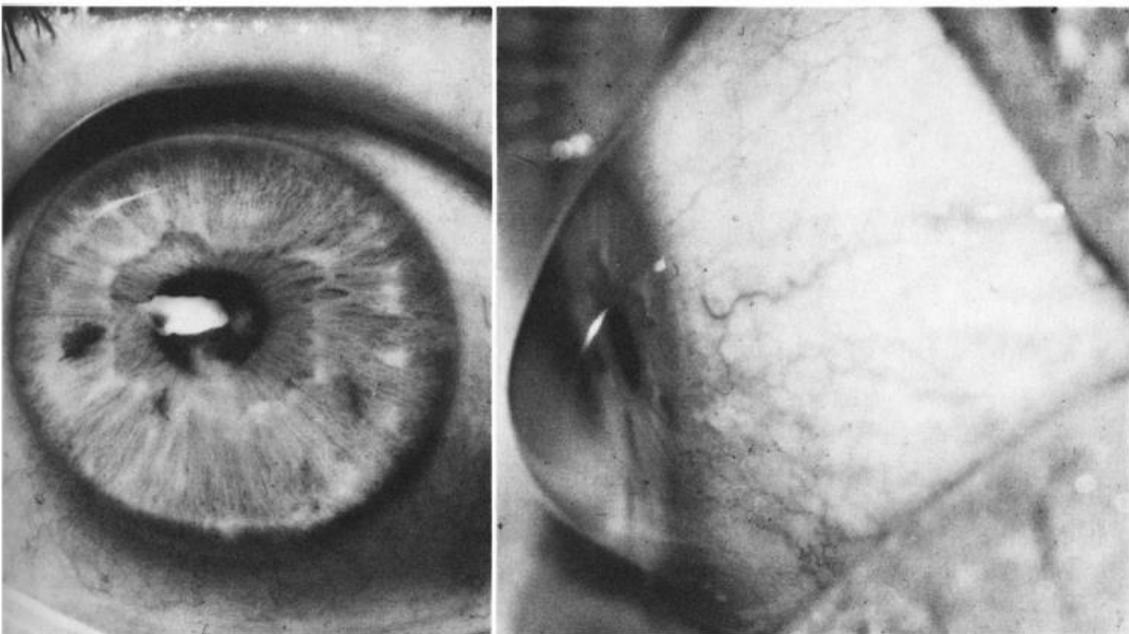


Figura 39: A sinistra vista frontale del cono ovale e a destra vista laterale dello stesso paziente [43].

### Classificazione cheratometrica:

Il cheratocono viene classificato in quattro gradi in base all'entità del potere centrale della cornea e sono: lieve, moderato, avanzato e grave [42].

STADIO	TIPO	DIOTTRIE
I	Lieve	<45 D
II	Moderato	Compreso tra 46 e 52 D
III	Avanzato	Compreso tra 53 e 59 D
IV	Grave	>59 D

Tabella 2: Classificazione cheratometrica.

### Classificazione di Hom:

Il cheratocono viene classificato in quattro gradi in base ai segni clinici:

- *Preclinico*: non sono stati rilevati segni sospetti.
- *Casi lievi*: è presente un lieve assottigliamento, il riflesso della luce a forbice, buona acuità visiva corretta dall'uso degli occhiali e assenza di cicatrici.
- *Moderato*: assenza di cicatrici, scarsa qualità visiva e assottigliamento corneale senza cicatrici.
- *Grave*: grave assottigliamento, presenza di cicatrici e rifrazione inaffidabile.

### Classificazione di Amsler-Krumeich:

Questo è il sistema di classificazione più utilizzato nella pratica clinica, il principale vantaggio di utilizzare questo metodo è che combina le caratteristiche morfologiche, segni clinici, metodi refrattivi e cheratometrici per valutare la gravità della malattia. Tuttavia è ormai obsoleto e antico poiché non riesce a considerare le informazioni cliniche e i processi tecnologici attualmente disponibili.

*K reading* medio è una misura che indica la curvatura della superficie anteriore della cornea, la quale si ottiene attraverso il topografo corneale (Capitolo 3) [42], [44].

INDIVIDUO PRIVO DI CHERATOCONO	GRADO I	GRADO II	GRADO III	GRADO IV
Tipica forma ellissoidale prolata	Irripidimento corneale eccentrico	Assenza di cicatrici	Assenza di cicatrici	Cicatrice corneale centrale
	Miopia e/o astigmatismo < 5D	Miopia e/o astigmatismo compreso tra 5 a 8 D	Miopia e/o astigmatismo compreso tra 8 a 10 D	Rifrazione non affidabile
	K reading medio centrale < 48D	K reading medio centrale è compreso tra 48 a 53 D	K reading medio è compreso centrale tra 53 a 55 D	K reading medio centrale > 55 D
Lo spessore nella sezione centrale è di circa 500 µm, e nella sezione periferica arriva 700 µm		Spessore minimo corneale >400 µm	Spessore minimo corneale compreso tra 300 e 400 µm	Spessore minimo corneale 200 µm

Tabella 3: Confronto tra individuo privo di cheratocono e la classificazione di Asmler-Krumeich (Grado I,II,III,IV).

## 2.4 Come vengono modificate le proprietà meccaniche della cornea in conseguenza al cheratocono

Il dispositivo Dynamic Scheimpflug Analyzer è simile al Dynamic Bidirectional Applanation, citato nel capitolo 1.5, in quanto deforma la cornea attraverso un soffio d'aria e genera una serie di immagini in tempo reale, da cui vengono estratti i parametri elastici corneali. In entrambi gli apparecchi si è evidenziato che la IOP influenza il comportamento biomeccanico della cornea.

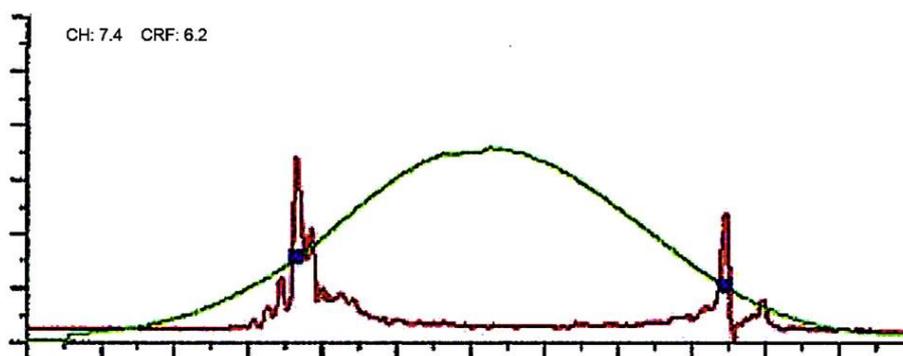


Figura 40: Diagramma del segnale ottenuto attraverso il dispositivo Dynamic bidirectional applanation nell'occhio cheratoconico [29].

Attraverso questo dispositivo si è osservato che la IOPcc (pressione corneale compensata) e la CCT (spessore corneale centrale) sono simili tra la cornea sana e quella patologica, tuttavia l'ampiezza massima della deformazione della cornea cheratoconica è molto maggiore di quella sana. Ciò indica che la cornea sana è più rigida e si deforma meno, la misura è stata effettuata considerando la IOPcc su entrambi gli occhi in modo tale da slegare la dipendenza delle proprietà biomeccaniche dalla IOP.

È stata ricavata un'espressione che mette in relazione la CFR e le aberrazioni corneali negli occhi cheratoconici:

$$CRF = 15.47 - 0.16 \times K_1 - 0.71 \times RMS_{sph-1} \quad (13)$$

Dove:

- $K_1$  è il potere diottrico del meridiano corneale più piatto
- $RMS_{sph-1}$  sono i valori quadratici medi corrispondenti alle aberrazioni corneali di tipo sferico

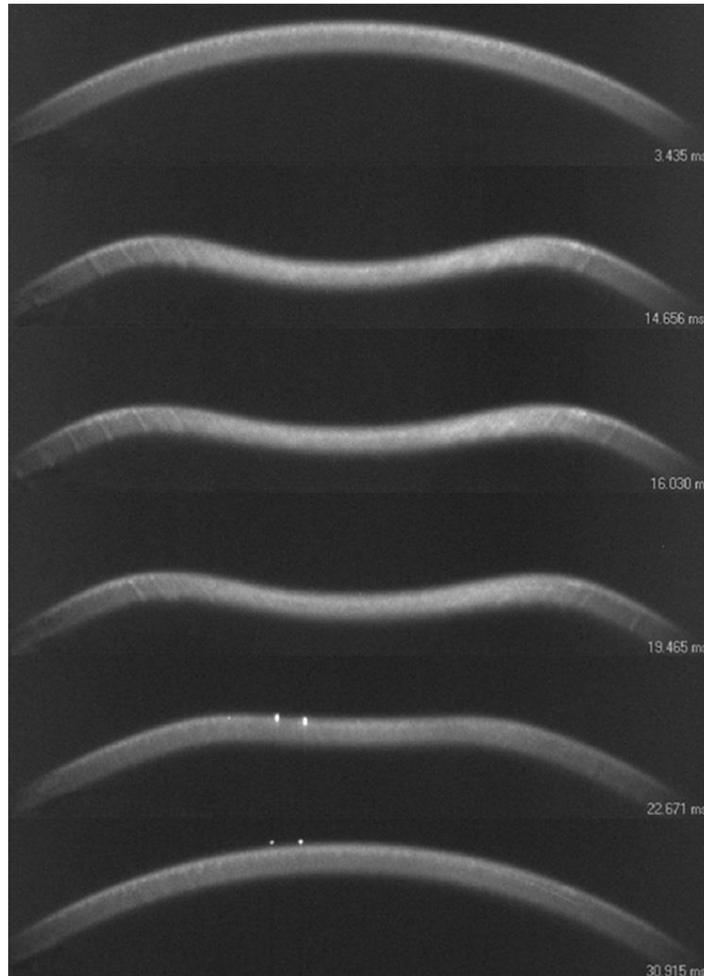


Figura 41: Serie di immagini di una cornea che si deforma attraverso un soffio d'aria del Dynamic Scheimpflug Analyzer [27].

Hurmeric et al suggeriscono che la risposta corneale non era solo collegata alla matrice stromale ma anche alla struttura cellulare della cornea, la CCT media per i pazienti sani era  $536 \pm 37 \mu m$  e per i pazienti cheratoconici era  $473 \pm 36 \mu m$ . La differenza tra i due gruppi è statisticamente significativa e pertanto lo spessore corneale potrebbe avere avuto un ruolo non trascurabile.

Numerosi studi hanno dimostrato che CH e CRF sono significativamente ridotti negli occhi cheratoconici rispetto agli occhi normali [29]. Con l'aumentare del grado di gravità del cheratocono i valori CH e CRF diminuiscono in maniera rilevante [45]. Questa alterazione biomeccanica può essere la conseguenza della distorsione della matrice lamellare nello stroma, che non segue uno schema ortogonale, ma sono presenti regioni di collagene altamente allineate mescolate a regioni prive di allineamento [29]. Può essere dovuto parzialmente anche ad una diminuzione dello spessore corneale, legata alla struttura alterata dei PGs e dei GAGs, portando ad una minore adesione lamellare e ad un modulo di taglio ridotto [45].

Nella Figura 42 sono riassunti i valori dei parametri CH e CRF medi, studiati da diversi autori, estratti dal Dynamic Bidirectional Applanation in varie condizioni di salute corneale.

Inoltre Avetisol et al ha analizzato la curva di appiattimento del dispositivo e ha ottenuto una stima del coefficiente di elasticità  $K_e$ , parametro caratteristico delle proprietà elastiche della cornea.

$K_e$  assume come valore 11.05 negli occhi sani e 4.91 in quelli cheratoconici [29].

**Table 1.** Corneal biomechanical analysis in a variety of eye and general health conditions performed with the Ocular Response Analyzer.

Study*	Number of Eyes	Sample	CH Mean (SD)	CRF Mean (SD)
Luce <sup>7</sup>	339	Healthy eyes	9.6 (mean)	—
	60	Keratoconus	8.1 (mean)	—
Ortiz <sup>8</sup>	165	Healthy eyes	10.8 (1.5)	11.0 (1.6)
	21	Keratoconus	7.7 (1.3)	6.7 (1.3)
		Post-LASIK	9.3 (1.9)	8.1 (1.9)
Kirwan <sup>10</sup>	81	Children	12.5 (mean)	—
Shah <sup>11</sup>	207	Healthy eyes	10.7 (2.0)	—
	93	Keratoconus	9.6 (2.2)	—
Touboul <sup>12</sup>	122	Healthy eyes	10.26 (mean)	—
	159	POAG	9.48 (mean)	—
	88	Keratoconus	8.34 (mean)	—
	78	Post-LASIK	8.87 (mean)	—
Song <sup>13</sup>	1153	Children	10.7 (1.6)	—
Schwoeder <sup>14</sup>	80	Healthy eyes	10.6 (2.2)	—
	82	POAG	9.3 (2.2)	—
Ang <sup>15</sup>	40	NTG	9.6 (1.3)	9.9 (1.4)
	41	POAG	9.0 (1.4)	10.8 (1.7)
Chen <sup>16</sup>	43	Before myopic LASIK	11.52 (1.28)	11.68 (1.40)
		After myopic LASIK	9.48 (1.24)	8.47 (1.53)
Kucumen <sup>17</sup>	51	Before phaco	10.36 (1.48)	9.64 (1.26)
		After phaco	10.94 (2.54)	9.99 (1.77)
Kamiya <sup>18</sup>	36	Before PTK	10.2 (2.2)	10.3 (2.0)
		After PTK	8.7 (1.8)	8.5 (1.8)
Del Buey <sup>19</sup>		Eyes with granular corneal dystrophy	—	—
	12	Healthy eyes	10.3 (1.6)	10.5 (1.5)
	11	Fuchs corneal dystrophy	6.9 (1.8)	8.1 (1.9)
Goldich <sup>20</sup>	80	Healthy eyes	9.3 (1.4)	9.6 (1.6)
	80	Diabetes mellitus	10.7 (1.6)	10.9 (1.7)
Sahin <sup>21</sup>	120	Healthy eyes	9.51 (1.82)	10.36 (1.97)
	81	Diabetes mellitus	10.41 (1.66)	10.32 (1.76)
Kamiya <sup>22</sup>	27	Before PRK	10.8 (1.3)	10.3 (1.5)
		After PRK	9.2 (1.6)	8.4 (1.8)
	31	Before LASIK	10.8 (1.4)	10.3 (1.5)
		After LASIK	8.6 (0.9)	7.7 (1.3)
Dauwe <sup>23</sup>	18	Before ICRS	7.7 (1.4)	6.6 (1.8)
		After ICRS	7.4 (1.4)	6.1 (1.4)
		Keratoconus	—	—
Shah <sup>24</sup>	110	Pre-LASIK	11.4 (1.9)	10.0 (1.6)
	110	Post-LASIK	9.2 (2.1)	7.6 (1.8)
Castro <sup>25</sup>	132	Keratoconus	9.4 (2.2)	7.7 (2.6)
	19	Diabetes	9.1 (1.9)	—
	25	No diabetes	7.8 (1.7)	—
Abitbo <sup>26</sup>		POAG	—	—
	75	Healthy eyes	10.46 (1.6)	—
Fontes <sup>27</sup>	58	Glaucomatous eyes	8.77 (1.4)	—
	63	Mild keratoconus	8.50 (1.36)	7.85 (1.49)
Emre <sup>28</sup>	80	Healthy eyes	10.17 (1.79)	10.13 (2.0)
	29	Eyes of patients with systemic sclerosis	9.8 (1.7)	10.0 (1.5)
Shin <sup>29</sup>	29	Healthy eyes	9.5 (1.2)	9.2 (1.4)
	26	Post-PK	8.95 (2.59)	9.78 (1.45)
Leite <sup>30</sup>		Contralateral healthy eye	10.26 (2.64)	9.75 (1.45)
	135	Healthy eyes of blacks	9.7	9.84
	46	Healthy eyes of whites	10.4	10.70

*(continued on next page)*

**Table 1. (Cont.)**

Study*	Number of Eyes	Sample	CH Mean (SD)	CRF Mean (SD)
Yenerel <sup>31</sup>	34	Forme fruste keratoconus	9.21 (1.38)	8.21 (1.64)
	36	Clinical keratoconus	8.19 (1.49)	6.79 (1.81)
	36	Post-PK	10.16 (1.93)	9.94 (2.34)
	63	Healthy eyes	11.43 (1.52)	11.53 (1.83)
Sedaghat <sup>32</sup>	56	Before CXL	7.9 (1.5)	7.3 (1.4)
		After CXL	8.2 (1.5)	7.59 (1.5)
		Keratoconus	—	—
Laiquzzaman <sup>33</sup>	166	Healthy eyes	10.6 (2.0)	10.2 (2.0)
	34	Post-PK	8.9 (3.3)	8.1 (3.3)
Ryan <sup>34</sup>	102	Before epi-LASIK	10.22 (1.65)	10.01 (1.80)
		1 month after epi-LASIK	8.17 (1.25)	7.82 (1.68)
		3 months after epi-LASIK	8.46 (1.44)	8.03 (1.85)
		6 months after epi-LASIK	8.63 (1.31)	7.77 (1.50)
		12 months after epi-LASIK	8.53 (1.49)	7.80 (1.66)
Spoerl <sup>35</sup>	50	Before CXL	7.38 (1.42)	6.16 (1.42)
		After CXL	7.37 (1.26)	6.16 (1.50)
		Keratoconus	—	—
Jafarinasab <sup>36</sup>	45	After PK	10.09 (2.5)	10.13 (2.2)
	23	After DALK	9.64 (2.1)	9.36 (2.1)
Yazici <sup>37</sup>	30	Healthy eyes	11.3 (1.3)	11.9 (1.5)
	30	Eyes of patients with systemic lupus erythematosus	10.2 (0.6)	9.7 (1.1)
Cankaya <sup>38</sup>	102	Healthy eyes	9.4 (1.4)	9.8 (1.6)
	64	Exfoliation syndrome	8.5 (1.5)	9.3 (1.8)
	78	Exfoliative glaucoma	6.9 (2.1)	9.5 (2.6)
Morita <sup>39</sup>	83	Healthy eyes	10.8 (1.3)	10.6 (1.4)
	83	Normal tension glaucoma	9.2 (1.3)	8.9 (1.5)
Gdika <sup>40</sup>	50	Healthy eyes	10.1 (1.9)	9.7 (2.4)
	50	Keratoconus	8.2 (1.4)	7.4 (2.3)
Kara <sup>41</sup>	30	Healthy eyes	11.3 (1.0)	11.2 (2.1)
	30	Topographically normal relatives of patients with keratoconus	9.9 (1.6)	9.8 (1.6)

CH = corneal hysteresis; CRF, corneal resistance factor; CXL = corneal crosslinking; DALK = deep anterior lamellar keratoplasty; ICRS = intrastromal corneal ring segments; LASIK = laser in situ assisted keratomileusis; NTG = normal tension glaucoma; PKP = penetrating keratoplasty; POAG = primary open-angle glaucoma; PRK = photorefractive keratectomy; PTK = phototherapeutic keratectomy; SD = standard deviation

Figura 42: caratterizzazione della biomeccanica della cornea in condizioni di salute diverse [29].

# CAPITOLO 3: Tecnologie diagnostiche e tipologie di cura/intervento

## 3.1 Tipologie di cure/intervento

I trapianti di cornea da donatori umani deceduti sono l'unica soluzione attualmente disponibile per i pazienti a rischio di cecità derivante da malattie o lesioni della cornea. Tuttavia i donatori sono in numero inferiore rispetto ai pazienti, questo crea un urgente bisogno di soluzioni alternative [6].

La gestione del cheratocono varia a seconda della gravità della malattia, tendenzialmente i casi incipienti vengono gestiti con l'uso degli occhiali da vista, con l'aumentare della gravità si passa prima all'uso delle lenti a contatto e successivamente nelle circostanze estreme si arriva alla cheratoplastica. Ci sono anche altre tipologie di trattamento come gli anelli intrastromali e il Cross-Linking.

Gli occhiali da vista, utilizzati solo nei casi iniziali, vengono poi sostituiti con altre tecniche con il progredire della malattia a causa dell'astigmatismo irregolare che con questo tipo di dispositivo non è possibile correggere, ottenendo un'acuità visiva inadeguata.

## 3.2 Lenti a contatto

Le lenti a contatto sono le opzioni di trattamento più comune e di successo per i casi precoci e moderati, ritardano la necessità di un intervento chirurgico [40].

Attualmente si stima che il 90% dei pazienti affetti da irregolarità corneale adoperino le lenti a contatto [42].

Sono disponibili diverse opzioni di lenti a contatto, tra cui le lenti a contatto rigide gas permeabili, morbide, mini-sclerali, sclerali e sistemi piggyback [40].

Lens type	Proprietary name	Manufacturer	Bc (mm)	Dia (mm)	Power (D)
Soft	Kerasoft	Ultravision	8.00–9.00	14.00–15.00	±30.00
	Soft K	Soflex	7.00–8.20	14.20	+10.00 to –20.00
Gas permeable	Rose K2	Menicon Co., Ltd.	4.30–8.60	7.90–10.40	±30.00
	IKone	Valley Contax	4.80–7.70	8.80–10.40	±30.00
	Soper	David Thomas	5.20–7.50	7.50–9.50	±30.00
	McGuire	David Thomas	5.60–7.35	8.60–9.60	±30.00
	Dyna Intralimbal	Lens Dynamics	5.92–9.28	10.4–12.00	±25.00
Mini-scleral	SoClear	Dakota Science	5.82–7.82	13.30–15.50	+20.00 to –15.00
	Digi Form	Truform	Any	13.50–16.00	Any
	Maxim	Aculens	Any	15.40–16.40	Any
Scleral	Innovative	Innovative Sclerals	Any	18.00–24.00	Any
	GelFlex	Ezekiel Optom.	Any	18.00–24.00	Any
	Tru-Scleral	Truform	7.25–9.00	16.00–20.00	Any
Hybrid	Clear-Cone	Synergeyes	100–600*	14.50	+5.00 to –15.00
	SoftPerm	CibaVision	6.50–8.10	14.30	+6.00 to –16.00

Figura 43: Tipi di lenti a contatto per il cheratocono in commercio. Bc è la curva base, Dia è il diametro [40].

La scelta della tipologia di lente da applicare al paziente viene effettuata a seconda dello stadio del cheratocono. All'inizio della patologia vengono usate le lenti a contatto morbide a design torico per poi passare a quelle rigide e infine quelle ibride.

I requisiti di questa soluzione oftalmologica sono: visione adeguata, comfort ed appropriata salute oculare e sicuramente la maggiore sfida è mantenere il paziente tollerante alle lenti con una buona acuità visiva in una cornea mutevole di forma nel tempo.

Le complicanze comuni derivanti dall'uso delle lenti comprendono fastidio e mancata permanenza delle lenti in situ per adeguati periodi di tempo, abrasione corneale indotta, cicatrici apicali, neovascolarizzazione da ipossia indotta.



Figura 44: Lenti a gas permeabili, ibride e sclerali [46].

Le lenti a contatto rigide gas permeabili (RGP) riescono a neutralizzare elevati livelli di astigmatismo irregolare che altri tipi di lenti in commercio non sono in grado di risolvere, di conseguenza rimangono quelle di maggiore utilizzo [40].

Sono realizzate con materiali ad elevato modulo di rigidità e ad alta permeabilità all'ossigeno in modo da garantire l'apporto necessario al normale metabolismo corneale.

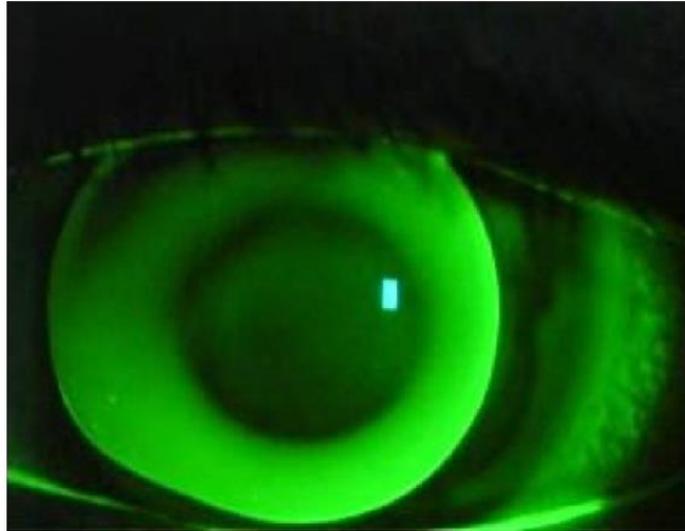
Hanno una flessibilità limitata, non si adattano perfettamente all'area sottostante, mantengono la loro forma e tra la superficie della lente e la faccia anteriore della cornea si forma un sottile involucre di lacrime che crea una nuova superficie refrattiva, priva di irregolarità.

Grazie a questo meccanismo è possibile correggere l'astigmatismo irregolare prodotto dal cheratocono, in cui i meridiani non sono più perpendicolari tra loro e non hanno lo stesso potere diottrico in ogni punto. L'eventuale astigmatismo residuo è regolare.

L'obiettivo delle RGP è non intaccare ulteriormente una superficie che risulta già indebolita e alterata, sicuramente un adattamento piatto induce un miglioramento del visus ma è sconsigliata per l'elevato rischio di alterazioni epiteliali ed erosioni nella zona apicale.

Il cheratocono è una malattia dinamica, in cui i parametri evolvono e l'applicazione perfetta della lente con il progredire del tempo può essere non più idonea, diventando piatta [47].

Sono presenti diversi studi contrastanti sulle lenti a contatto, alcuni sostengono che quelle rigide indicano lo sviluppo del cheratocono, altri invece dichiarano che la patologia può essere arrestata con una buona applicazione delle lenti [38].



*Figura 45: Immagine a fluorescenza dell'impianto di una lente a gas permeabile in un occhio cheratoconico [40].*

Le lenti morbide realizzate in idrogel siliconici hanno una maggiore permeabilità all'ossigeno [40] e il loro modulo di rigidità è basso, essendo prodotte con materiali malleabili si adagiano alla geometria corneale sottostante.

La zona centrale ha uno spessore maggiore di 300-500 micron con lo scopo di contenere il cheratocono e può essere spostata a seconda della localizzazione della protrusione [47].

Le lenti ibride sono una combinazione di materiali rigidi al centro e morbide sulla superficie esterna [42], normalmente non forniscono una migliore correzione visiva e comfort rispetto alle RGP e per tale motivo vengono adottate con minore frequenza, essendo generalmente anche più costose.

Per la gestione del cheratocono una soluzione alternativa sono i sistemi piggyback, ovvero una lente rigida montata su quella morbida, andando a migliorare il comfort, la centratura e la stabilità della RGP, sebbene quest'ultime forniscono un'acuità visiva ottima [40].

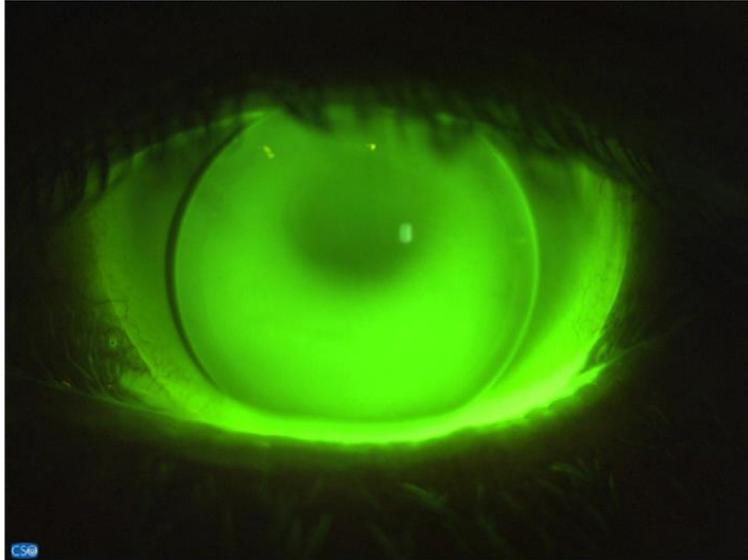


Figura 46: Immagine a fluorescenza di una lente Piggy-Back in un occhio cheratoconico [40].

Le lenti sclerali invece consentono una visione ottimale anche lateralmente, appoggiano interamente sulla sclera e bypassano la cornea, preservandone la sua integrità e limitando così il rischio di formazioni di cicatrici dovuto allo sfregamento della lente sulla cornea. Durante l'ammiccamento non si verifica lo sfregamento della palpebra con la lente poiché l'appoggio è sulla sclera sotto le palpebre stesse.

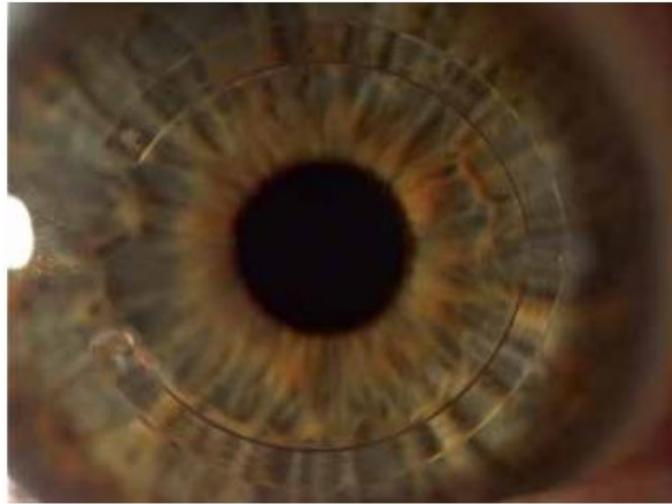
### 3.3 Anelli intrastromali (ICRS)

La tecnica consiste nell'impianto di uno o due segmenti in polimetilmetacrilato (PMMA), materiale biocompatibile, nello stroma corneale per rimodellare la forma anomala causata dal cheratocono, nel tentativo di migliorare l'acuità visiva [40] e dona una forma più regolare alla cornea, facilitando se necessarie anche l'applicazione delle lenti a contatto [42].



Figura 47: ICRS [46].

Lo scopo primario è restituire una forma più regolare possibile, riducendo la deformazione delle porzioni centrali, quelle corrispondenti alla pupilla e di stabilizzare il più possibile il quadro evolutivo attraverso un sostegno meccanico [48].



*Figura 48: Anello intrastromali [48].*

Sebbene l'impianto ICRS riesca a curvare la cornea e a ridare un'adeguata acuità visiva a prescindere dall'età del paziente, questa tecnica non arresta la progressione della malattia [42].

Il trattamento è idoneo per i casi lievi o moderati, poiché è richiesta la trasparenza della cornea e uno spessore minimo di 450  $\mu m$  nel sito dell'incisione [40].

Sono disponibili diversi tipi di anellini, con diversi spessori e raggi di curvatura, per calibrare l'appiattimento della cornea a seconda dell'entità del cono. La scelta del numero, del tipo e delle dimensioni dei segmenti è la fase cruciale per il buon esito dell'operazione.

È un trattamento reversibile e non compromette un eventuale successivo ricorso al trapianto, risulta solo più problematica l'applicazione delle lenti a contatto su una cornea con impianto ICRS [48].



*Figura 49: anello intrastromale [49].*

L'applicazione è indolore e di breve durata e avviene sotto anestesia topica, con il paziente sveglio [47]. Il chirurgo effettua due piccoli tunnel nella porzione medio-periferica del tessuto corneale con il laser a femtosecondi e nei due tunnel realizzati vengono inseriti i due inserti ad arco di sfera. Il recupero nel post-intervento è veloce, non vincola il paziente che trascorsi qualche giorno può tornare alle sue comuni attività professionali [9].

### 3.4 Cheratoplastica

Il trapianto di cornea è il trattamento necessario per casi di cheratocono avanzato, in cui non è possibile ottenere dei buoni risultati attraverso strategie chirurgiche conservative.

La presenza per esempio di una cicatrice centrale preclude la possibilità di una buona visione con le lenti a contatto anche se queste sono tollerate. Un paziente con cheratocono ha una probabilità di circa del 10-20% di aver bisogno di un trapianto di cornea nel corso della sua vita.

Si stima che la cheratoplastica ha un tasso di successo del 93-96% grazie alla natura avascolare della cornea, perciò il rigetto è raro.

Attualmente i medici attuano in base al caso specifico o una cheratoplastica penetrante o cheratoplastica lamellare anteriore, la scelta ricade in base al livello di danneggiamento degli strati della cornea, se l'endotelio è sano si predilige una cheratoplastica lamellare anteriore, in caso contrario si opta per la cheratoplastica penetrante.

La sostituzione della cornea patologica con una sana prelevata da un donatore deceduto è eseguita in ambito ambulatoriale e per un completo recupero visivo sono necessari circa 6 mesi.

Entrambe le operazioni sono indolore e si svolgono sotto anestesia totale o locale.

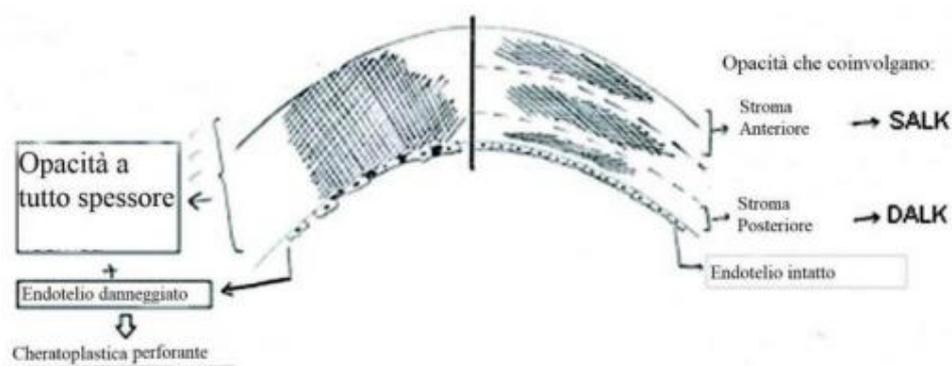
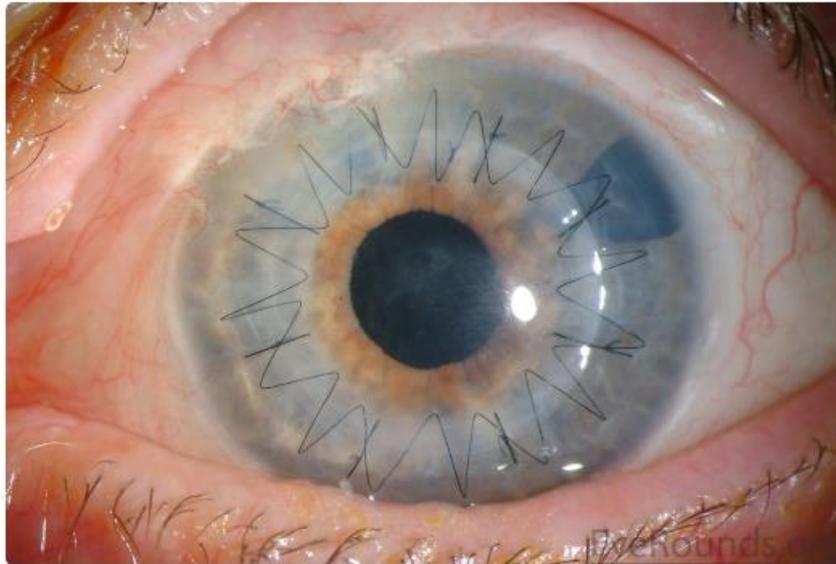


Figura 50: Visualizzazione della scelta tra cheratoplastica penetrante o cheratoplastica lamellare anteriore (SALK o DALK) in base allo stato della cornea [47].

La cheratoplastica penetrante (PKP), comunemente utilizzata in un basso numero di casi ed esclusivamente per i pazienti gravi, prevede la rimozione completa dello spessore della cornea che viene sostituito con tessuto donatore.

Sebbene l'elevato tasso di successo della cheratoplastica penetrante, è fondamentale avvisare il paziente che esiste la probabilità del 50% di dover utilizzare le lenti a contatto anche dopo l'intervento, a causa della miopia residua e dell'astigmatismo post-cheratoplastica.

Per limitare il grado di miopia diversi chirurghi adoperano innesti di ugual dimensione allo spazio disponibile ricevente.



*Figura 51: Occhio del paziente dopo la cheratoplastica penetrante, i punti di sutura in nero vengono rimossi durante il periodo post-operatorio [50].*

La cheratoplastica lamellare anteriore (ALK) è l'altra tecnica chirurgica che prevede la sostituzione dello stroma malato con quello del donatore, a sua volta divisa in SALK se viene rimossa sola una singola porzione dello stroma malato e DALK con la quale si rimuove tutto lo stroma fino alla membrana di Descemet.

L'ALK permette di preservare l'endotelio del paziente riducendo i rischi di scompenso corneale e prevede una riabilitazione visiva più rapida. Tuttavia si creano delle irregolarità fra il tessuto del paziente e quello del donatore che portano spesso ad una qualità della visione inferiore rispetto alla cheratoplastica perforante.

Dall'altra parte, nella tecnica PKP rispetto all'ALK si è segnalato un rischio maggiore di perdita delle cellule endoteliali e di rigetto del trapianto.

Entrambe le tecniche non sono prive di complicanze e possono includere il rigetto della cornea impiantata, che può essere risolta attraverso farmaci se trattata tempestivamente, astigmatismo post-operatorio, infezioni, per cui è di buona norma prestare all'igiene oculare nelle fasi successive all'intervento [38], [40], [42], [47], [48].

## CAPITOLO 4: Cross-Linking

È fondamentale la diagnosi precoce e l'attento monitoraggio poiché un intervento di Cross-Linking tempestivo può prevenire la progressione della malattia. Questo tipo di trattamento aumenta la stabilità biomeccanica e la rigidità della cornea [42].

Considerando che la cornea è responsabile di oltre i due terzi del potere rifrattivo totale dell'occhio, la sua forma è di fondamentale importanza nel determinare la qualità del sistema ottico oculare e quindi la qualità della visione. Piccolissimi cambiamenti nella forma della cornea derivanti da un intervento chirurgico o da una malattia possono avere un effetto drammatico sulla messa a fuoco dell'immagine retinica. Per questo motivo, comprendere e quantificare il contorno corneale è diventata una misurazione preoperatoria essenziale per progettare un intervento chirurgico in chirurgia refrattiva o per valutare le prestazioni ottiche dell'occhio.

Qui si inseriscono le tecniche di imaging della cornea e del segmento anteriore, le quali sono diventate uno strumento cruciale nella pratica clinica dell'oftalmologia, con una grande varietà di applicazioni, come l'analisi della curvatura corneale e pachimetrica, il rilevamento di condizioni corneali ectasiche.

### 4.1 Dispositivi diagnostici: Topografia corneale

La topografia corneale è una tecnica di imaging non invasiva che mappa la superficie anteriore della cornea e, in alcuni casi, la superficie corneale posteriore [51], è il Gold Standard per la diagnosi e il follow-up del cheratocono.

Presso l'Azienda Ospedaliera Nazionale SS. Antonio e Biaggio e Cesare Arrigo di Alessandria il topografo-pachimetro corneale Sirius (CSO) è il dispositivo di riferimento per la diagnosi e monitoraggio della progressione del cheratocono.



Figura 52: Il Sirius presente presso l'Azienda Ospedaliera Nazionale SS. Antonio e Biaggio e Cesare Arrigo di Alessandria [52].



Figura 53: Il Sirius presente presso l'Azienda Ospedaliera Nazionale SS. Antonio e Biaggio e Cesare Arrigo di Alessandria [52].

Il Sirius combina la topografia a riflessione ottica con disco di Placido alla tomografia Sheimpflug del segmento anteriore. Il dispositivo fornisce informazioni di pachimetria, elevazione, curvatura e potere diottrico di entrambe le superfici corneali su un diametro di 12 mm. Presenta un notevole velocità di acquisizione riducendo l'artefatto dovuto al movimento oculare conferendo alla misura una elevata accuratezza [53].

Il paziente, al quale non vengono somministrati colliri, viene fatto accomodare davanti al dispositivo diagnostico e gli viene chiesto di appoggiare il mento e la fronte su appositi supporti.

La diagnosi viene realizzata attraverso il Sirius, che è composto da un sistema di acquisizione formato da cheratoscopio a disco di Placido, quest'ultimo sulla superficie anteriore del paziente proietta il disco di Placido, il modello proiettato viene riflesso e catturato da una fotocamera. Dopo di che viene elaborata da un apposito software e vengono visualizzati sul monitor i dati sulla configurazione geometrica della cornea sia dal punto di vista numerico che grafico.

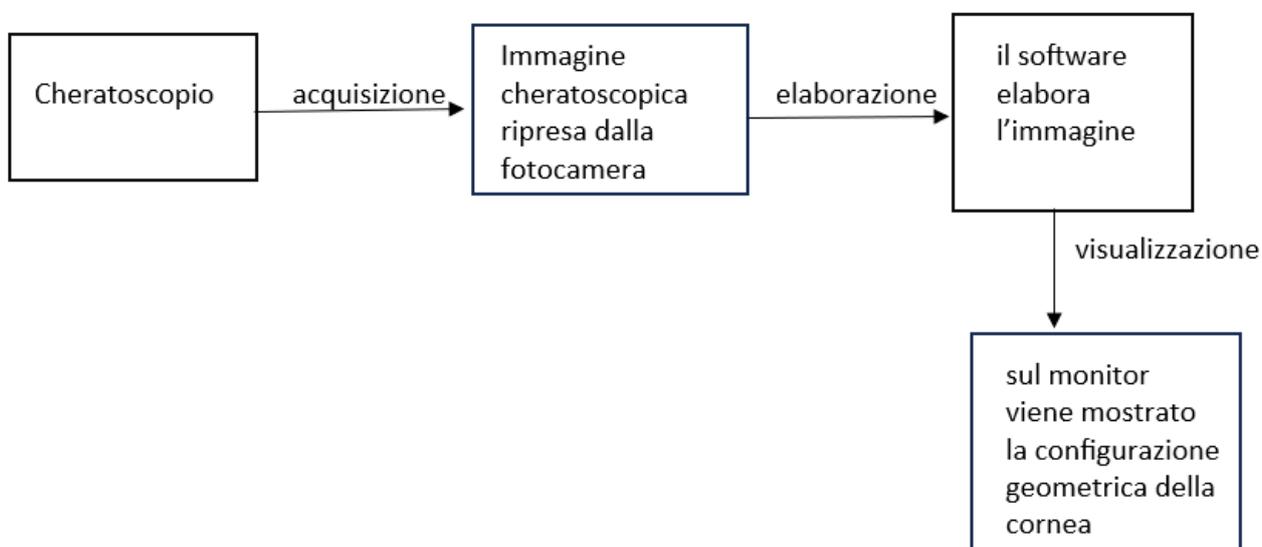


Figura 54: Schema a blocchi di funzionamento del Sirius.

Il cheratometro si basa sulla legge dell'ottica della riflessione, in cui la dimensione dell'immagine riflessa è proporzionale al raggio di curvatura della superficie convessa riflettente.

Il paziente guarda una mira luminosa centrata rispetto ad una serie di anelli concentrici di colore bianco e nero alternato, in base alla conformazione del profilo corneale la distanza tra gli anelli del disco di Placido varia. In presenza di una superficie con raggio di curvatura minore gli anelli appariranno più vicini, viceversa nel caso la distanza tra gli anelli sia maggiore questo sta ad indicare che la superficie è caratterizzata da raggio di curvatura maggiore [54].

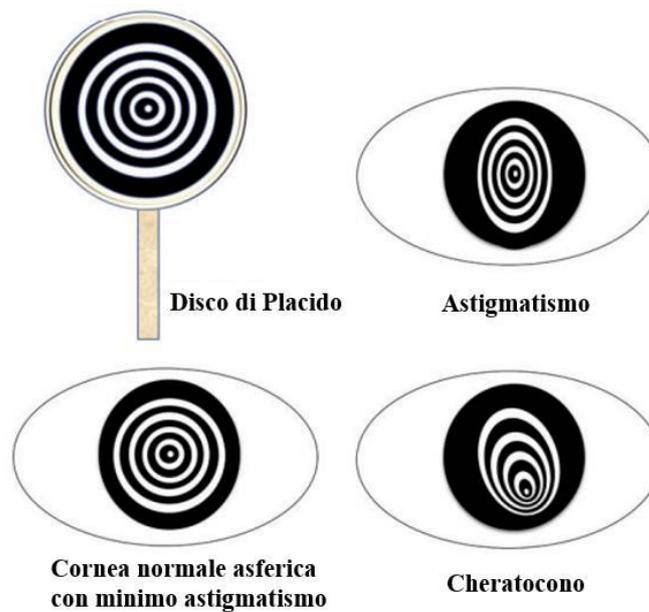


Figura 55: A sinistra l'immagine semplificata del Disco di Placido, a destra e in basso il riflesso del Disco di Placido su cornee con raggio di curvatura differente [55].

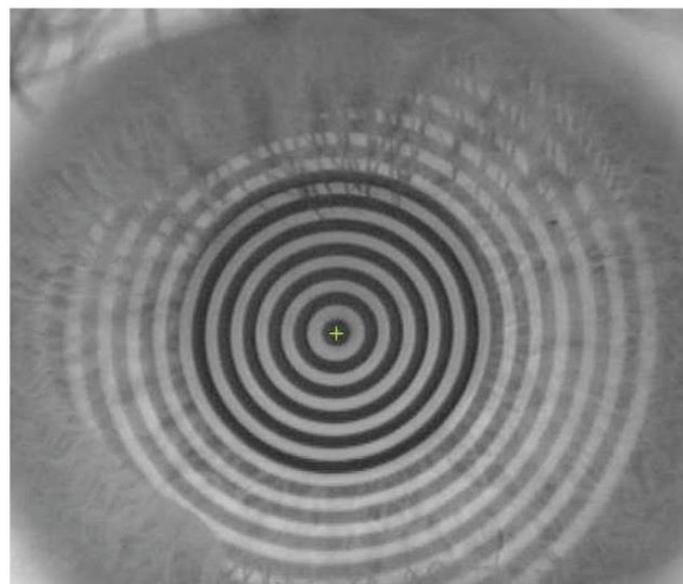


Figura 56: Proiezione degli anelli di Placido sull'occhio del paziente [51].

L'immagine riflessa degli anelli concentrici di Placido viene catturata tramite una telecamera posta al centro degli anelli stessi. Il Sirius utilizza la fotocamera Scheimpflug singola rotante basata sul principio di Scheimpflug. In una situazione ideale il piano oggetto dell'acquisizione fotografica ed il piano della lente sono paralleli, in questo caso sul piano immagine si focalizzerà l'oggetto completamente a fuoco. Se invece l'oggetto e il piano della lente non sono paralleli tra di loro l'oggetto non sarà completamente messo a fuoco sul piano dell'immagine e si otterrà un'immagine distorta [55]. Il principio di Scheimpflug afferma che quando un oggetto planare non è parallelo al piano dell'immagine, la retta passante per il piano della lente, la retta passante per la il piano oggetto, la retta passante per il piano della lente si incontrano in unico punto di intersezione detto punto di Scheimpflug. Manipolando l'inclinazione del piano immagine si può far in modo che l'immagine si focalizzi completamente su di esso. Attraverso la rotazione della telecamera attorno al proprio asse, vengono catturate diverse sezioni bidimensionali della cornea e poi vengono combinate per ricostruire una mappa tridimensionale della cornea. La Scheimpflug compie un movimento rotazionale di  $90^\circ$  eseguendo 25 acquisizioni che permettono di ricostruire per intero la struttura corneale [54].

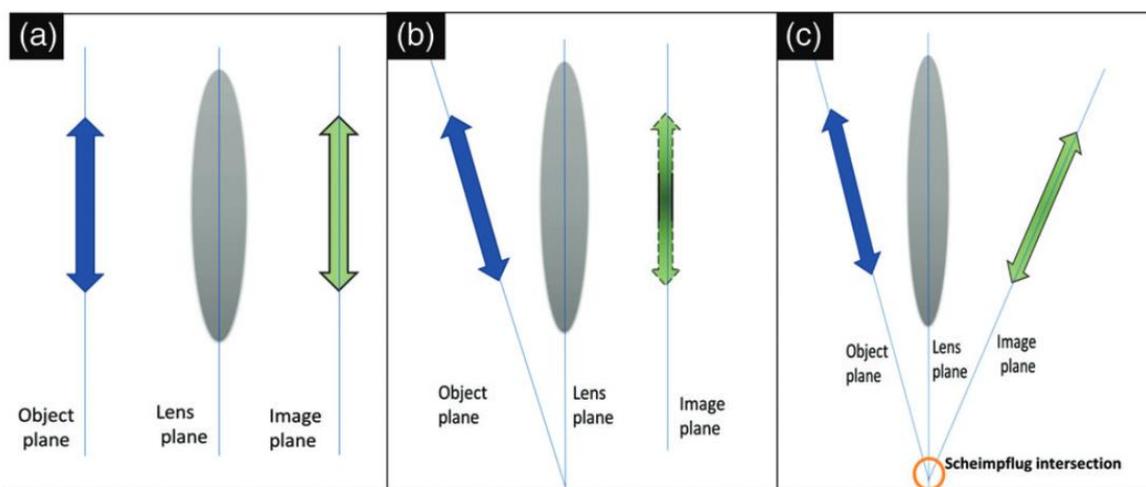


Figura 57: Principio dell'immagine Scheimpflug: (a) piano oggetto e piano immagine sono paralleli, l'immagine è nitida e focalizzata su quest'ultimo, (b) piano oggetto e piano immagine non sono paralleli, pertanto l'immagine non è messa completamente a fuoco, (c) piano oggetto e piano immagine non sono paralleli tuttavia quest'ultimo è stato ruotato secondo il principio di Scheimpflug per creare sul piano dell'immagine un'immagine completamente focalizzata [55].

I sistemi basati sulla fotografia di Scheimpflug sono attualmente i dispositivi che forniscono l'analisi più completa del segmento anteriore in modo non invasivo, consentendo la caratterizzazione della geometria delle superfici corneali anteriori e posteriori, profondità della camera anteriore e distribuzione pachimetrica, densitometria e spessore del cristallino [51].

## 4.2 Mappe topografiche

Il software del topografo corneale elabora le immagini acquisite dalle due telecamere: Scheimpflug e camera cheratoscopica in modo da generare e visualizzare sul monitor le mappe topografiche colorimetriche. Quest'ultime sono fondamentali per valutare la funzione visiva e la rappresentazione topografica viene operata mediante l'uso di una serie di colori ciascuno corrispondente ad un determinato grado di curvatura corneale espresso in diottrie. La scala colorimetrica a cui si fa

riferimento è quella di Kyle/Wilson, secondo la quale il verde rappresenta il sea level, zone di curvatura intermedia, ovvero la migliore superficie sferica che approssima la superficie corneale. I colori freddi (azzurro e blu) indicano zone piatte e si trovano al di sotto del sea level, invece i colori caldi (giallo, arancio e rosso) indicano zone più curve e sono situati al di sopra del sea level.

Esistono diverse scale colorimetriche che permettono uno studio più o meno dettagliato dell'immagine topografica:

- Scala assoluta: assegna a ciascun valore diottrico della cornea lo stesso colore, permettendo un riconoscimento più rapido di alcune patologie ed un confronto più facile rispetto ad esami precedenti o eseguiti da altri operatori.
- Scala relativa o normalizzata: l'intervallo diottrico è adattato alla cornea da analizzare. È legato allo scarto esistente tra il valore minimo ed il valore massimi di curvatura della cornea in esame, consente di osservare piccole variazioni di curvatura permettendo quindi un esame dettagliato.
- Scala regolabile: programmata dall'operatore, che stabilisce a quale colore assegnare il valore massimo e a quale il valore minimo e la risoluzione per ogni gradino [56].

Sebbene la scala assoluta sia quella che permette un confronto più rapido tra gli esami eseguiti tra operatori diversi e a momenti differenti, d'altra parte la scala relativa consente un esame maggiormente dettagliato, personalizzato alla morfologia della cornea del paziente in esame ed è sensibile alle piccole variazioni di curvatura.

A seguito dell'esame diagnostico del topografo corneale viene mostrata a video la seguente schermata:

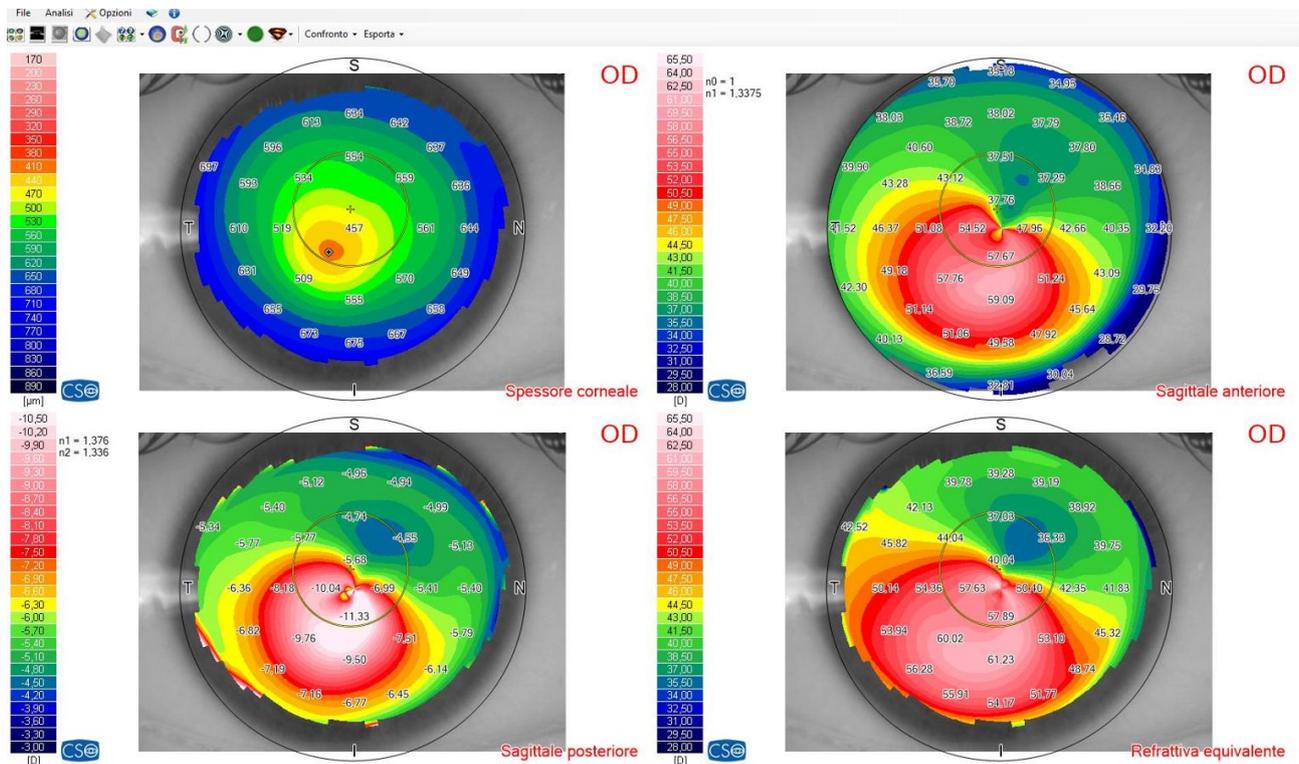


Figura 58: Mappe topografiche della cornea destra cheratoconica di un paziente di età 30, 4 stadio, prima dell'intervento presso l'Azienda Ospedaliera Nazionale SS. Antonio e Biaggio e Cesare Arrigo di Alessandria.

A partire da sinistra in alto si possono osservare le seguenti mappe:

- Spessore corneale: la mappa rappresenta lo spessore della cornea in micron ( $\mu\text{m}$ ). I colori più freddi indicano aree più spesse, viceversa, i colori più caldi aree più sottili [18].
- Sagittale anteriore e posteriore: misura la curvatura di un punto della superficie corneale in direzione assiale rispetto al centro [56].

Il dispositivo divide la cornea in settori infinitesimi, di ciascun settore ne calcola la curvatura di quel punto infinitesimo in direzione assiale rispetto al centro, successivamente riporta i valori calcolati sulla mappa assiale in 2D. Risulta prossimare i valori di curvatura nella zona centrale ottimamente, ma si rileva essere poco attendibile in periferia oltre i 3-4 mm.

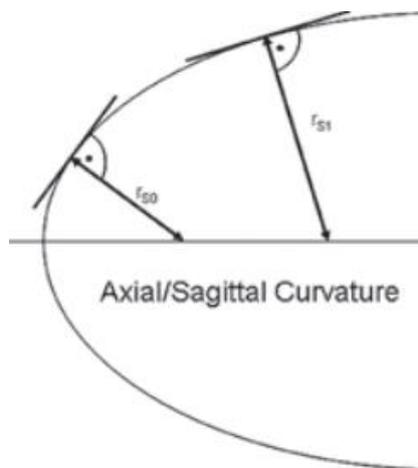


Figura 59: La figura mostra come avviene il calcolo della curvatura per ogni punti infinitesimo della cornea in direzione assiale rispetto al centro [57].

In relazione alla mappa sagittale anteriore mostrata in Figura 58 si può osservare che in caso di un paziente con cheratocono il punto di curvatura più alto si trova verso il basso, infatti quella zona è di colore rosso e non solo il punto di curvatura più alto coincide anche con il punto di spessore più sottile, osservabile nella mappa che rappresenta lo spessore corneale.

- Refrattiva equivalente: calcola il potere refrattivo di ciascun punto della cornea, sfruttando la legge di Snell [58]. La scala è in diottrie, i colori caldi sono associati ad aree con maggiore potere diottrico e i colori freddi ad aree con minor potere [18].

Dal dispositivo Sirius è possibile ottenere ulteriori mappe:

- Tangenziale anteriore: la curvatura viene misurata tracciando una circonferenza tangente al punto della superficie corneale considerata. Questo metodo consente di rilevare in modo più sensibile i piccoli cambiamenti di curvatura [59], supera i limiti della mappa assiale fornendo una rappresentazione accurata anche dei punti infinitesimi periferici. La mappa è espressa in diottrie, i colori caldi indicano aree più curve, i colori freddi indicano aree più piatte [18].

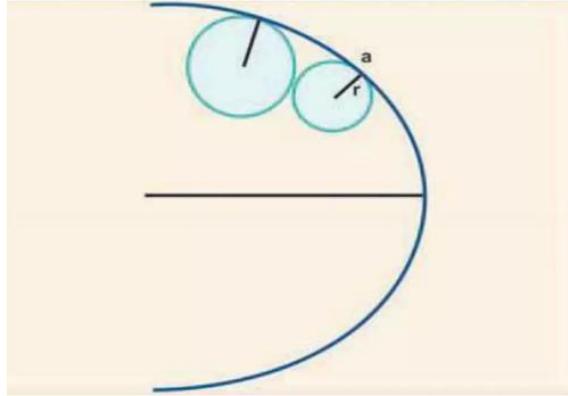


Figura 60: La figura mostra come viene effettuato il calcolo di ogni punto infinitesimo della cornea per ottenere la mappa tangenziale [59].

- Elevazione anteriore e posteriore: rappresenta l'altezza di punto della superficie anteriore o posteriore della cornea rapportata ad una superficie sferica di riferimento [56]. I colori caldi sono associati alle aree che si trovano al di sopra della superficie di riferimento, i colori freddi sono associati alle aree che si trovano al di sotto [18].

### 4.3 Principi di funzionamento del Cross-Linking

Il Cross-Linking è una terapia terapeutica mininvasiva che mira ad arrestare la progressione del cheratocono. Il trattamento, attraverso l'azione combinata tra riboflavina e luce ultravioletta, agisce sulla cornea irrigidendola, creando nuovi legami covalenti tra gli amino-terminali delle catene di collagene e i proteoglicani della matrice extracellulare [60].



Figura 61: A partire da sinistra cornea sana, cornea affetta da cheratocono, cornea affetta da cheratocono dopo l'intervento di Cross-Linking [9].

I legami covalenti tra le molecole di collagene in un paziente affetto da cheratocono sono ridotti e la cornea si presenta meno rigida. Tuttavia dopo il Cross-Linking, la cornea pur rimanendo indeformata, risulta irrobustita [9] grazie proprio alla formazioni di ulteriori nuovi legami tra le catene di collagene nel tropocollagene, tra le catene di tropocollagene nelle fibrille e tra le fibre di collagene delle lamelle [61]. Si è osservato anche che il trattamento è in grado di aumentare la compattazione delle lamelle corneali grazie alla formazione di collagene di neosintesi con proprietà differenti in termini di struttura e peso molecolare, sebbene sia imprevedibile la distribuzione dei crosslinks e del collagene di neosintesi, determinando così una alta variabilità del recupero visivo dopo l'intervento [31].

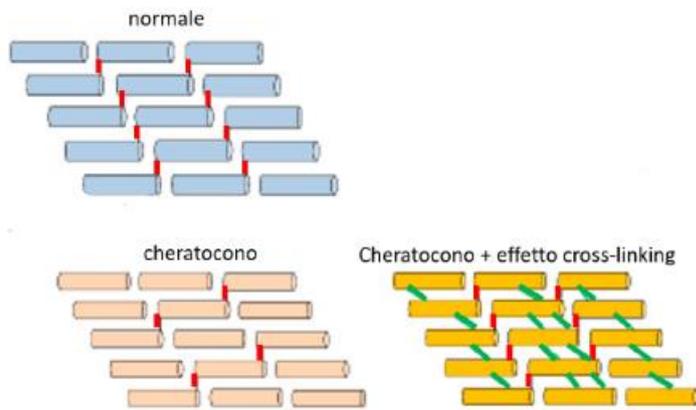


Figura 62: Distribuzione dei legami covalenti in cornee sane, cheratoconiche e in seguito al Cross-Linking [9].

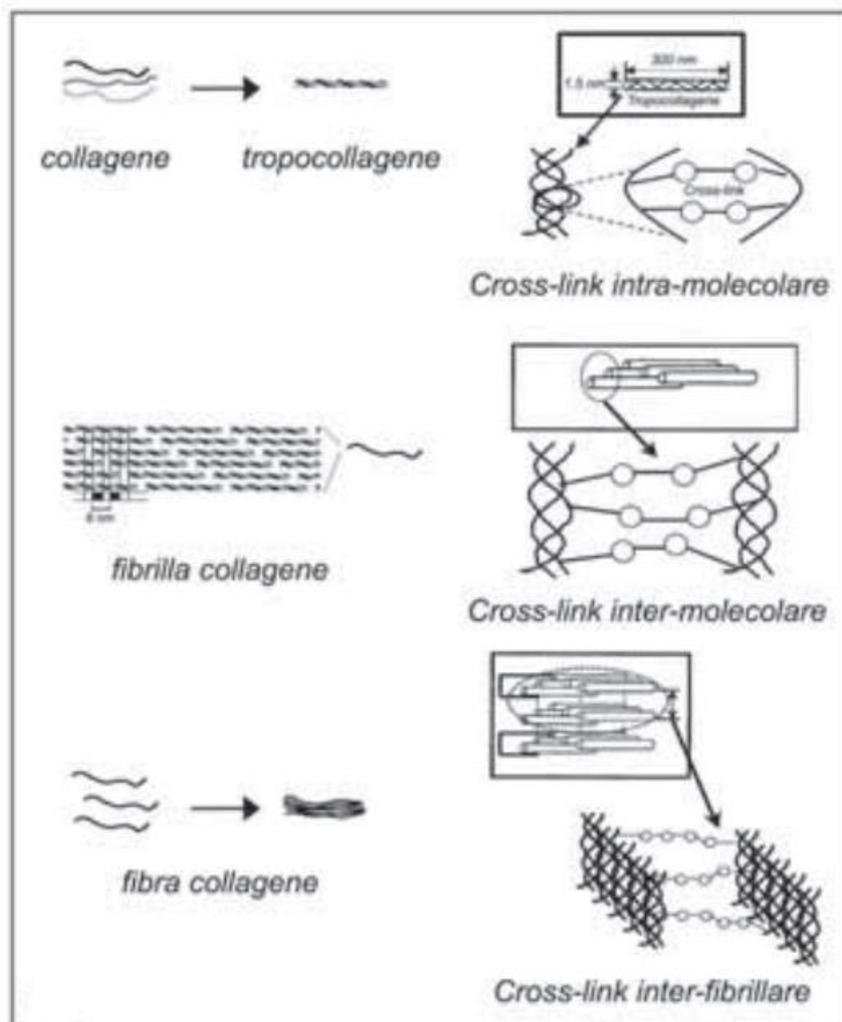


Figura 63: Il CXL induce la formazione di ulteriori legami crociati tra le catene di collagene nel tropocollagene, tra le catene di tropocollagene nelle fibrille e tra le fibre collagene delle lamelle. Il risultato ultimo della procedura è un incremento della rigidità meccanica dello stroma corneale [61].

L'intervento di Cross-Linking attuato dalla Dott.ssa Mariarosa Astori presso l'Azienda Ospedaliera Nazionale SS. Antonio e Biaggio e Cesare Arrigo di Alessandria è costituito da varie fasi:

- Fase di preparazione: all'interno della sala operatoria, ambiente sterile, viene somministrato un collirio anestetico al paziente.
- Fase di impregnazione della cornea: la cornea del paziente viene imbibita di gocce di collirio a base di riboflavina.
- Fase di irradiazione: la cornea viene esposta ad un fascio laser di UV-A, così da creare i ponti di legame covalenti tra le fibre di collagene stromali, rendendole più ordinate e robuste.

Tuttavia il Cross-Linking non è una terapia definitiva poiché il normale rinnovamento tissutale fa sì che le lamelle linkate siano sostituite dall'organismo, con la conseguenza che la patologia nel corso del tempo si ripresenti. Dopo alcuni anni, nel caso il paziente può essere sottoposto di nuovo al trattamento.

È stato stimato che l'intensità del fascio UV-A che attraversa la cornea non dovrebbe superare la soglia massima di  $0.35 \text{ mW/cm}^2$ , per non causare danni alle strutture interne dell'occhio. Attraverso la legge di Lambert-Beer, la quale afferma che il fascio di UV-A si riduce d'intensità man mano che penetra nella cornea, è stato stimato il valore minimo di  $400 \mu\text{m}$  come spessore corneale, che deve avere per non danneggiare le strutture intraoculari come l'endotelio corneale.

La legge di Lambert-Beer asserisce che l'assorbanza è direttamente proporzionale alla lunghezza del cammino ottico, alla concentrazione delle sostanze che assorbono la radiazione ultravioletta e alla loro assorbanza molare:

$$A = C \varepsilon l \quad (14)$$

Dove:

- $A$  è la luce assorbita
- $C$  è la concentrazione della sostanza che assorbe la radiazione UV-A
- $\varepsilon$  è il coefficiente di assorbimento molare
- $l$  è la lunghezza del cammino ottico [31]

La sostanza fotosensibilizzante in grado di indurre la formazione di questi legami è la riboflavina, la quale viene chiamata cross-linker e viene attivata in situ dalla radiazione di lunghezza d'onda  $370 \text{ nm}$  [31]. La riboflavina, conosciuta come vitamina B2 di colore giallo è una vitamina del gruppo B termostabile, idrosolubile e sensibile alla luce ed è composta da una molecola di flavina a cui è legata una catena di ribitolo. Le flavine sono dei composti organici in grado di partecipare alle reazioni redox, accettando o trasferendo elettroni. [18].

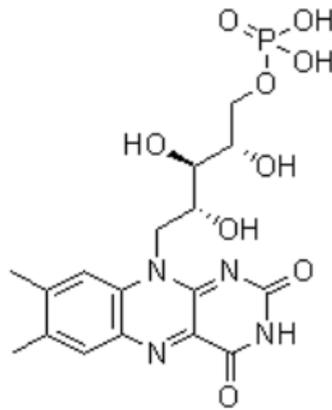


Figura 64: Riboflavina [31].

La riboflavina (Rf) per raggiungere lo stroma, strato in cui deve avvenire la fotopolimerizzazione, deve superare l'epitelio, la quale è una barriera che limita il passaggio di molecole. Questo problema viene risolto seguendo il protocollo Dresda, che prevede la rimozione dell'epitelio al fine di favorire la penetrazione ottimale della molecola nello stroma. Il vero ostacolo è l'eccessiva idrofilicità della Rf, solubile solo in acqua e insolubile in qualsiasi altro solvente organico. Questo comporta l'impossibilità di quest'ultima di distribuirsi nei compartimenti lipofili dell'epitelio e di conseguenza, una mancanza capacità di permeazione oculare.

La Rf oltre a svolgere il ruolo di agente fotosensibilizzante, svolge il compito di barriera alla penetrazione della radiazione UV-A all'interno del tessuto corneale, impendendo un possibile danno alle strutture più interne [31].

Nella prima fase del Cross-Linking, si irraggia la cornea imbibita di Riboflavina con luce UV-A a lunghezza d'onda di 370 nm [18], a cui corrisponde il picco massimo di assorbimento della Rf [58].

Gli UVA sono in grado di portare la Rf a uno stato eccitato di Rf singoletto:



con  $I_{abs}$  s'intende la luce assorbita a 370 nm da Rf e  $Rf_1^*$  è la riboflavina singoletto eccitata.

La Riboflavina singoletto eccitata può tornare indietro a riboflavina stabile con una costante cinetica  $k_1$ :



Oppure può generare a sua volta Rf tripletto eccitata con una sua costante cinetica  $k_2$ :



Dopodiché la Rf tripletto eccitata reagisce con il substrato, a seconda della concentrazione di ossigeno locale nello stroma, il processo di Cross-Linking può seguire due strade diverse note come meccanismo I e meccanismo II.

Il meccanismo di tipo I si sviluppa in condizioni di scarsa tensione di ossigeno e si ottiene come prodotto finale il perossido di idrogeno, che è meno efficace nel determinare la formazione dei

legami di Cross-Linking ed è potenzialmente citotossico. Il meccanismo di tipo II invece si sviluppa in un ambiente aerobico e il prodotto finale è l'ossigeno singoletto che garantisce di ottenere la formazione di legami di Cross-Linking efficaci e controllati.

Durante l'esposizione continua agli UV-A, le condizioni aerobiche non riescono a persistere per più di un minuto di irraggiamento. Questo implica un passaggio verso condizioni anaerobiche cioè verso il meccanismo di tipo I, con la produzione del tossico perossido di idrogeno [31].

Durante i primi 10-15 secondi dell'esposizione agli UV-A si sviluppa una condizione aerobica, meccanismo di tipo II, in cui la Rf tripletto reagisce con l'ossigeno tripletto presente nello stroma e si forma riboflavina e l'ossigeno singoletto, tutto ciò avviene con una sua velocità di reazione  $k_6$ :



L'ossigeno singoletto, chiamata ROS (specie reattiva dell'ossigeno) reagisce con il substrato SH per formare il substrato ossidato  $S_{ox}$ , creando i ponti covalenti tra il collagene dello stroma, tutto ciò avviene con una sua velocità di reazione  $k_7$ :



Dopo i primo 10-15 secondi, l'ossigeno è completamente depleto e la reazione tra il substrato e la riboflavina diventa meno efficace in quanto non più basata sui ROS e prende il nome di reazione di tipo I.

Nel meccanismo I è avvantaggiata la formazione di perossido di idrogeno che oltre a determinare l'ossidazione del substrato è un prodotto tossico, nel meccanismo II invece, la reazione procede più rapidamente, si evita la formazione di prodotti potenzialmente tossici e il substrato è direttamente ossidato dall'ossigeno singoletto.

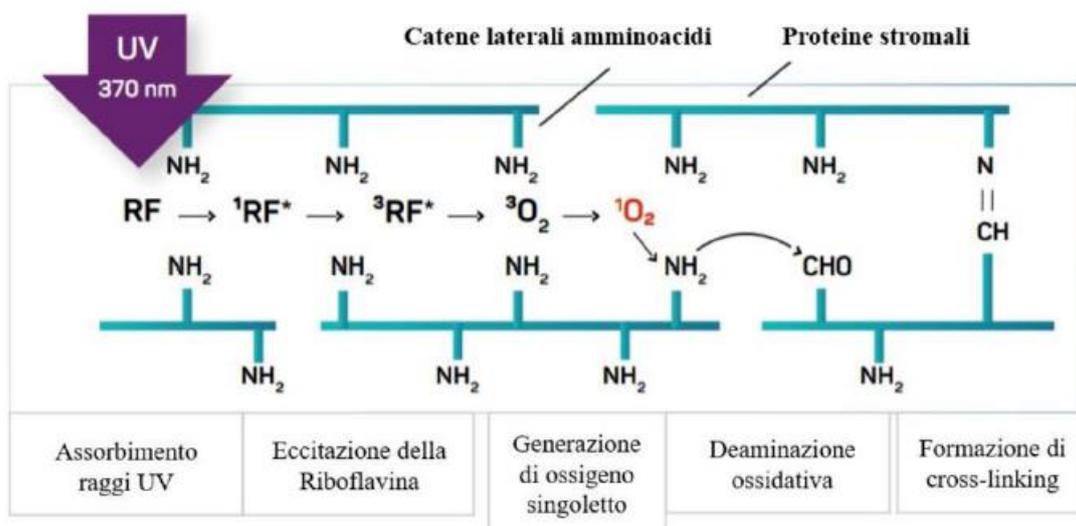


Figura 65: Reazione fotochimica di Cross-Linking [18].

L'ossigeno singoletto successivamente reagisce con i gruppi terminali  $NH_2$  del substrato, secondo il processo noto come deaminazione ossidativa e si forma un aldeide. L'aldeide e il gruppo amminico terminale si legano dando origine al legame covalente tra le fibre di collagene detto Cross-Linking [31], [62].

## 4.4 Procedure di intervento

Il Cross-Linking nasce nel 1998 presso l'Università di Dresda in Germania e successivamente viene introdotto per la prima volta in Italia nel 2004 presso l'Università di Siena dal Prof. Aldo Caporossi, il cui ruolo è stato fondamentale nel trasformare la procedura da una metodica empirica ad una metodica standardizzata.

Attualmente esistono diversi protocolli a cui il medico può fare riferimento, il protocollo standard nato nel 1998 è il protocollo di Dresda, tale procedura nasce come procedura Epi- Off, quindi prevede l'asportazione dell'epitelio prima dell'irradiazione corneale, successivamente viene somministrata la riboflavina goccia a goccia sulla cornea, per poi esporla alla radiazione UVA. L'epitelio induce un effetto schermo, non permettendo alla radiazione ultravioletta di penetrare nello stroma corneale profondo: infatti se già l'epitelio da solo assorbe oltre il 30% della radiazione UVA, quando esso è imbibito di riboflavina arriva ad assorbire oltre l'85% della radiazione, non permettendo di esercitare il suo effetto in maniera adeguata.

L'epitelio assume anche un effetto barriera nel passaggio di composti di peso molecolare superiore ai 100 Dalton e la Rf ha un peso molecolare di 376.4 Dalton, non garantendo la presenza di un'adeguata concentrazione stromale di riboflavina durante la radiazione, prerequisito essenziale per un effetto crosslinkante efficace.

Tuttavia la rimozione dell'epitelio comporta una serie di svantaggi, ovvero un aumento del dolore post-operatorio, un ritardo del recupero visivo e un aumento del rischio di infezioni.

Alcuni protocolli, invece attuano una procedura Epi-On, la quale non prevede la rimozione dell'epitelio e la profondità del trattamento (dermacation line) dopo l' Epi-On si presenta più superficiale, variabile e disomogenea e non supera i 100  $\mu\text{m}$  di profondità, quindi adatto a pazienti con cornee sottili. La dermacation line, invece dopo il trattamento Epi-off si presenta più omogenea, raggiungendo una profondità di trattamento fino a 340  $\mu\text{m}$ .

Il protocollo Dresda prevede i seguenti step:

1. Pre-medicazione: 30 minuti prima dell'intervento instillazione di una goccia di policarpica collirio nell'occhio da trattare
2. Anestesia topica in collirio e posizionamento del blefarostato
3. Disepitelizzazione corneale: rimozione dell'epitelio 8-9 mm di diametro con la spatola
4. Installazione di una goccia di collirio di anestetico topico sullo stroma
5. Applicazione di una soluzione di 0,1% di riboflavina-5-fosfato e 20% di destrano T500
6. Esposizione della cornea ai raggi UVA di lunghezza d'onda uguale a 370 nm per 30 minuti a potenza di 3  $\text{mW}/\text{cm}^2$  e diametro del fascio di 9 mm, che trasferisce 5.4  $\text{J}/\text{cm}^2$  di energia totale.

La radiazione UVA potrebbe provocare danni allo strato endoteliale, per tal motivo è necessario mantenere un continuo film precorneale di riboflavina, che schermi i raggi.

I limiti sono la lunga durata del trattamento e la necessità di uno spessore corneale di almeno 400  $\mu\text{m}$ , nel caso in cui questo requisito non sia soddisfatto è possibile gonfiare la cornea con una soluzione ipotonica.



*Figura 66: L'occhio viene tenuto aperto attraverso il blefarostato e viene somministrata goccia-goccia la Rf su una cornea disepitelizzata [63].*

Nel corso degli anni si sono sviluppati nuovi protocolli per far fronte alle barriere poste dal protocollo standard, tra cui troviamo il Cross-Linking transepiteliale (teCXL), accelerato (A-CXL) e la iontoforesi (I-ON CXL).

Il Cross-Linking Epi-On transepiteliale (teCXL) si basa sull'impiego di enhancer, ovvero sostanze con il compito di provocare una parziale o completa interruzione della barriera epiteliale, consentendo l'incremento di passaggio di Rf nella cornea. Si passa a un'asportazione chimica dell'epitelio, l'enhancer più utilizzato è Ribocross.

I protocolli accelerati Epi-off si attengono alla legge di Bunsen-Roscoe, che teorizza che il processo fotochimico alla base del CXL dipende dalla quota di energia UVA assorbita, quindi il trattamento produrrebbe gli stessi effetti aumentando l'intensità del fascio UVA e riducendo in proporzione la durata. È possibile ottenere la stessa dose di energia  $5.4 \text{ J/cm}^2$  usando una radiazione continua di  $3 \text{ mW/cm}^2$  per 30 minuti, protocollo Dresda oppure di  $9 \text{ mW/cm}^2$  per 10 minuti o di  $18 \text{ mW/cm}^2$  per 5 minuti, protocolli accelerati. Tuttavia un tempo ridotto non consente un'adeguata diffusione intrastromale dell'ossigeno, riducendo l'effetto linkante e per fronte a questo problema si potrebbe utilizzare una illuminazione pulsata, che migliora la diffusione dell'ossigeno stesso.

La iontoforesi (I-ON CXL) è una tecnica mininvasiva Epi-On che permette di veicolare efficacemente e rapidamente all'interno della cornea le molecole di riboflavina dotate di carica negativa, sfruttando corrente continue a basso voltaggio. La corrente elettrica viene generata attraverso un piccolo generatore, il quale crea una differenza di potenziale tra il polo positivo del circuito (anodo) e quello negativo (catodo) in modo tale che gli ioni possono muoversi in direzione opposta a quella della loro carica. Mediante la iontoforesi si ottengono concentrazioni di molecole all'interno dei tessuti notevolmente maggiori rispetto a quelle ottenute con la semplice applicazione.

La procedura si esegue in anestesia topica, il circuito elettrico si compone di un generatore di corrente elettrica connesso a due elettrodi. L'elettrodo negativo è la griglia metallica del diametro di 8 mm, inserita in un device che aderisce alla cornea del paziente con un meccanismo di suzione. L'elettrodo positivo è posizionato all'interno di un cerotto applicato sulla fronte. Il device posizionato sull'occhio del paziente viene riempito con una soluzione di riboflavina, assicurandosi che l'intera griglia metallica sia completamente ricoperta, dopo di che viene attivato il generatore di corrente

continua settato alla potenza di 1 mA. Si crea una differenza di potenziale tra i due elettrodi permettendo alla Rf di penetrare uniformemente nella cornea, questa è la fase di assorbimento. A questa fase si aggiunge la fase di irraggiamento, dove la cornea viene sottoposta ad irraggiamento per 9 minuti tramite un emettitore UVA alla potenza di  $10 \text{ mW/cm}^2$  per una dose totale di  $5.4 \text{ J/cm}^2$  nel caso di un protocollo accelerato oppure 30 minuti di irraggiamento per una potenza pari a  $3 \text{ mW/cm}^2$  per il protocollo standard. Alla fine del processo viene applicata una lente a contatto terapeutica, che verrà rimossa entro 3-5 giorni [31].

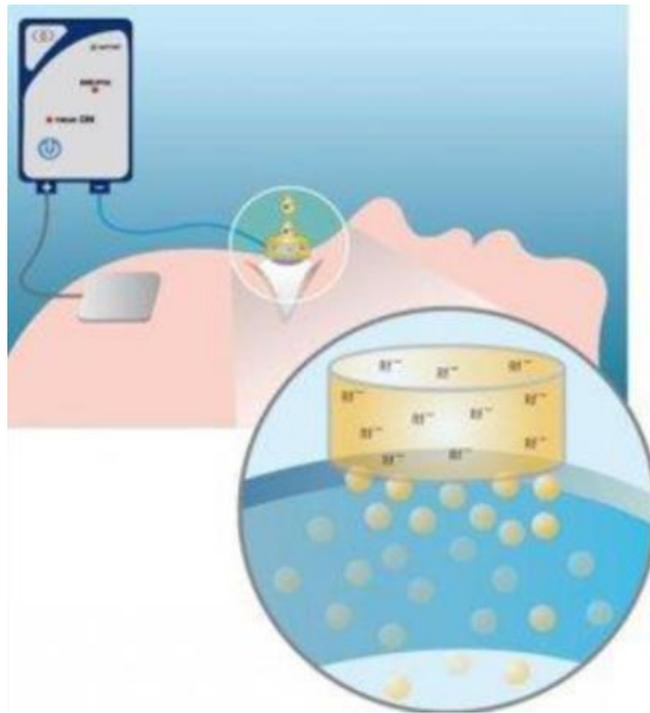


Figura 67: Illustrazione della procedura di iontoforesi [64].

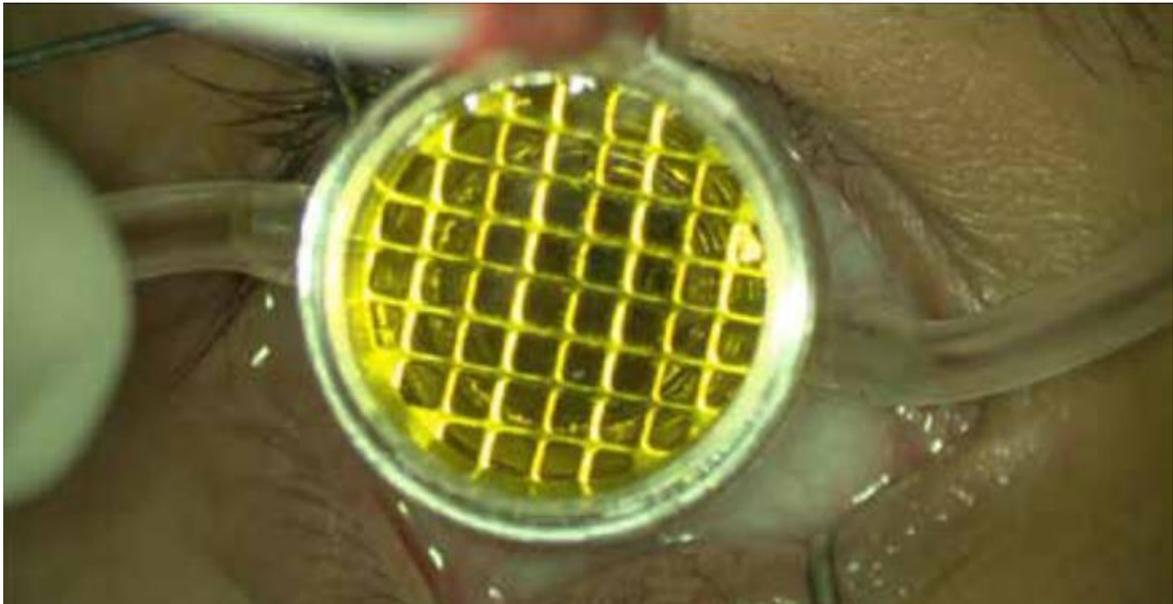
## 4.5 Trattamenti di Cross-Linking effettuati presso l'Azienda Ospedaliera Nazionale SS. Antonio e Biaggio e Cesare Arrigo di Alessandria

La dottoressa Astori e la sua equipe medica presso l'Azienda Ospedaliera Nazionale SS. Antonio e Biaggio e Cesare Arrigo di Alessandria in base all'età e allo spessore corneale del paziente attua il trattamento più idoneo per il paziente stesso:

- il trattamento **EPI-OFF** è idoneo per pazienti con età inferiore ai 20 anni e con spessore corneale maggiore di  $450 \mu\text{m}$ . Prevede la rimozione dell'epitelio, l'imbibizione per sgocciolamento per 15 minuti di una soluzione di riboflavina 0.1% (Ricrolin+) e trometamolo, enancher che ha il compito di facilitare la penetrazione della vitamina.

Successivamente la cornea viene irradiata con intensità continua attraverso l'emettitore VEGA CBM X-LINKER, il quale emette una radiazione UVA con lunghezza d'onda di  $370 \pm 5 \text{ nm}$  e potenza  $10 \text{ mW/cm}^2$  per 9 minuti, per una dose complessiva di  $540 \text{ J/cm}^2$ .

- il trattamento **EPI ON IONTOFORESI** è idoneo per pazienti con età maggiore di 20 anni e con spessore corneale compreso tra 350 e 450  $\mu\text{m}$ . Non è previsto la rimozione dell'epitelio, l'imbibizione nella cornea viene effettuata per attrazione in elettroforesi del farmaco tramite due poli, uno situato sulla fronte del paziente e l'altro adesivo sull'occhio da trattare. Quest'ultimo è composto da un griglia metallica inserita all'interno di un anello in gomma, dentro viene iniettata una soluzione di riboflavina 0.1% (Ricrolin+) e tromentolo. La procedura dura 5 minuti.



*Figura 68: Polo adesivo sull'occhio del paziente da trattare [31].*

Successivamente la cornea viene irradiata con intensità continua attraverso l'emettitore VEGA CBM X-LINKER, il quale emette una radiazione UVA con lunghezza d'onda di  $370 \pm 5$  nm e potenza  $10 \text{ mW/cm}^2$  per 9 minuti, per una dose complessiva di  $540 \text{ J/cm}^2$ .

- il trattamento **EPI ON IONTO PLUS**, idoneo per tutti i pazienti, non prevede la rimozione dell'epitelio, l'imbibizione nella cornea viene effettuata per attrazione in elettroforesi del farmaco tramite due poli, uno situato sulla fronte del paziente e l'altro adesivo sull'occhio da trattare. Quest'ultimo è composto da un griglia metallica inserita all'interno di un anello in gomma, dentro viene iniettata una soluzione di riboflavina 0.1% (Ricrolin+) e tromentolo. La procedura dura 5 minuti.

Successivamente la cornea viene irradiata con intensità pulsata attraverso l'emettitore CFX-LINKER, il quale emette una radiazione pulsata UVA con lunghezza d'onda di  $370 \pm 5$  nm e potenza  $18 \text{ mW/cm}^2$  per 1 secondo on e un secondo off per un totale di 12 minuti 56 secondi e dose complessiva di  $540 \text{ J/cm}^2$ .

## 4.6 Tipi di dispositivi e di macchine

Nel caso di I-ON CXL i device utilizzati sono:

1. Patch da posizionare sulla fronte del paziente che funge da anodo positivo
2. Anello in gomma, che aderisce alla cornea del paziente, in cui è inserita una griglia metallica di diametro di 8 mm che è il polo negativo

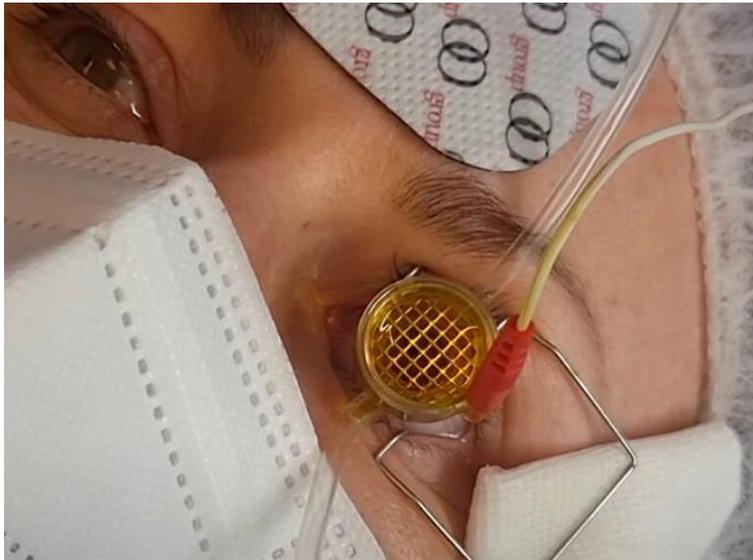


Figura 69: Anello di gomma e la griglia metallica adesa alla cornea del paziente attraverso il meccanismo di suzione, blefarostato che tiene l'occhio aperto, in giallo la riboflavina e in alto il patch posizionato sulla fronte [65].

3. Generatore di iontoforesi, il quale è fornito di un segnale acustico per avvertire gli operatori sanitari in caso di problematiche durante il trattamento.

Nello schermo del generatore sono presenti tre righe:

- nella prima riga è possibile leggere gli ampere totali forniti in real time
- al centro si vedono l'ampere erogato
- nell'ultima riga, la percentuale d'avanzamento dell'operazione



Figura 70: Generatore di iontoforesi [66].

4. Siringa al cui interno si trova una soluzione di riboflavina e trometamolo, enhancer che ha il compito di facilitare la penetrazione della vitamina

Durante lo svolgimento della tesi magistrale, il Dipartimento di Oculistica dell'Azienda Ospedaliera Nazionale SS. Antonio e Biagio e Cesare Arrigo di Alessandria disponeva dell'emettitore CSO VEGA CBM X LINKER che eroga attraverso un diodo a led nel campo ultravioletto a intensità continua, non consente di personalizzare il trattamento in base al paziente, infatti non eroga intensità pulsata ed è quindi privo della funzione custom.



Figura 71: VEGA CBM X-LINKER [67].

Il dispositivo VEGA CBM X-LINKER è composto da una microtelecamera a colori integrata nella testa ottica (7) che permette di osservare in real time il corretto svolgimento del trattamento chirurgico sul monitor (1). È dotato di un braccio snodabile (2) con manopola di bloccaggio (5) provvisto di base (3), stativo su ruote (4) e un comando a pedale (6).

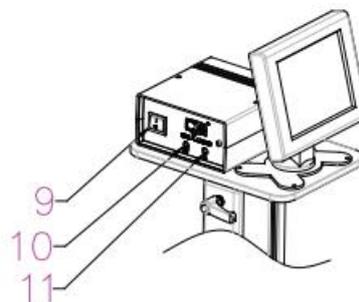


Figura 72: Control box [68].

Dietro al monitor si trova il control box, composto da un interruttore generale ON/OFF (9), spia di emissione UVA a luce gialla (10), spia di guasto a luce rossa (11).

L'emissione UVA parte dalla testa ottica (7), che eroga luce ultravioletta alla lunghezza d'onda di 370 nm in modalità fissa a potenza di  $10 \text{ mW/cm}^2 \pm 10\%$  di tolleranza, verificata prima di ogni intervento con l'apposito misuratore (8).

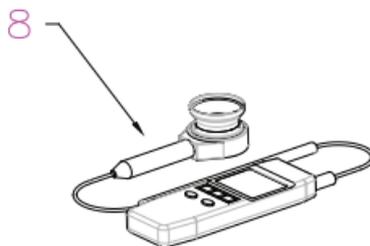


Figura 73: Misuratore di UVA [68].

L'area da irraggiare corneale è modulabile con diametro aggiustabile nel range 4-11 mm tramite una manopola [68], [69].

È previsto che l'emettitore dell'Azienda Ospedaliera Nazionale SS. Antonio e Biagio e Cesare Arrigo di Alessandria irradi un'area circolare corneale di diametro 9 mm con raggi UVA a lunghezza d'onda  $370 \pm 5 \text{ nm}$  per 9 minuti con potenza di  $10 \text{ mW/cm}^2$ , permettendo di ottenere una dose complessiva di  $5.4 \text{ J/cm}^2$ .

Lo svantaggio è l'impossibilità di customizzare il trattamento, potendo erogare solo in modalità continua sorgono delle problematiche esclusivamente durante l'intervento Epi-Off, in cui lo stroma disepitelizzato è maggiormente esposto al calore con la possibilità che la cornea disidratandosi diventi più bianca e sottile. Invece un dispositivo che è provvisto anche di modalità pulsatile evita la disidratazione della cornea, permettendo a quest'ultima di raffreddarsi durante le fasi di spegnimento.

Il dispositivo provvisto di modalità pulsatile è il CFX-LINKER, il quale irradia la cornea con luce UVA in modalità continua o pulsata a lunghezza d'onda 365 nm ed è indicata per cornee con almeno spessore minimo di  $300 \mu\text{m}$ . Permette, grazie alla sua versatilità, di customizzare il trattamento in base allo specifico quadro clinico del paziente, sia nella durata che nella modalità di irraggiamento (continua/pulsata). È composto da un monitor touch screen da 10 pollici con risoluzione  $1920 \times 1200$ , da una testa ottica al cui interno è inserita una telecamera a colori e bullseye che livella il raggio UVA in uscita e da un braccio con estensione raggiungibile 110 cm. Il device è dotato di un software in grado di connettersi via wireless per un supporto remoto efficace ed immediato e permette di salvare su dispositivi USB esterni i dati relativi al profilo clinico del paziente.

Il CFX-LINKER consente di selezionare diversi protocolli terapeutici:

- EPI OFF: DRESDA
- Iontoforesi: Standard o Plus
- EPI ON: CUSTOM FAST, in cui il software calcola i parametri del trattamento su misura per il paziente, basandosi su un modello matematico che sfrutta i dati topografici e pachimetrici prelevati dalla cornea da trattare.
- CXL per il trattamento delle cheratiti
- Emissione UV continua o pulsata [70]

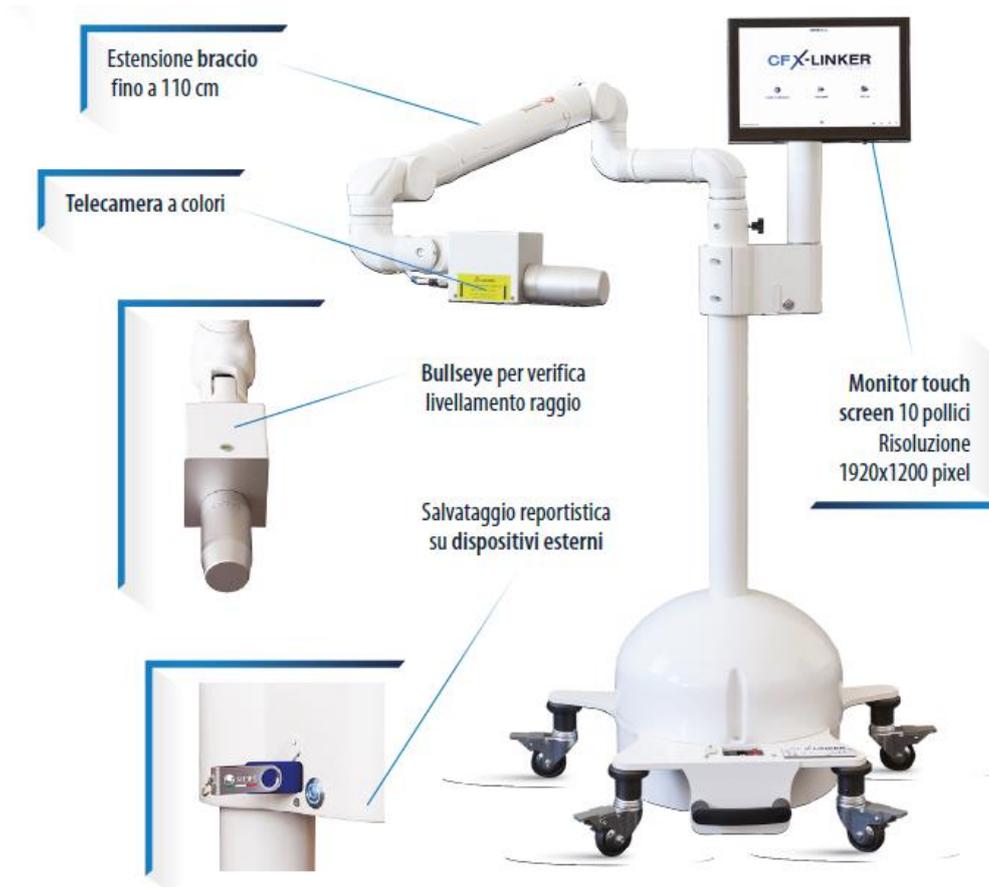


Figura 74: CFX-LINKER [70].

		DISEPITELIZZAZIONE	IMBIBIZIONE		IRRAGGIAMENTO	
			MODALITÀ	DURATA	INTENSITÀ	DURATA
DRESDA		✓	passiva	30'	3 mW luce continua	30'
IONTOFORESI	STANDARD	-	iontoforesi	5'	10 mW luce continua	9'
	PLUS*	-	iontoforesi	5'	18 mW luce pulsata 1on/off	12'
CUSTOM FAST		-	passiva	15'	secondo valori topo-pachimetrici	
CHERATITI		-	passiva	2'	customizzabile	
PRESET		full custom				

\*Selezionabile da modalità "Preset"

Figura 75: Protocolli terapeutici selezionabili [70].

È previsto che l'emettitore dell'Azienda Ospedaliera Nazionale SS. Antonio e Biagio e Cesare Arrigo di Alessandria irradi un'area circolare corneale di diametro 9 mm con raggi UVA a lunghezza d'onda  $370 \pm 5$  nm a potenza  $18 \text{ mW/cm}^2$  per 1 secondo on e un secondo off per un totale di 12 minuti 56 secondi e dose complessiva di  $540 \text{ J/cm}^2$ .

# CAPITOLO 5: Indici topografici

## 5.1 Indici topografici

Il topografo corneale è un esame diagnostico che restituisce a schermo non solo le mappe corneali affiancate alle scale cromatiche, ma anche gli indici topografici. Essi sono valori numerici che permettono un'analisi quantitativa dei dati ottenuti dalla topografia [71], rendendo di facile interpretazione le mappe corneali colorimetriche. Forniscono informazioni sulla curvatura, irregolarità ed asimmetria della superficie anteriore e posteriore della cornea.

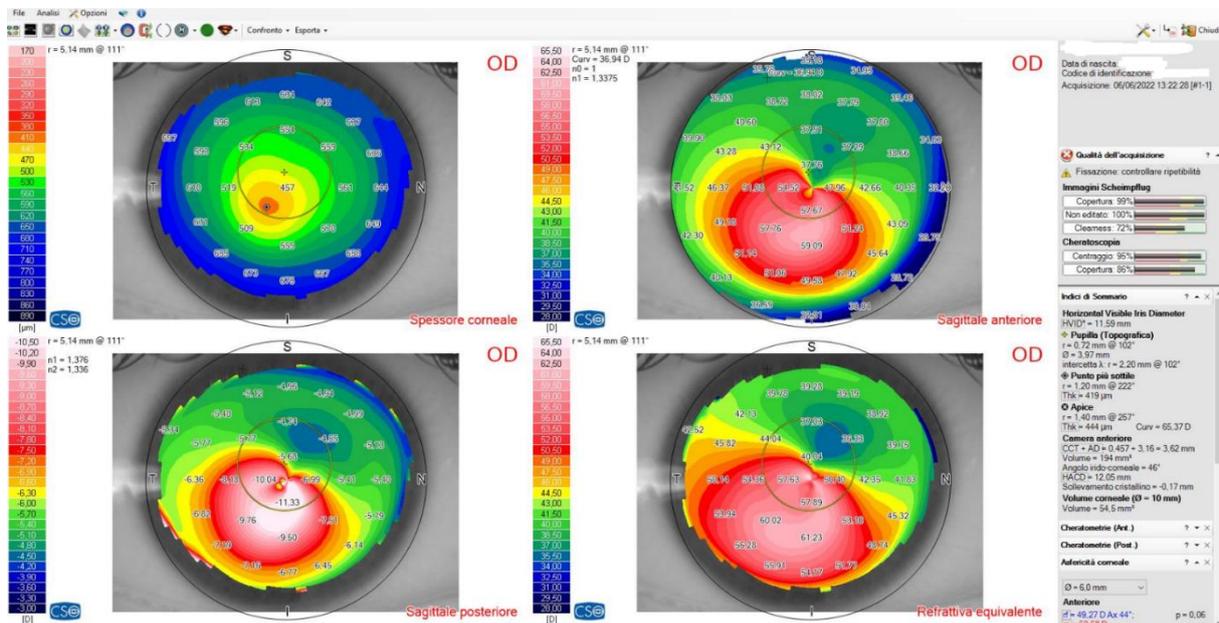


Figura 76: Schermata d'acquisizione di un topografo con i relativi indici topografici riferiti all'occhio destro di un paziente di 30 anni di 4 stadio.

Nell'immagine viene mostrata la tipica schermata d'acquisizione di un topografo con i relativi indici topografici divisi in indici di sommario, keratometrie, asfericità corneale, analisi refrattiva e screening di cheratocono.

Tra gli indici di sommario si può trovare:

- **HVID: Horizontal Iris Visible Diameter** è il diametro orizzontale in millimetri dell'iride.
- **Pupilla:** fornisce il centro e il diametro della pupilla nel momento dell'esame, può essere espresso sia in coordinate polari come nel caso della figura a fianco o in coordinate cartesiane.
- **Punto più sottile:** restituisce la posizione in coordinate polari o cartesiane del punto più sottile della cornea e il suo valore in µm.
- **Apice:** calcola dalla mappa tangenziale anteriore la posizione in coordinate polari o cartesiane e la curvatura in diottrie del punto più curvo.



Figura 77: Indici di sommario relativi all'occhio destro di un paziente di 30 anni di 4 stadio.

- **Camera anteriore:** nella sezione della camera anteriore si trovano diversi parametri, tra cui il **CCT+AD** che è la somma in millimetri tra il **Central Corneal Thickness** e l'**Anterior Chamber Depth**. Il **Central Corneal Thickness** corrisponde alla distanza tra la superficie anteriore e quella posteriore della cornea nel punto centrale della cornea stessa. Mentre l'**Anterior Chamber Depth** è la distanza tra camera anteriore e il cristallino. L'**Angolo irido-corneale** è il valore medio dell'angolo irido-corneale sui meridiani. **HACD**, invece è il diametro orizzontale della camera anteriore, calcolato come distanza media sui meridiani dei vertici degli angoli irido-corneali.
- **Volume corneale:** volume in millimetri cubici della camera anteriore.

Le **cheratometrie** misurano le curvature della superficie anteriore e posteriore della cornea per i diametri corneali a 3 mm, a 5 mm e a 7 mm e gli indici di riferimento principali di monitoraggio del cheratocono sono **K1**, **K2**, **Agv** e **Cyl**.

Cheratometrie		n0 = 1 n1 = 1,3375	Cheratometrie		n1 = 1,376 n2 = 1,336
Sim-k	K1 = 45,46 D @ 55° K2 = 50,41 D @ 145° Avg = 47,81 D Cyl = -4,95 D Ax 55°		Posteriore Ø=3mm	K1 = -6,59 D @ 47° K2 = -8,49 D @ 137° Avg = -7,42 D Cyl = +1,90 D Ax 47°	
Anteriore Ø=3mm	K1 = 44,50 D @ 58° K2 = 53,75 D @ 148° Avg = 48,69 D Cyl = -9,25 D Ax 58°		Posteriore Ø=5mm	K1 = -6,54 D @ 48° K2 = -7,50 D @ 138° Avg = -6,99 D Cyl = +0,96 D Ax 48°	
Anteriore Ø=5mm	K1 = 45,08 D @ 57° K2 = 50,98 D @ 147° Avg = 47,85 D Cyl = -5,91 D Ax 57°		Posteriore Ø=7mm	K1 = -6,56 D @ 53° K2 = -6,92 D @ 143° Avg = -6,73 D Cyl = +0,36 D Ax 53°	
Anteriore Ø=7mm	K1 = 45,04 D @ 57° K2 = 48,87 D @ 147° Avg = 46,88 D Cyl = -3,83 D Ax 57°				

Figura 78: Cheratometrie visualizzate sulla schermata del topografo Sirius relative ad un occhio sinistro [18]

- **K1:** è il valore medio in millimetri di curvatura del meridiano più curvo indicato in gradi.
- **K2:** è il valore medio in millimetri di curvatura del meridiano più piatto indicato in gradi.
- **Agv:** rappresenta la curvatura media in millimetri dei meridiani principali.
- **Cyl:** ovvero toricità corneale è la differenza in diottrie fra K1 e K2.

Il topografo riporta gli stessi valori cheratometrici a 3 mm, a 5 mm e 7 mm anche per la superficie posteriore della cornea.

Nella sezione **asferità corneale** vengono mostrati a video diversi indici di forma per la superficie anteriore e posteriore su due diametri corneali, uno a 6 e l'altro a 8 mm, i quali vanno ad individuare due zone, una zona centrale e una periferica.

- **rf** è il raggio di curvatura apicale del meridiano più piatto della superficie corneale.
- **rs** è il raggio di curvatura apicale del meridiano più curvo della superficie corneale.
- **P** rappresenta il fattore di forma che fornisce informazioni sul grado di flattening della curva dall'apice alla periferia. Esso è il rapporto quadratico tra il semiasse minore e il semiasse maggiore corneale.
- **RMS/A**, ovvero il Root mean square per unità di superficie descrive quanto la superficie corneale in esame si discosta dalla superficie asfero-torico di best-fit. Valori di RMS/A alti esprimono che la superficie della cornea è irregolare, infatti il triangolo rosso di fianco ai valori di RMS/A indica la presenza di un'anomalia.

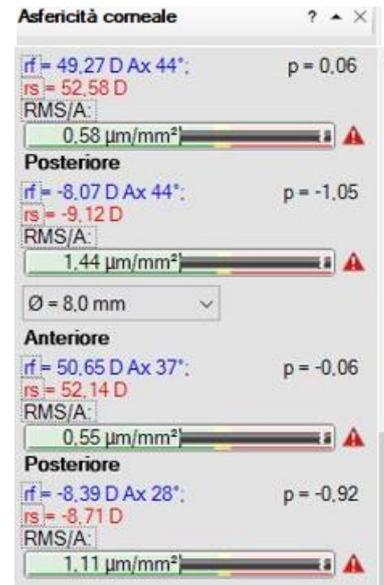


Figura 79: Asfericità corneale relativi all'occhio destro di un paziente di 30 anni di 4 stadio.

Dall'analisi refrattiva si possono estrarre i seguenti parametri:

- **Cyl**, il Cilindro corneale espresso in diottrie, quantifica la differenza di curvatura tra il meridiano più piatto e più curvo, a causa dell'irregolarità della superficie corneale. Inoltre viene indicato il meridiano che necessita di una correzione maggiore.
- **Potere Pupillare Medio** espresso in diottrie.
- **LSA**, ovvero l'aberrazione sferica longitudinale in diottrie, la quale descrive la distanza tra il punto di fuoco reale dei raggi luminosi rispetto al punto di fuoco ideale.



Figura 80: Analisi refrattiva relativa all'occhio destro di un paziente di 30 anni di 4 stadio.

Il topografo riporta inoltre indici importanti per lo **screening del cheratocono**, tra cui **S1f** e **S1b** basate sulla curvatura corneale.

Screening del cheratocono	
▲	S1f = 16,08 D
■	KVf = 73 $\mu\text{m}$
▲	BCVf = 7,69 D @ 239°
▲	S1b = 4,54 D
◆	KVb = 190 $\mu\text{m}$
▲	BCVb = 8,99 D @ 225°
▲	Thk = 401 $\mu\text{m}$
Classe:	
Compatibile con cheratocono	

Figura 81: Indici di screening del cheratocono relative ad un occhio sinistro [18].

- **Slf**, ovvero **Simmetry Index front** descrive la simmetria in diottrie della curvatura anteriore, la mappa tangenziale anteriore viene divisa da due zone circolari centrate nell'asse verticale poste una nell'emisfero inferiore e l'altra nell'emisfero posteriore e vengono calcolati i valori medi delle curvature all'interno di ciascuna zona circolare. Successivamente viene eseguita la differenza tra questi due valori ottenendo in questo modo il Slf. Slf positivi individuano un emisfero inferiore più curvo di quello superiore, Slf negativi invece, denotano un emisfero superiore più curvo di quello inferiore.
- **Slb**, ovvero **Simmetry Index back** descrive la simmetria in diottrie della curvatura posteriore, la mappa tangenziale posteriore viene divisa da due zone circolari centrate nell'asse verticale poste una nell'emisfero inferiore e l'altra nell'emisfero posteriore e vengono calcolati i valori medi delle curvature all'interno di ciascuna zona circolare. Successivamente viene eseguita la differenza tra questi due valori ottenendo in questo modo il Slb.
- **KVf**, ovvero il **Keratoconus Vertex front** rappresenta il punto più elevato della cornea nella superficie anteriore.
- **KVb**, ovvero il **Keratoconus Vertex back** rappresenta il punto cheratoconico più elevato nella superficie posteriore.
- **BCV**, ovvero il **Baiocchi Calossi Versaci front Index** individua l'esistenza e la posizione attraverso un'analisi aberrometrica di un'ectasia corneale.
- **Thk**, ovvero la **Thickness** corrisponde allo spessore in  $\mu\text{m}$  della cornea.

## 5.2 Indici e screening per il cheratocono sub-clinico

Il cheratocono è una patologia oculare eredo-familiare degenerativa, a carattere progressivo e non infiammatorio, dovuta ad una anomalia strutturale del collagene che compone lo stroma corneale [31]. È di fondamentale importanza una tempestiva rilevazione della patologia, attualmente esistono diversi indici che identificano la presenza del cheratocono e quantificano la gravità della patologia stessa. Tra questi troviamo **I-S index** espresso in diottrie, il quale viene calcolato dalla mappa assiale come differenza tra la media dei cinque valori estratti dall'emicornea superiore e il valore medio dei cinque valori ricavati dall'emicornea inferiore. Per l'emicornea inferiore i valori vengono estratti dall'intersezione fra un anello di raggio 3 mm e i meridiani a 30°, 60°, 90°, 120° e 150°, per l'emicornea superiore i valori vengono ricavati dall'intersezione fra un anello di raggio 3 mm e i meridiani a 210°, 240°, 270°, 300° e 330°.

Se I-S index è superiore a 1.4 D si è in presenza di un cheratocono sub-clinico, se il valore eccede 1.9 D è associato ad uno stadio avanzato di cheratocono accompagnati spesso anche dagli anelli di Fleischer.

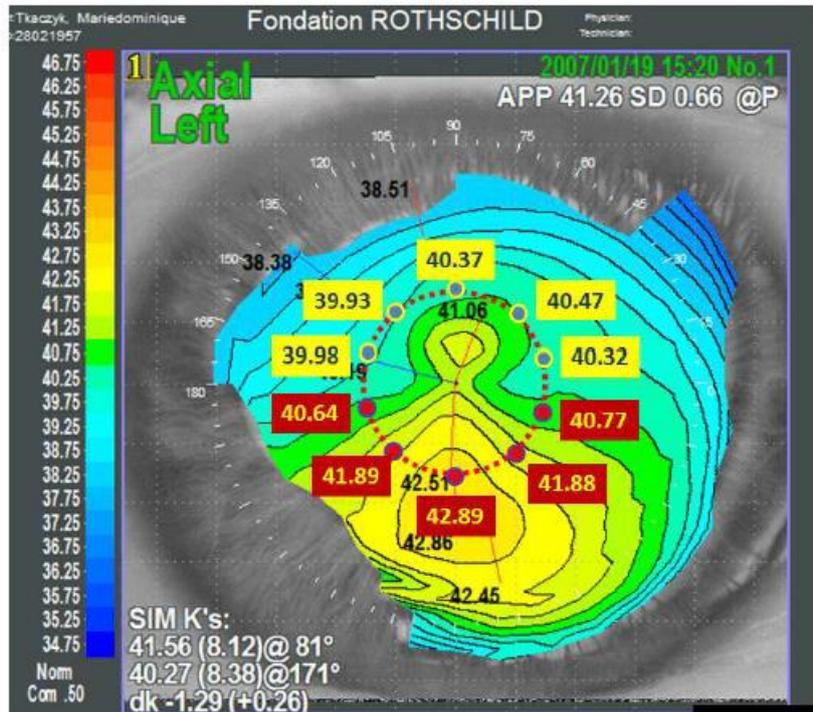


Figura 82: Dimostrazione visiva del calcolo che viene effettuato per I-S index [71].

Il **SRAX**, ovvero **Skewed Radial Axes** è un angolo tra i due semimeridiani più ripidi situati rispettivamente uno sopra e uno sotto al meridiano orizzontale.

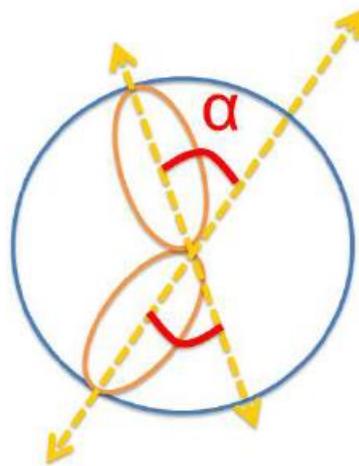


Figura 83: il SRAX [71].

Il **Simulated Keratometry** e il **Simulated Kerametric cylinder** sono degli indici correlati alla toricità della superficie corneale.

Il **Simulated Keratometry** è il potere medio cheratometrico definito come il rapporto tra il meridiano più ripido e quello più piatto:  $\text{SimK1}/\text{SimK2}$ . La potenza per ciascun meridiano è una potenza media misurata all'interno di anelli circolare di raggio 7, 8 e 9 mm.

Il **Simulated Kerametric cylinder**, **CYL** è la differenza tra il meridiano più ripido  $\text{SimK1}$  e quello più piatto  $\text{SimK2}$ .

Il **Coefficiente di Variazione** e la **Deviazione Standard del Potere corneale** sono indici correlati alla variazione della potenza corneale. Il potere ottico non è costante su tutta la cornea, per questo attraverso il **SDP**, ovvero la **Deviazione Standard del Potere corneale** viene calcolato la deviazione standard della potenza corneale.

Il **CVP** ovvero il **Coefficiente di Variazione del Potere corneale** invece mostra quanto è variabile il potere cheratometrico normalizzato rispetto alla potenza media.

$$CVP = \frac{1000 \times SDP}{potenza\ media\ totale\ corneale} \quad (20)$$

Il CVP dipende da SDP e dalla potenza media totale della cornea.

Il **CES** è l'**indice di eccentricità della cornea** ed è legato al grado di asfericità corneale.

Il Differential Sector Index, Surface Regularity Index, Area compensated Surface Regularity Index, Surface Asymmetry Index, Irregular Astigmatism Index, Opposite Sector Index e Centre-Surround Index sono indici correlati alla variazione di asimmetria e irregolarità della superficie corneale.

La superficie della cornea viene divisa in otto settori, l'uno l'altro distanti 45°, per ciascun settore viene calcolato il potere medio cheratometrico e l'indice **DSI**, ovvero il **Differential Sector Index** è la più grande differenza tra tutte le coppie possibili, un valore alto indica la presenza di una curvatura asimmetrica [71]. Il cut-off per il rilevamento del cheratocono è 3.26 D e il valore di cut-off per il rilevamento del pre-cheratocono è 1.73 D [72].



Figura 84: Dimostrazione grafica del calcolo dell'indice Differential Sector [71].

La superficie della cornea viene divisa in otto settori, l'uno l'altro distanti 45°, per ciascun settore viene calcolato il potere medio cheratometrico e l'Opposite Sector Index (OSI) è uguale alla massima differenza tra due settori opposti [71]. Il cut-off per il rilevamento del cheratocono è 2,04 D e il valore di cut-off per il rilevamento del pre-cheratocono è 1,85 D [72].

## OSI

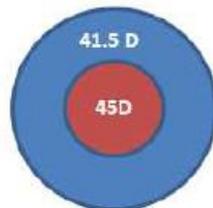


$$\text{OSI} = 48 - 41.5 = 6.5 \text{ D}$$

Figura 85: Calcolo dell'OSI [71].

Il **Centre-Surround Index (CSI)** è la differenza tra la potenza media corneale fra la zona centrale di diametro di 3 mm e la corona circolare composta da diametro interno 3 mm e diametro esterno 6 mm [71]. Il cut-off per il rilevamento del cheratocono è 0.7 D e il valore di cut-off per il rilevamento del pre-cheratocono è 0.9 D [72].

## CSI



$$\text{CSI} = 45 - 41.5 = 3.5 \text{ D}$$

Figura 86: Calcolo del CSI [71].

Il **Surface Regularity Index (SRI)** è legato all'irregolarità della cornea, un valore elevato di SRI presuppone una diminuzione della regolarità della superficie corneale, indice di patologia.

Esso è calcolato come somma della variazione del potere locale su 256 settori equidistanti su 10 anelli centrali.

L'**Area compensated Surface Regularity Index (SRC)** è calcolato come SRI ma normalizzata rispetto all'area analizzata.

Il **Surface Asymmetry Index (SAI)** è la differenza tra la potenza cheratométrica di punti opposti su 128 meridiani.

L' **Irregular Astigmatism Index (IAI)** è un indice di variazione del potere della cornea tra ogni anello lungo un meridiano.

Il **Cone Location and Magnitude Index (CLMI)** consiste nel selezionare un'area di analisi di diametro 8 mm sulla mappa assiale o tangenziale, al cui interno viene individuata la circonferenza di diametro 2 mm più curva. Il CLMI è la differenza tra il valore medio di curvatura all'interno del cerchio e il valore medio di curvatura all'esterno del cerchio.

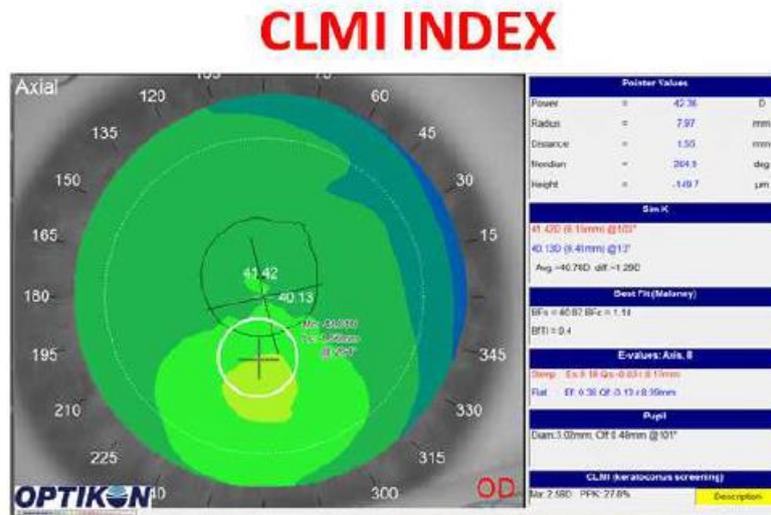


Figura 87: Cone Location and Magnitude Index [71].

In seguito vengono proposti degli indici calcolati attraverso il sistema Scheimpflug camera.

L' **Index of Surface Variance (ISV)** riflette l'irregolarità della curvatura della superficie anteriore della cornea. Fornisce informazioni sulla variazione della curvatura su tutta la cornea.

L' **index of Vertical Asymmetry (IVA)** riflette il grado di asimmetria tra la curvatura della superficie corneale superiore rispetto a quella inferiore. Fornisce informazioni sulla variazione della curvatura tra la parte superiore e inferiore.

Il **Keratoconus Index (KI)** è la combinazione di altri indici: DSI, OSI, CSI, SAI, IAI, AA, SimK1 e SimK2.

L' **Index of height asymmetry (IHA)** è calcolato come differenza tra l'elevazione media della cornea superiore rispetto all'elevazione media della cornea inferiore.

L' **Index of height decentration** rappresenta il grado di decentramento verticale dell'elevazione cornale, ovvero descrive quanto cambia l'elevazione corneale lungo la direzione verticale [71].

Comprendere i vari indici topografici e la loro ripetibilità può essere la chiave decisiva per la diagnosi precoce, la progressione e la gestione del cheratocono [72].

## 5.3 Analisi degli indici topografici estratti per il modello statistico

Il paziente affetto da cheratocono è caratterizzato da uno sfiancamento tissutale, dovuto ad assottigliamento conseguente all'indebolimento progressivo della cornea [18] e la terapia di Cross-Linking, consente di agire sulla reticolazione del collagene presente nello stroma, portando la cornea ad un rinforzo [31].

L'obiettivo di questa tesi magistrale è la valutazione dell'efficacia dell'intervento del Cross-Linking proponendo un nuovo indice, espresso attraverso una formula matematica, che analizzi il successo in percentuale del trattamento nel corso del tempo.

Sono stati estratti i dati di topografia corneale di 23 cornee di pazienti su un follow up di 6 mesi, presso il Dipartimento di Oculistica dell'Azienda Ospedaliera Nazionale SS. Antonio e Biaggio e Cesare Arrigo di Alessandria. Per quattro pazienti erano assenti i dati topografici riferiti al sesto mese. Sussistono alcune limitazioni cliniche dovute alla ridotta disponibilità dei dati presenti in archivio e sono stati acquisiti gli indici topografici delle cornee dell'occhio destro di pazienti di sesso sia femminile che maschile, di età compresa tra 17 e 71 anni con stadi di malattia differente.

La terapia è stata effettuata mediante o una procedura standard Epi-Off o Epi-On Iontoforesi o Epi-On Ionto Plus, come spiegato dettagliatamente nel paragrafo 4.5 del capitolo 4.

Dalle immagini topografiche sono stati estratti i valori prima dell'intervento, un mese dopo l'intervento e a sei mesi dall'intervento del **Kmax** della superficie anteriore, del **Kmax** della superficie posteriore, del **Thk** e del **Cyl** e successivamente sono stati elaborati su Microsoft Office Excel.

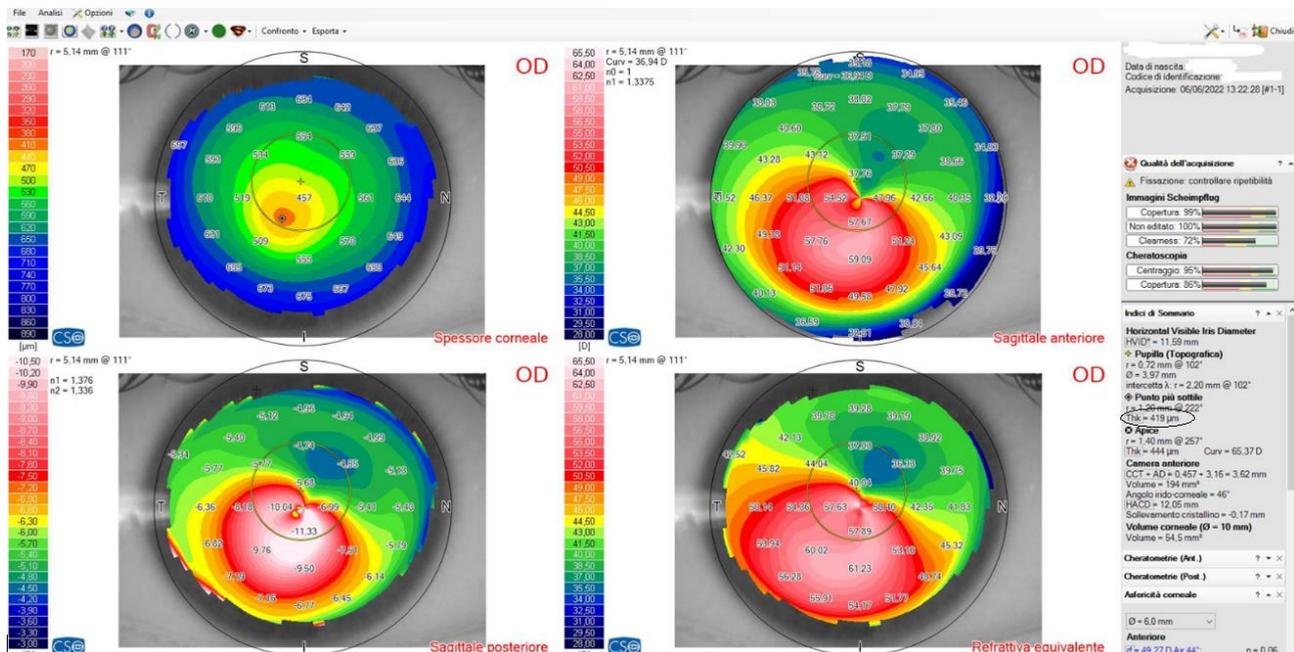


Figura 88: Indice topografici estratti da una cornea destra di un paziente di 30 anni di 4 stadio.

Il **Kmax** relativo alla **massima curvatura sagittale anteriore** è il parametro comunemente utilizzato per rilevare o documentare la progressione dell'ectasia ed è regolarmente impiegato come indicatore dell'efficacia del Cross-Linking. Epstein et al. asserisce che tale valore è un buon indicatore

per diagnosticare lo sviluppo della malattia, tuttavia ignora il contributo derivante dalla superficie posteriore e pertanto considerando anche quest'ultimo il Kmax relativo alla curvatura sagittale anteriore potrebbe cambiare o rimanere invariato [73].

Il Kmax è associato al punto più curvo della superficie corneale e per la superficie anteriore viene rilevato ponendo il cursore sulla mappa sagittale anteriore cercando il valore in diottrie più alto, mentre per la superficie posteriore il valore viene acquisito dalla mappa sagittale posteriore.

Il cut-off per il rilevamento del cheratocono è 47.2 D.

Per la descrizione dettagliata della mappa sagittale anteriore e posteriore si rimanda al paragrafo 4.2 del capitolo 4.

Lo **spessore della cornea (Thickness, Thk)** epiteliale di un soggetto non patologico ha un profilo significativamente distinto da un quello patologico, l'epitelio di un individuo sano è più spesso inferiormente che superiormente ed è leggermente più spesso nella direzione nasale che temporale. Al contrario, nell'occhio cheratoconico l'assottigliamento è localizzato nella zona infero-temporale circondato da un anello di epitelio più spesso (modello **epithelial doughnut**). Pertanto il profilo della Thk ha un variabilità maggiore nell'occhio patologico rispetto a quello sano. La combinazione di un profilo di thickness poco omogeneo insieme alla non eccentricità dell'apice corneale potrebbe essere usato per confermare o escludere una diagnosi di cheratocono in occhi dubbi, in cui la topografia è stata inconclusiva [74].

Lo **spessore della cornea** in micrometri è stato estrapolato nella sezione Indici di Sommario, punto più sottile, come si evince dalla Figura 88 cerchiato in nero. Il valore di cut-off per il rilevamento del cheratocono è 412  $\mu\text{m}$  [72].

Dalla mappa topografica dello spessore corneale (Figura 88) si evidenzia che le zone periferiche della cornea in blu coincidono con le aree della cornea più spesse, invece la zona più sottile in arancio-rosso si trova a circa 20  $\mu\text{m}$  di distanza dall'apice.

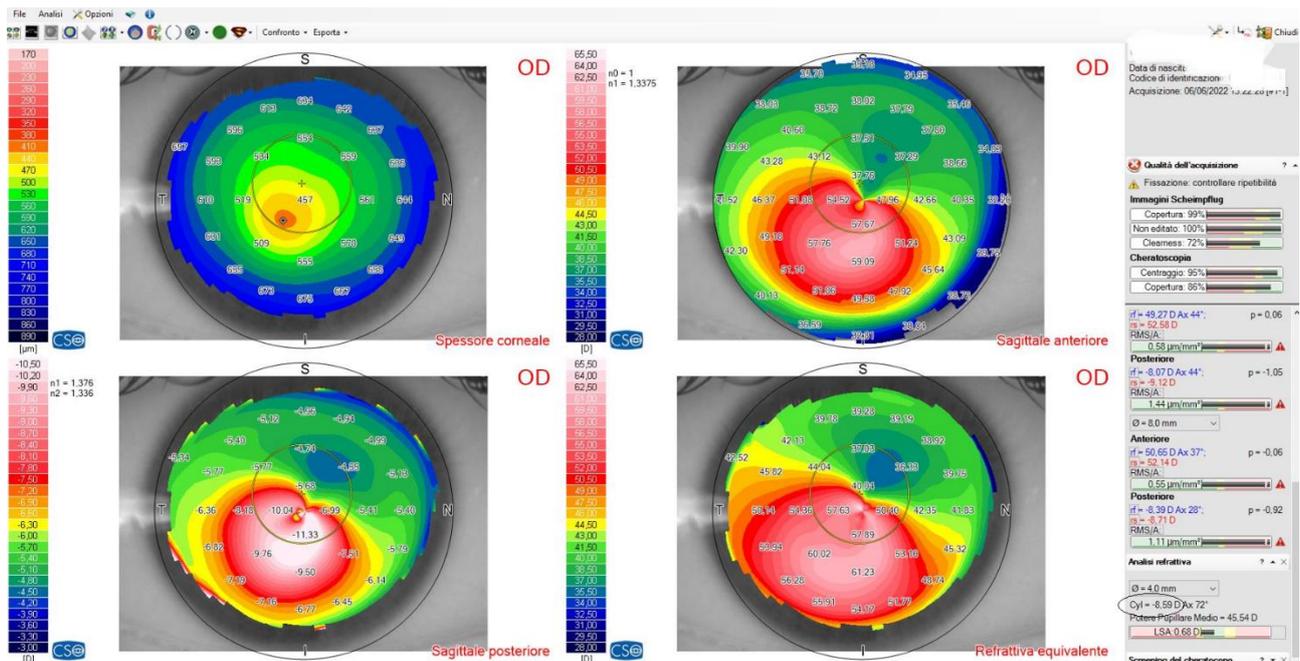


Figura 89: Indici topografici estratti da una cornea destra di un paziente di 30 anni di 4 stadio.

Il **Cilindro corneale (Cyl)** è stato ricavato dalla sezione analisi refrattiva, come si può osservare nella Figura 89 cerchiato in nero. Per la sua descrizione dettagliata si rimanda al paragrafo 5.1 del capitolo 5.

## 5.4 Analisi statistica degli indici topografici e risultati

Su Microsoft Office Excel sono stati riportati dei campioni statistici di indici topografici e sono stati confrontati attraverso il **T-Test a due campioni**, assumendo uguale varianza. Il T-Test a due campioni è un metodo utilizzato per verificare se le medie sconosciute della popolazione di due gruppi siano uguali o meno [75]. C'è una differenza significativa tra le medie dei campioni se è possibile rigettare l'ipotesi nulla, la quale afferma che le medie delle popolazioni dei due gruppi sono uguali. Attraverso il p-value, il quale varia tra 0 e 1, è possibile descrivere qual è probabilità di ricavare i valori medi ottenuti dei due campioni se fosse vera l'ipotesi nulla.

Se p-value è inferiore al 5% la differenza tra le medie dei campioni è significativa ed è poco probabile ricavare quei valori ottenuti dalle medie dei campioni se fosse vera l'ipotesi nulla.

Per ogni paziente è stata riportata l'età e lo stadio, il primo T-Test che è stato effettuato su Microsoft Office Excel è stato tra il Kmax estratto dalla superficie anteriore corneale prima dell'intervento e il Kmax derivato dalla superficie anteriore corneale 1 mese dopo l'intervento.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Kmax [D] Pre-intervento Superficie Anteriore Corneale	Kmax [D] a 1 mese dall'intervento Superficie Anteriore Corneale	Kmax [D] a 6 mesi dall'intervento Superficie Anteriore Corneale
1	17	4	58.94	48.48	57.44
2	26	1	47.21	47.07	47.08
3	21	2	48.28	49.93	47.51
4	48	4	55.25	55.26	55.38
5	71	4	55.78	55.65	55.67
6	32	4	47.68	61.85	61.80
7	31	3	53.11	52.89	54.30
8	26	3	53.51	53.88	53.62
9	28	2	52.32	51.60	52.12
10	31	1	47.81	50.39	47.94
11	30	2	51.14	51.59	50.69
12	47	3	48.29	49.81	49.01
13	27	3	54.85	53.21	53.46
14	54	2	48.41	48.44	48.57
15	33	1	47.95	47.65	46.80
16	40	1	52.35	53.65	52.72
17	46	1	47.89	47.97	48.14
18	25	2	52.97	52.70	52.44
19	40	2	50.40	53.15	49.20
20	30	4	61.23	62.68	-
21	27	2	47.80	50.00	-
22	29	4	63.29	60.85	-
23	20	4	59.39	59.26	-

Tabella 4: Massima curvatura sagittale anteriore prima, a 1 mese e a 6 mesi dall'intervento derivanti dalle mappe topografiche di 23 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria.

	<b>Kmax [D] Pre-intervento Superficie Anteriore Corneale</b>	<b>Kmax [D] a 1 mese dall'intervento Superficie Anteriore Corneale</b>
<b>Media</b>	52.43	52.95
<b>Varianza</b>	22.85	20.72
<b>Osservazioni</b>	23	23
<b>Varianza complessiva</b>	21.78	
<b>Differenza ipotizzata per le medie</b>	0.00	
<b>gdl</b>	44.00	
<b>Stat t</b>	-0.38	
<b>P(T&lt;=t) una coda</b>	0.3520	
<b>t critico una coda</b>	1.6802	
<b>P(T&lt;=t) due code</b>	0,7039	
<b>t critico due code</b>	2.0154	

*Tabella 5: Risultati del T-test tra il Kmax della superficie anteriore corneale prima dell'intervento e a 1 mese dall'intervento.*

Il p-value in questo caso è 0.3520, di conseguenza non è possibile concludere che tra il valore medio di Kmax relativo alla superficie anteriore prima e quello a 1 mese dall'intervento ci sia una differenza significativa.

Non si può affermare che l'operazione a un mese dall'intervento migliori il Kmax della superficie anteriore.

È stato eseguito il T-Test tra il Kmax della superficie anteriore corneale prima dell'intervento e il Kmax della superficie anteriore corneale a 6 mesi dall'intervento.

	<b>Kmax [D] Pre-intervento Superficie Anteriore Corneale</b>	<b>Kmax [D] a 6 mesi dall'intervento Superficie Anteriore Corneale</b>
<b>Media</b>	51.27	51.78
<b>Varianza</b>	11.78	16.30
<b>Osservazioni</b>	19	19
<b>Varianza complessiva</b>	14.04	
<b>Differenza ipotizzata per le medie</b>	0.00	
<b>gdl</b>	36.00	
<b>Stat t</b>	-0.42	
<b>P(T&lt;=t) una coda</b>	0.3377	
<b>t critico una coda</b>	1.688	
<b>P(T&lt;=t) due code</b>	0.6754	
<b>t critico due code</b>	2.0281	

*Tabella 6: Risultati del T-test tra il Kmax della superficie anteriore corneale prima dell'intervento e a 6 mesi dall'intervento.*

Il p-value è 0.3377, per tal motivo non è possibile stabilire se tra i due valori medi di Kmax ci sia una differenza significativa.

Non è possibile riscontrare che l'operazione a sei mesi dall'intervento migliori il Kmax della superficie anteriore.

La statistica evidenzia che non è possibile rilevare un cambiamento positivo del Kmax sia a 1 mese che a 6 mesi dall'intervento, questa ragione può essere legata o ad un campionamento ridotto oppure a delle fasi infiammatorie che si sviluppano dopo il Cross-Linking.

Per ogni paziente è stata riportata l'età e lo stadio, questo T-Test è stato effettuato tra il Kmax della superficie posteriore corneale prima dell'intervento e il Kmax della superficie posteriore corneale 1 mese dopo l'intervento.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Kmax [D] Pre-intervento Superficie Posteriore Corneale	Kmax [D] a 1 mese dall'intervento Superficie Posteriore Corneale	Kmax [D] a 6 mesi dall'intervento Superficie Posteriore Corneale
1	17	4	-9.76	-9.29	-9.26
2	26	1	-7.15	-7.19	-7.32
3	21	2	-9.96	-9.80	-9.45
4	48	4	-10.45	-10.31	-10.43
5	71	4	-9.78	-9.29	-9.18
6	32	4	-10.46	-10.24	-10.13
7	31	3	-8.83	-8.71	-8.52
8	26	3	-8.97	-9.51	-8.95
9	28	2	-10.09	-9.13	-8.25
10	31	1	-8.20	-7.84	-7.74
11	30	2	-9.80	-7.23	-9.02
12	47	3	-8.69	-8.11	-9.85
13	27	3	-8.40	-9.10	-9.68
14	54	2	-7.61	-7.86	-7.85
15	33	1	-7.83	-9.86	-8.48
16	40	1	-10.76	-10.95	-10.66
17	46	1	-7.33	-7.45	-7.11
18	25	2	-8.48	-9.50	-9.46
19	40	2	-7.38	-10.24	-10.27
20	30	4	-11.37	-11.24	-
21	27	2	-7.44	-7.43	-
22	29	4	-10.79	-10.24	-
23	20	4	-12.50	-10.67	-

Tabella 7: Massima curvatura sagittale posteriore prima, a 1 mese e a 6 mesi dall'intervento derivanti dalle mappe topografiche di 23 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria.

	<b>Kmax [D] Pre-intervento Superficie Posteriore Corneale</b>	<b>Kmax [D] a 1 mese dall'intervento Superficie Posteriore Corneale</b>
<b>Media</b>	-9.22	-9.18
<b>Varianza</b>	2.15	1.55
<b>Osservazioni</b>	23	23
<b>Varianza complessiva</b>	1.85	
<b>Differenza ipotizzata per le medie</b>	0.00	
<b>gdl</b>	44.00	
<b>Stat t</b>	-0.09	
<b>P(T&lt;=t) una coda</b>	0.4639	
<b>t critico una coda</b>	1.6802	
<b>P(T&lt;=t) due code</b>	0.9277	
<b>t critico due code</b>	2.0153	

*Tabella 8: Risultati del T-test tra il Kmax della superficie posteriore corneale prima dell'intervento e a 1 mese dall'intervento.*

	<b>Kmax [D] Pre-intervento Superficie Posteriore Corneale</b>	<b>Kmax [D] a 6 mesi dall'intervento Superficie Posteriore Corneale</b>
<b>Media</b>	-8.94	-9.03
<b>Varianza</b>	1.37	1.10
<b>Osservazioni</b>	19	19
<b>Varianza complessiva</b>	1.24	
<b>Differenza ipotizzata per le medie</b>	0.00	
<b>gdl</b>	36.00	
<b>Stat t</b>	0.25	
<b>P(T&lt;=t) una coda</b>	0.4039	
<b>t critico una coda</b>	1.6883	
<b>P(T&lt;=t) due code</b>	0.8077	
<b>t critico due code</b>	2.0281	

*Tabella 9: Risultati del T-test tra il Kmax della superficie posteriore corneale prima dell'intervento e a 6 mesi dall'intervento.*

Sia a distanza di un mese che di sei mesi non è possibile dedurre una variazione favorevole in confronti del Kmax relativa alla superficie posteriore poiché in entrambi i casi il p-value è maggiore del 5%. Anche in questo caso la ragione può essere legata o un campione statistico ridotto o alle fasi infiammatorie successive all'intervento.

È stato eseguito il test statistico anche per lo spessore corneale, è stata confrontata la Thickness del paziente prima dell'operazione con quella a 1 mese e successivamente a 6 mesi dal Cross-Linking.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Thk [ $\mu\text{m}$ ] Pre-intervento	Thk [ $\mu\text{m}$ ] a 1 mese dall'intervento	Thk [ $\mu\text{m}$ ] a 6 mesi dall'intervento
1	17	4	438	468	213
2	26	1	507	430	430
3	21	2	504	317	424
4	48	4	435	412	433
5	71	4	455	462	462
6	32	4	505	466	471
7	31	3	494	490	496
8	26	3	450	451	462
9	28	2	465	453	461
10	31	1	497	466	438
11	30	2	427	377	371
12	47	3	443	365	390
13	27	3	493	403	409
14	54	2	457	471	482
15	33	1	496	398	436
16	40	1	504	395	473
17	46	1	481	489	508
18	25	2	461	396	414
19	40	2	508	370	380
20	30	4	419	402	-
21	27	2	477	295	-
22	29	4	444	456	-
23	20	4	459	452	-

Tabella 10: Spessore prima, a 1 mese e a 6 mesi dall'intervento derivanti dalle mappe topografiche di 23 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria.

	Thk [ $\mu\text{m}$ ] Pre-intervento	Thk [ $\mu\text{m}$ ] a 1 mese dall'intervento
Media	470.39	421.04
Varianza	825.07	2771.68
Osservazioni	23	23
Varianza complessiva	1798.37	
Differenza ipotizzata per le medie	0.00	
gdl	44.00	
Stat t	3.95	
P(T<=t) una coda	0.000141	
t critico una coda	1.6802	
P(T<=t) due code	0.00028	
t critico due code	2.0153	

Tabella 11: Risultati del T-test tra lo spessore corneale prima dell'intervento e a 1 mese dall'intervento.

	<b>Thk [<math>\mu\text{m}</math>] Pre-intervento</b>	<b>Thk [<math>\mu\text{m}</math>] a 6 mesi dall'intervento</b>
<b>Media</b>	474.74	429.10
<b>Varianza</b>	793.43	4176.65
<b>Osservazioni</b>	19	19
<b>Varianza complessiva</b>	2485.04	
<b>Differenza ipotizzata per le medie</b>	0.00	
<b>Gdl</b>	36.00	
<b>Stat t</b>	2.82	
<b>P(T&lt;=t) una coda</b>	0.0039	
<b>t critico una coda</b>	1.6983	
<b>P(T&lt;=t) due code</b>	0.0077	
<b>t critico due code</b>	2.0281	

*Tabella 12: Risultati del T-test tra lo spessore corneale prima dell'intervento e a 6 mesi dall'intervento.*

Si può dedurre statisticamente che trascorso 1 mese dal Cross-Linking migliora lo spessore corneale, per di più si raggiunge lo stesso risultato passati anche i 6 mesi.

Per ogni paziente è stata riportata l'età e lo stadio, questo T-Test è stato effettuato tra il Cilindro corneale prima dell'intervento con quello a 1 mese e in seguito a 6 mesi dall'operazione.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Cilindro corneale [D] Pre-intervento	Cilindro corneale [D] a 1 mese dall'intervento	Cilindro corneale [D] a 6 mesi dall'intervento
1	17	4	-2.14	-1.13	-6.35
2	26	1	-1.08	-1.01	-1.01
3	21	2	-1.24	-4.38	-1.21
4	48	4	-3.07	-4.39	-3.73
5	71	4	-1.67	-1.51	-1.76
6	32	4	-1.47	-6.13	-5.39
7	31	3	-3.35	-3.95	-3.46
8	26	3	-1.57	-1.67	-1.98
9	28	2	-3.15	-2.56	-2.37
10	31	1	-1.46	-2.07	-1.59
11	30	2	-2.98	-3.28	-3.30
12	47	3	-3.61	-5.61	-4.41
13	27	3	-6.24	-5.74	-6.10
14	54	2	-2.55	-2.24	-1.97
15	33	1	-2.62	-3.21	-2.27
16	40	1	-3.03	-3.62	-4.30
17	46	1	-5.55	-4.89	-4.83
18	25	2	-3.36	-3.27	-2.38
19	40	2	-2.20	-2.72	-2.42
20	30	4	-8.59	-10.20	-
21	27	2	-3.12	-1.36	-
22	29	4	-7.04	-6.60	-
23	20	4	-5.83	-5.75	-

Tabella 13: Cilindro corneale prima, a 1 mese e a 6 mesi dall'intervento derivanti dalle mappe topografiche di 23 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria.

	Cilindro corneale [D] Pre-intervento	Cilindro corneale [D] a 1 mese dall'intervento
Media	-3.34	-3.80
Varianza	3.98	4.85
Osservazioni	23	23
Varianza complessiva	4.41	
Differenza ipotizzata per le medie	0.00	
Gdl	44.00	
Stat t	0.73	
P(T<=t) una coda	0.2353	
t critico una coda	1.6802	
P(T<=t) due code	0.4706	
t critico due code	2.0153	

Tabella 14: Risultati del T-test tra il Cilindro corneale prima dell'intervento e a 1 mese dall'intervento.

	Cilindro corneale [D] Pre-intervento	Cilindro corneale [D] a 6 mesi dall'intervento
Media	-2.76	-3.20
Varianza	1.86	2.67
Osservazioni	19	19
Varianza complessiva	2.27	
Differenza ipotizzata per le medie	0.00	
gdl	36.00	
Stat t	0.91	
P(T<=t) una coda	0.1832	
t critico una coda	1.6883	
P(T<=t) due code	0.3665	
t critico due code	2.0281	

Tabella 15: Risultati del T-test tra il Cilindro corneale prima dell'intervento e a 6 mesi dall'intervento.

I risultati riportati sul Cilindro corneale portano a dedurre che non sia presente una differenza significativa tra prima del Cross-Linking e a 1 mese di distanza, non è possibile concludere che il Cilindro corneale migliori. Ciò viene confermato anche trascorsi i 6 mesi.

Il motivo può essere dovuto o un campione statistico ridotto o alle fasi infiammatorie successive all'intervento.

Gli indici topografici sono stati anche valutati tra di loro su Microsoft Office Excel attraverso la **correlazione**. In statistica, la correlazione è un indice che misura la relazione esistente fra due variabili. Si dice che due variabili A e B sono correlate quando i valori di una variabile A tendono a seguire quelli dell'altra variabile B con una certa regolarità. La relazione che si osserva rappresenta la capacità di una variabile di cambiare in funzione dell'altra e può essere lineare o non lineare. Quella lineare si presenta sul piano cartesiano sotto forma di retta, quella non lineare ha un andamento curvilineo.

Se entrambi le variabili crescono contemporaneamente si dicono concordi, se una diminuisce al crescere dell'altra sono discordi, invece se le due variabili non hanno la tendenza a crescere o diminuire contemporaneamente sono in incorrelazione.

Per esprimere la relazione esistente tra due variabili si utilizza il coefficiente di correlazione  $r$ , il quale può assumere un valore compreso tra -1 (perfetta anticorrelazione) e 1 (perfetta correlazione). Se tra le due variabili non esiste nessun tipo di relazione, il coefficiente ha valore uguale a 0 [76]. Attraverso lo scatter plot si è valutato non solo il tipo e l'esistenza della relazione tra le due variabili prese in esame ma anche l'entità della forza corrente tra le due.

Si è valutata la correlazione del Kmax della superficie anteriore con quella della superficie posteriore prima dell'intervento, a 1 mese e a 6 mesi successivi al Cross-Linking. Per ciascun paziente è stata indicata l'età e lo stadio.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Kmax [D] Pre-intervento Superficie Anteriore Corneale	Kmax [D] Pre-intervento Superficie Posteriore Corneale
1	17	4	58.94	-9.76
2	26	1	47.21	-7.15
3	21	2	48.28	-9.96
4	48	4	55.25	-10.45
5	71	4	55.78	-9.78
6	32	4	47.68	-10.46
7	31	3	53.11	-8.83
8	26	3	53.51	-8.97
9	28	2	52.32	-10.09
10	31	1	47.81	-8.20
11	30	2	51.14	-9.80
12	47	3	48.29	-8.69
13	27	3	54.85	-8.40
14	54	2	48.41	-7.61
15	33	1	47.95	-7.83
16	40	1	52.35	-10.76
17	46	1	47.89	-7.33
18	25	2	52.97	-8.48
19	40	2	50.40	-7.38
20	30	4	61.23	-11.37
21	27	2	47.80	-7.44
22	29	4	63.29	-10.79
23	20	4	59.39	-12.50

Tabella 16: Massima curvatura sagittale anteriore e massima curvatura sagittale posteriore prima dell'intervento derivanti dalle mappe topografiche di 23 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria.

	KMAX SUPERFICIE ANTERIORE PRIMA DELL'INTERVENTO	KMAX SUPERFICIE POSTERIORE PRIMA DELL'INTERVENTO
KMAX SUPERFICIE ANTERIORE PRIMA DELL'INTERVENTO	1	
KMAX SUPERFICIE POSTERIORE PRIMA DELL'INTERVENTO	-0.6866	1

Tabella 17: Risultati della correlazione del Kmax tra la superficie anteriore e posteriore corneale prima dell'intervento.

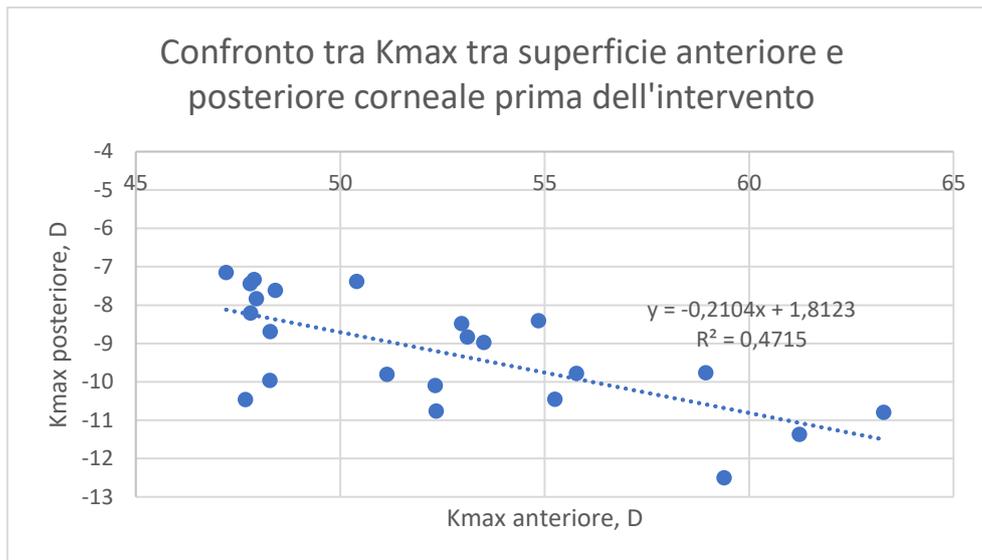


grafico 1: Scatter plot del Kmax tra la superficie anteriore e la superficie posteriore corneale prima dell'intervento

Il grafico 1 rappresenta lo scatter plot del Kmax tra la superficie anteriore (ascissa) e la superficie posteriore (ordinate) prima dell'intervento, espresse entrambe in diottrie. Dal grafico a dispersione e dal coefficiente di correlazione pari a -0.6866 si può dedurre che esiste un'anticorrelazione tra le due variabili, perciò al crescere del Kmax anteriore, il Kmax posteriore aumenta. L'entità della relazione è abbastanza forte, si può notare dai punti raggruppati intorno alla retta di regressione lineare, di cui è stata indicata la sua equazione.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Kmax [D] a 1 mese dall'intervento Superficie Anteriore Corneale	Kmax [D] a 1 mese dall'intervento Superficie Posteriore Corneale
1	17	4	48.48	-9.29
2	26	1	47.07	-7.19
3	21	2	49.93	-9.80
4	48	4	55.26	-10.31
5	71	4	55.65	-9.29
6	32	4	61.85	-10.24
7	31	3	52.89	-8.71
8	26	3	53.88	-9.51
9	28	2	51.60	-9.13
10	31	1	50.39	-7.84
11	30	2	51.59	-7.23
12	47	3	49.81	-8.11
13	27	3	53.21	-9.10
14	54	2	48.44	-7.86
15	33	1	47.65	-9.86
16	40	1	53.65	-10.95
17	46	1	47.97	-7.45
18	25	2	52.70	-9.50
19	40	2	53.15	-10.24
20	30	4	62.68	-11.24
21	27	2	50.00	-7.43
22	29	4	60.85	-10.24
23	20	4	59.26	-10.67

Tabella 18: Massima curvatura sagittale anteriore e massima curvatura sagittale posteriore a 1 mese dall'intervento derivanti dalle mappe topografiche di 23 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria.

	KMAX SUPERFICIE ANTERIORE A 1M DALL'INTEVENTO	KMAX SUPERFICIE POSTERIORE A 1M DALL'INTEVENTO
KMAX SUPERFICIE ANTERIORE A 1M DALL'INTEVENTO	1	
KMAX SUPERFICIE POSTERIORE A 1M DALL'INTEVENTO	-0.6967	1

Tabella 19: Risultati della correlazione del Kmax tra la superficie anteriore e posteriore corneale a 1 mese dall'intervento.

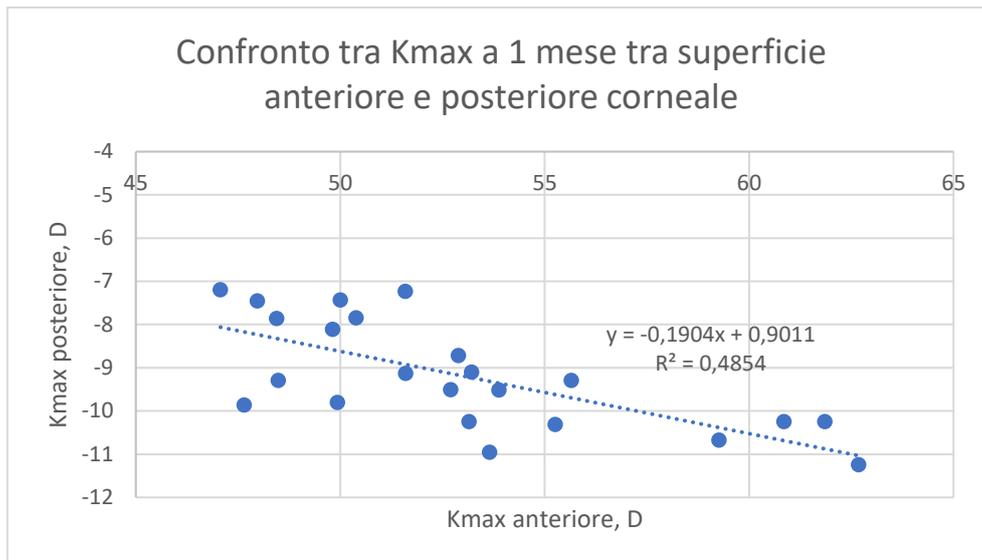


grafico 2: Scatter plot del Kmax tra la superficie anteriore e la superficie posteriore corneale a 1 mese dall'intervento.

Il grafico 2 rappresenta lo scatter plot del Kmax tra la superficie anteriore (ascissa) e la superficie posteriore (ordinate) a 1 mese dal Cross-Linking, espresse entrambe in diottrie. Dal grafico a dispersione e dal coefficiente di correlazione pari a  $-0.6967$  si può dedurre che esiste un'anticorrelazione tra le due variabili, perciò al crescere del Kmax anteriore, il Kmax posteriore aumenta. L'entità della relazione è abbastanza forte, si può notare dai punti raggruppati intorno alla retta di regressione lineare, di cui è stata indicata la sua equazione. Pertanto la correlazione esistente tra le due Kmax della superficie anteriore-posteriore prima dell'intervento non viene persa a distanza di 1 mese.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Kmax [D] a 6 mesi dall'intervento Superficie Anteriore Corneale	Kmax [D] a 6 mesi dall'intervento Superficie Posteriore Corneale
1	17	4	57.44	-9.26
2	26	1	47.08	-7.32
3	21	2	47.51	-9.45
4	48	4	55.38	-10.43
5	71	4	55.67	-9.18
6	32	4	61.80	-10.13
7	31	3	54.30	-8.52
8	26	3	53.62	-8.95
9	28	2	52.12	-8.25
10	31	1	47.94	-7.74
11	30	2	50.69	-9.02
12	47	3	49.01	-9.85
13	27	3	53.46	-9.68
14	54	2	48.57	-7.85
15	33	1	46.80	-8.48
16	40	1	52.72	-10.66
17	46	1	48.14	-7.11
18	25	2	52.44	-9.46
19	40	2	49.20	-10.27
20	30	4	-	-
21	27	2	-	-
22	29	4	-	-
23	20	4	-	-

Tabella 20: Massima curvatura sagittale anteriore e massima curvatura sagittale posteriore a 6 mesi dall'intervento derivanti dalle mappe topografiche di 19 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria.

	KMAX SUPERFICIE ANTERIORE A 6M DALL'INTERVENTO	KMAX SUPERFICIE POSTERIORE A 6M DALL'INTERVENTO
KMAX SUPERFICIE ANTERIORE A 6M DALL'INTERVENTO	1	
KMAX SUPERFICIE POSTERIORE A 6M DALL'INTERVENTO	-0.505	1

Tabella 21: Risultati della correlazione del Kmax tra la superficie anteriore e posteriore corneale a 6 mesi dall'intervento.

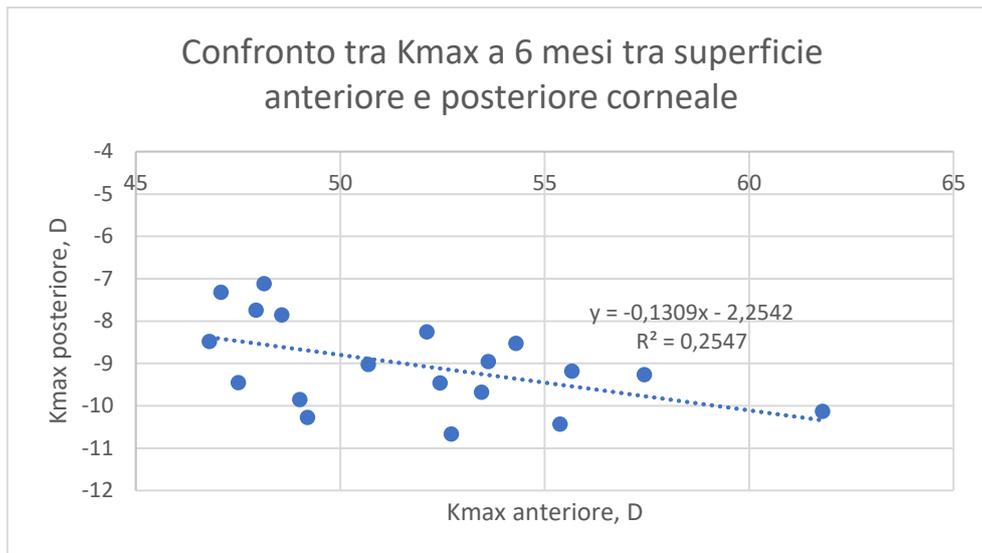


grafico 3: Scatter plot del Kmax tra la superficie anteriore e la superficie posteriore corneale a 6 mesi dall'intervento.

Il grafico 3 rappresenta lo scatter plot tra il Kmax tra la superficie anteriore (ascissa) e la superficie posteriore (ordinate) a 6 mesi dal Cross-Linking, espresse entrambe in diottrie. Dal grafico a dispersione e dal coefficiente di correlazione pari a -0.505 si può dedurre che esiste un'anticorrelazione tra le due variabili, perciò al crescere del Kmax anteriore, il Kmax posteriore aumenta. Tuttavia l'entità della relazione è più debole rispetto alla correlazione presente tra le due variabili prima dell'intervento e a distanza di 1 mese.

Si è valutata la correlazione del Kmax della superficie anteriore con lo spessore corneale prima dell'intervento, a 1 mese e a 6 mesi successivi al Cross-Linking. Per ciascun paziente è stata indicata l'età e lo stadio.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Kmax [D] Pre-intervento Superficie Anteriore Corneale	Thk [ $\mu$ m] Pre-intervento
1	17	4	58.94	438
2	26	1	47.21	507
3	21	2	48.28	504
4	48	4	55.25	435
5	71	4	55.78	455
6	32	4	47.68	505
7	31	3	53.11	494
8	26	3	53.51	450
9	28	2	52.32	465
10	31	1	47.81	497
11	30	2	51.14	427
12	47	3	48.29	443
13	27	3	54.85	493
14	54	2	48.41	457
15	33	1	47.95	496
16	40	1	52.35	504
17	46	1	47.89	481
18	25	2	52.97	461
19	40	2	50.40	508
20	30	4	61.23	419
21	27	2	47.80	477
22	29	4	63.29	444
23	20	4	59.39	459

Tabella 22: Massima curvatura sagittale anteriore e spessore prima dell'intervento derivanti dalle mappe topografiche di 23 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria.

	KMAX SUPERFICIE ANTERIORE PRIMA DELL'INTERVENTO	THK PRIMA DELL'INTERVENTO
KMAX SUPERFICIE ANTERIORE PRIMA DELL'INTERVENTO	1	
THK PRIMA DELL'INTERVENTO	-0.5970	1

Tabella 23: Risultati della correlazione tra il Kmax della superficie anteriore e lo spessore corneale prima dell'intervento.

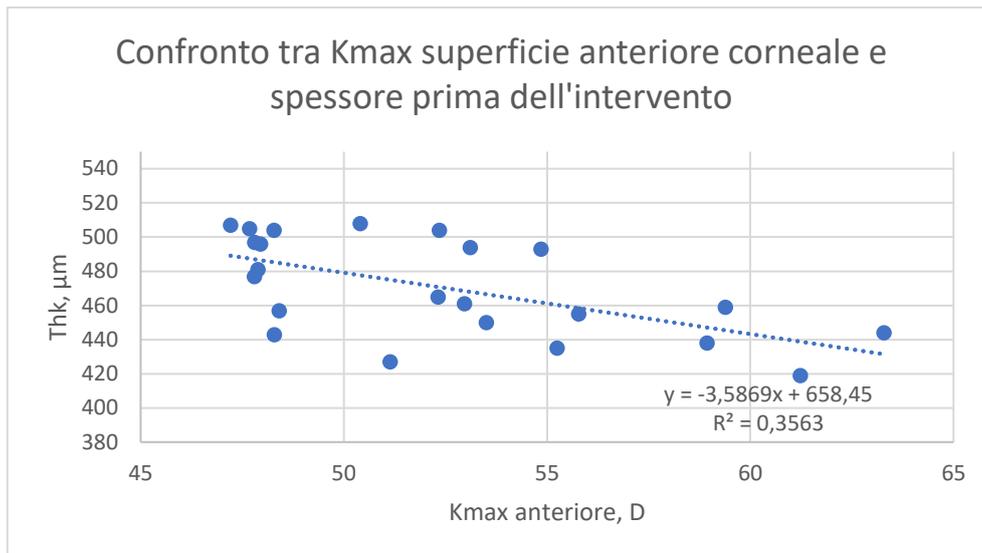


grafico 4: Scatter plot tra il Kmax della superficie anteriore e lo spessore corneale prima dell'intervento.

Il grafico 4 rappresenta lo scatter plot tra il Kmax della superficie anteriore (ascissa, in diottrie) e lo spessore corneale (ordinate, in  $\mu\text{m}$ ) prima dell'intervento. Dal grafico a dispersione e dal coefficiente di correlazione pari a  $-0.5970$  si può dedurre che esiste un'anticorrelazione debole tra le due variabili, perciò al crescere del Kmax anteriore, lo spessore aumenta. L'entità della relazione seppur presente è debole, alcuni punti si trovano raggruppati intorno alla retta di regressione lineare, di cui è stata indicata la sua equazione, e altri si allontanano da essa.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Kmax [D] a 1 mese dall'intervento Superficie Anteriore Corneale	Thk [ $\mu$ m] a 1 mese dall'intervento
1	17	4	48.48	468
2	26	1	47.07	430
3	21	2	49.93	317
4	48	4	55.26	412
5	71	4	55.65	462
6	32	4	61.85	466
7	31	3	52.89	490
8	26	3	53.88	451
9	28	2	51.60	453
10	31	1	50.39	466
11	30	2	51.59	377
12	47	3	49.81	365
13	27	3	53.21	403
14	54	2	48.44	471
15	33	1	47.65	398
16	40	1	53.65	395
17	46	1	47.97	489
18	25	2	52.70	396
19	40	2	53.15	370
20	30	4	62.68	402
21	27	2	50.00	295
22	29	4	60.85	456
23	20	4	59.26	452

Tabella 24: Massima curvatura sagittale anteriore e spessore a 1 mese dall'intervento derivanti dalle mappe topografiche di 23 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria.

	KMAX SUPERFICIE ANTERIORE A 1M DALL'INTERVENTO	THK A 1M DALL'INTERVENTO
KMAX SUPERFICIE ANTERIORE A 1M DALL'INTERVENTO	1	
THK A 1M DALL'INTERVENTO	0.1579	1

Tabella 25: Risultati della correlazione tra il Kmax della superficie anteriore e lo spessore corneale a 1 mese dall'intervento.

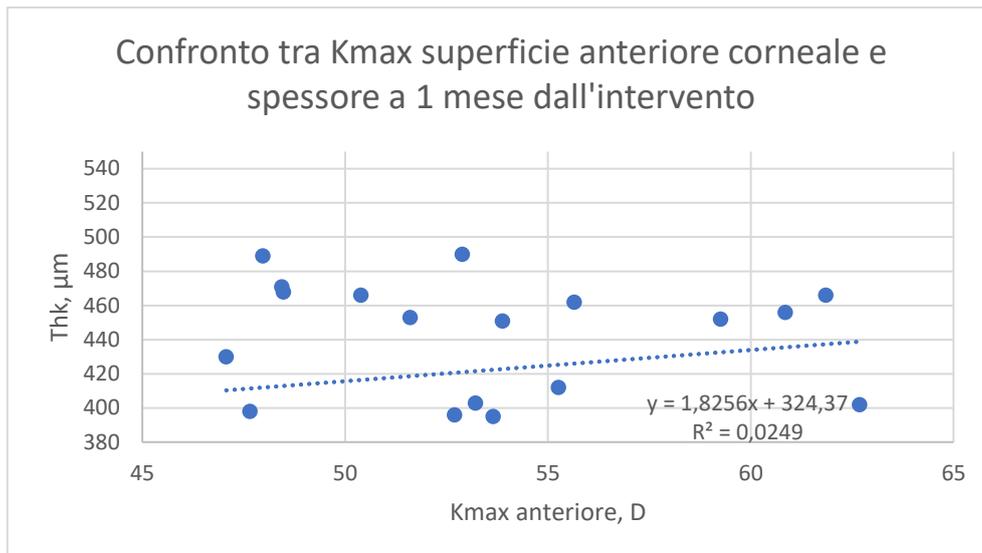


grafico 5: Scatter plot tra il Kmax della superficie anteriore e lo spessore corneale a 1 mese dall'intervento.

Il grafico 5 rappresenta lo scatter plot tra il Kmax della superficie anteriore (ascissa, in diottrie) e lo spessore corneale (ordinate, in  $\mu\text{m}$ ) a 1 mese di distanza dal Cross-Linking. Dal grafico a dispersione e dal coefficiente di correlazione pari a 0.1579 si può dedurre che non esiste un correlazione tra le due variabili, i punti sono dispersi in maniera uniforme intorno alla retta di regressione lineare, di cui è stata indicata la sua equazione. La debole relazione che era presente prima dell'intervento viene completamente persa a distanza di 1 mese.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Kmax [D] a 6 mesi dall'intervento Superficie Anteriore Corneale	Thk [ $\mu$ m] a 6 mesi dall'intervento
1	17	4	57.44	213
2	26	1	47.08	430
3	21	2	47.51	424
4	48	4	55.38	433
5	71	4	55.67	462
6	32	4	61.80	471
7	31	3	54.30	496
8	26	3	53.62	462
9	28	2	52.12	461
10	31	1	47.94	438
11	30	2	50.69	371
12	47	3	49.01	390
13	27	3	53.46	409
14	54	2	48.57	482
15	33	1	46.80	436
16	40	1	52.72	473
17	46	1	48.14	508
18	25	2	52.44	414
19	40	2	49.20	380
20	30	4	-	-
21	27	2	-	-
22	29	4	-	-
23	20	4	-	-

Tabella 26: Massima curvatura sagittale anteriore e spessore a 6 mesi dall'intervento derivanti dalle mappe topografiche di 19 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria.

	KMAX SUPERFICIE ANTERIORE A 6 M DALL'INTERVENTO	THK A 6 M DALL'INTERVENTO
KMAX SUPERFICIE ANTERIORE A 6 M DALL'INTERVENTO	1	
THK A 6 M DALL'INTERVENTO	-0.1349	1

Tabella 27: Risultati della correlazione tra il Kmax della superficie anteriore e lo spessore corneale a 6 mesi dall'intervento.

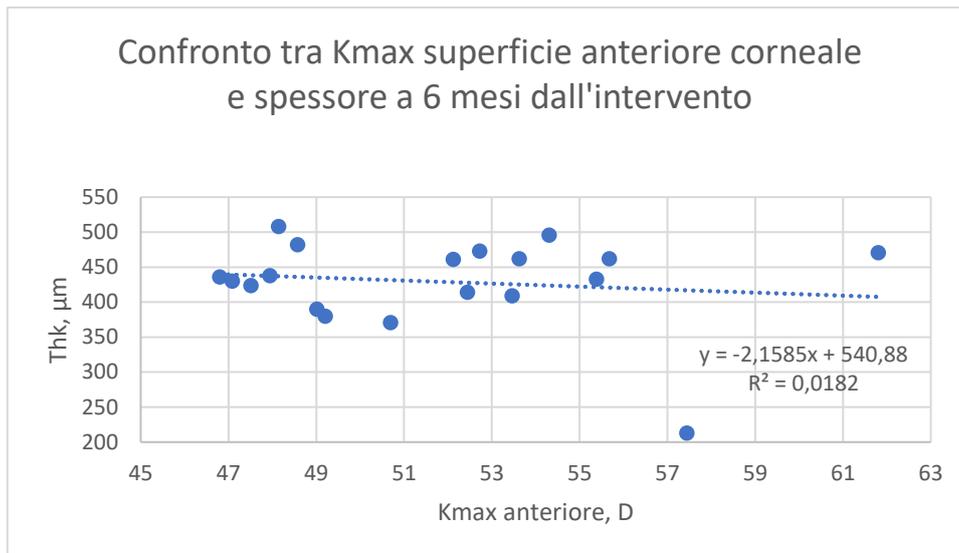


grafico 6: Scatter plot tra il Kmax della superficie anteriore e lo spessore corneale a 6 mesi dall'intervento.

Il grafico 6 rappresenta lo scatter plot tra il Kmax della superficie anteriore (ascissa, in diottrie) e lo spessore corneale (ordinate, in  $\mu\text{m}$ ) a 6 mesi di distanza dal Cross-Linking. Dal grafico a dispersione e dal coefficiente di correlazione pari a  $-0.1349$  si può dedurre che non esiste correlazione tra le due variabili, i punti sono dispersi in maniera uniforme intorno alla retta di regressione lineare, di cui è stata indicata la sua equazione. La debole relazione che era presente prima dell'intervento viene completamente persa a distanza sia di 1 mese che a 6 mesi.

Si è valutata la correlazione del Kmax della superficie posteriore con lo spessore corneale prima dell'intervento, a 1 mese e a 6 mesi successivi al Cross-Linking. Per ciascun paziente è stata indicata l'età e lo stadio.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Kmax [D] Pre-intervento Superficie Posteriore Corneale	Thk [ $\mu$ m] Pre-intervento
1	17	4	-9.76	438
2	26	1	-7.15	507
3	21	2	-9.96	504
4	48	4	-10.45	435
5	71	4	-9.78	455
6	32	4	-10.46	505
7	31	3	-8.83	494
8	26	3	-8.97	450
9	28	2	-10.09	465
10	31	1	-8.20	497
11	30	2	-9.80	427
12	47	3	-8.69	443
13	27	3	-8.40	493
14	54	2	-7.61	457
15	33	1	-7.83	496
16	40	1	-10.76	504
17	46	1	-7.33	481
18	25	2	-8.48	461
19	40	2	-7.38	508
20	30	4	-11.37	419
21	27	2	-7.44	477
22	29	4	-10.79	444
23	20	4	-12.50	459

Tabella 28: Massima curvatura sagittale posteriore e spessore prima dell'intervento derivanti dalle mappe topografiche di 23 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria.

	KMAX SUPERFICIE POSTERIORE PRIMA DELL'INTERVENTO	THK PRIMA DELL'INTERVENTO
KMAX SUPERFICIE POSTERIORE PRIMA DELL'INTERVENTO	1	
THK PRIMA DELL'INTERVENTO	0.4196	1

Tabella 29: Risultati della correlazione tra il Kmax della superficie posteriore e lo spessore corneale prima dell'intervento.

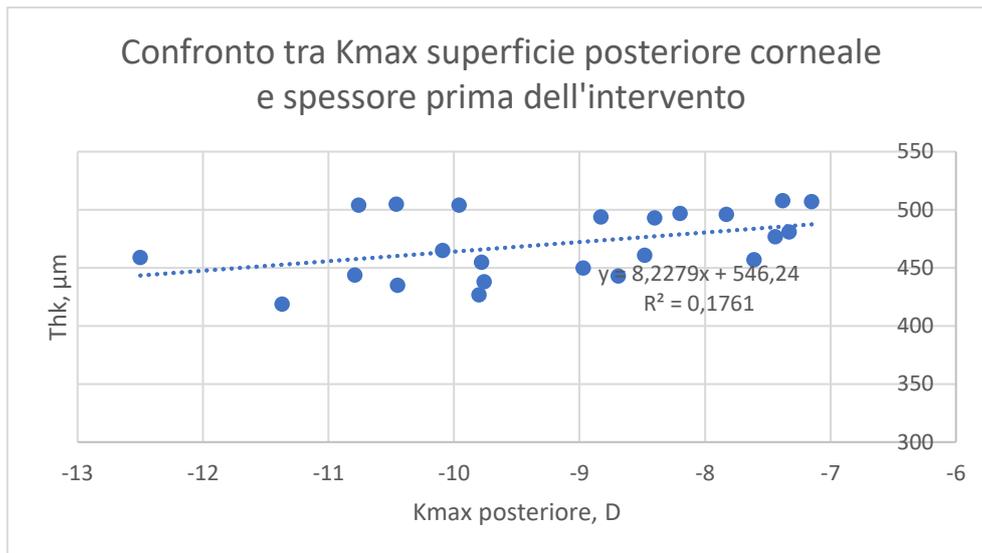


grafico 7: Scatter plot tra il Kmax della superficie posteriore e lo spessore corneale prima dell'intervento.

Il grafico 7 rappresenta lo scatter plot tra il Kmax della superficie posteriore (ascissa, in diottrie) e lo spessore corneale (ordinate, in  $\mu\text{m}$ ) prima dell'intervento. Dal grafico a dispersione e dal coefficiente di correlazione pari a 0.4196 si può dedurre che non esiste correlazione tra le due variabili, i punti sono dispersi in maniera uniforme intorno alla retta di regressione lineare, di cui è stata indicata la sua equazione.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Kmax [D] a 1 mese dall'intervento Superficie Posteriore Corneale	Thk [ $\mu$ m] a 1 mese dall'intervento
1	17	4	-9.29	468
2	26	1	-7.19	430
3	21	2	-9.80	317
4	48	4	-10.31	412
5	71	4	-9.29	462
6	32	4	-10.24	466
7	31	3	-8.71	490
8	26	3	-9.51	451
9	28	2	-9.13	453
10	31	1	-7.84	466
11	30	2	-7.23	377
12	47	3	-8.11	365
13	27	3	-9.10	403
14	54	2	-7.86	471
15	33	1	-9.86	398
16	40	1	-10.95	395
17	46	1	-7.45	489
18	25	2	-9.50	396
19	40	2	-10.24	370
20	30	4	-11.24	402
21	27	2	-7.43	295
22	29	4	-10.24	456
23	20	4	-10.67	452

Tabella 30: Massima curvatura sagittale posteriore e spessore a 1 mese dall'intervento derivanti dalle mappe topografiche di 23 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria.

	KMAX SUPERFICIE POSTERIORE A 1M DALL'INTERVENTO	THK A 1M DALL'INTERVENTO
KMAX SUPERFICIE POSTERIORE A 1M DALL'INTERVENTO	1	
THK 1M DALL'INTERVENTO	0.0105	1

Tabella 31: Risultati della correlazione tra il Kmax della superficie posteriore e lo spessore corneale a 1 mese dall'intervento.

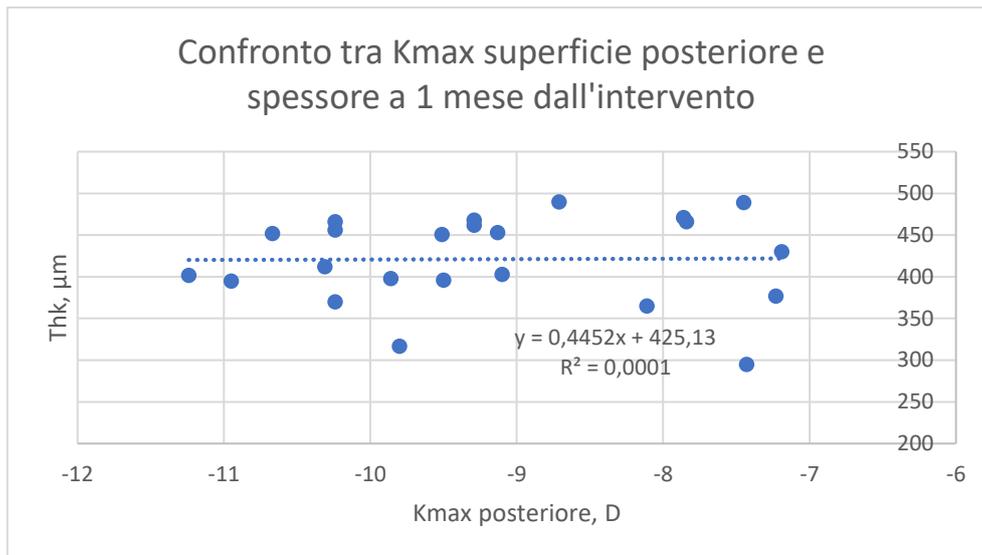


grafico 8: Scatter plot tra il Kmax della superficie posteriore e lo spessore corneale a 1 mese dall'intervento.

Il grafico 8 rappresenta lo scatter plot tra il Kmax della superficie posteriore (ascissa, in diottrie) e lo spessore corneale (ordinate, in  $\mu\text{m}$ ) a 1 mese di distanza dall'intervento. Dal grafico a dispersione e dal coefficiente di correlazione pari a 0.0105 si può dedurre che, non esiste correlazione tra le due variabili, cosa che si verifica già prima dell'intervento. I punti sono dispersi in maniera uniforme intorno alla retta di regressione lineare, di cui è stata indicata la sua equazione.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Kmax [D] a 6 mesi dall'intervento Superficie Posteriore Corneale	Thk [ $\mu m$ ] a 6 mesi dall'intervento
1	17	4	-9.26	213
2	26	1	-7.32	430
3	21	2	-9.45	424
4	48	4	-10.43	433
5	71	4	-9.18	462
6	32	4	-10.13	471
7	31	3	-8.52	496
8	26	3	-8.95	462
9	28	2	-8.25	461
10	31	1	-7.74	438
11	30	2	-9.02	371
12	47	3	-9.85	390
13	27	3	-9.68	409
14	54	2	-7.85	482
15	33	1	-8.48	436
16	40	1	-10.66	473
17	46	1	-7.11	508
18	25	2	-9.46	414
19	40	2	-10.27	380
20	30	4	-	-
21	27	2	-	-
22	29	4	-	-
23	20	4	-	-

Tabella 32: Massima curvatura sagittale posteriore e spessore a 6 mesi dall'intervento derivanti dalle mappe topografiche di 19 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria.

	KMAX SUPERFICIE POSTERIORE A 6M DALL'INTERVENTO	THK A 6M DALL'INTERVENTO
KMAX SUPERFICIE POSTERIORE A 6M DALL'INTERVENTO	1	
THK 6M DALL'INTERVENTO	0.2693	1

Tabella 33: Risultati della correlazione tra il Kmax della superficie posteriore e lo spessore corneale a 6 mesi dall'intervento.

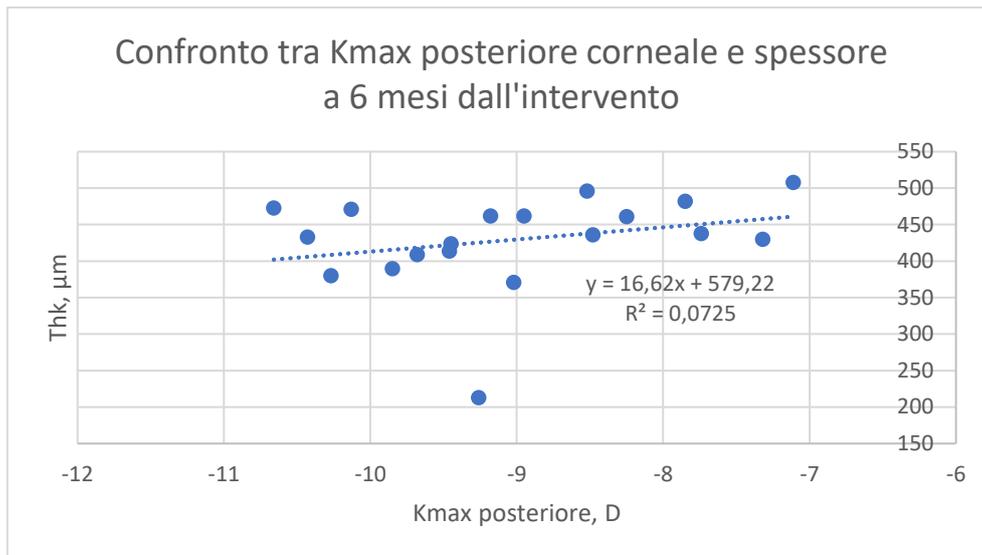


grafico 9: Scatter plot tra il Kmax della superficie posteriore e lo spessore corneale a 6 mesi dall'intervento.

Il grafico 9 rappresenta lo scatter plot tra il Kmax della superficie posteriore (ascissa, in diottrie) e lo spessore corneale (ordinate, in  $\mu\text{m}$ ) a 6 mesi di distanza dall'intervento. Dal grafico a dispersione e dal coefficiente di correlazione pari a 0.2693 si può dedurre che, non esiste correlazione tra le due variabili, cosa che si verifica già prima e a 1 mese dall'intervento. I punti sono dispersi uniformemente intorno alla retta di regressione lineare, di cui è stata indicata la sua equazione.

Si è valutata la correlazione del Kmax della superficie anteriore con il Cilindro corneale prima dell'intervento, a 1 mese e a 6 mesi successivi al Cross-Linking. Per ciascun paziente è stata indicata l'età e lo stadio.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Kmax [D] Pre-intervento Superficie Anteriore Corneale	Cilindro corneale [D] Pre-intervento
1	17	4	58.94	-2.14
2	26	1	47.21	-1.08
3	21	2	48.28	-1.24
4	48	4	55.25	-3.07
5	71	4	55.78	-1.67
6	32	4	47.68	-1.47
7	31	3	53.11	-3.35
8	26	3	53.51	-1.57
9	28	2	52.32	-3.15
10	31	1	47.81	-1.46
11	30	2	51.14	-2.98
12	47	3	48.29	-3.61
13	27	3	54.85	-6.24
14	54	2	48.41	-2.55
15	33	1	47.95	-2.62
16	40	1	52.35	-3.03
17	46	1	47.89	-5.55
18	25	2	52.97	-3.36
19	40	2	50.40	-2.20
20	30	4	61.23	-8.59
21	27	2	47.80	-3.12
22	29	4	63.29	-7.04
23	20	4	59.39	-5.83

Tabella 34: Massima curvatura sagittale anteriore e Cilindro corneale prima dell'intervento derivanti dalle mappe topografiche di 23 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria.

	KMAX SUPERFICIE ANTERIORE PRIMA DELL'INTERVENTO	CILINDRO CORNEALE PRIMA DELL'INTERVENTO
KMAX SUPERFICIE ANTERIORE PRIMA DELL'INTERVENTO	1	
CILINDRO CORNEALE PRIMA DELL'INTERVENTO	-0.6284	1

Tabella 35: Risultati della correlazione tra il Kmax della superficie anteriore e lo Cilindro corneale prima dell'intervento.

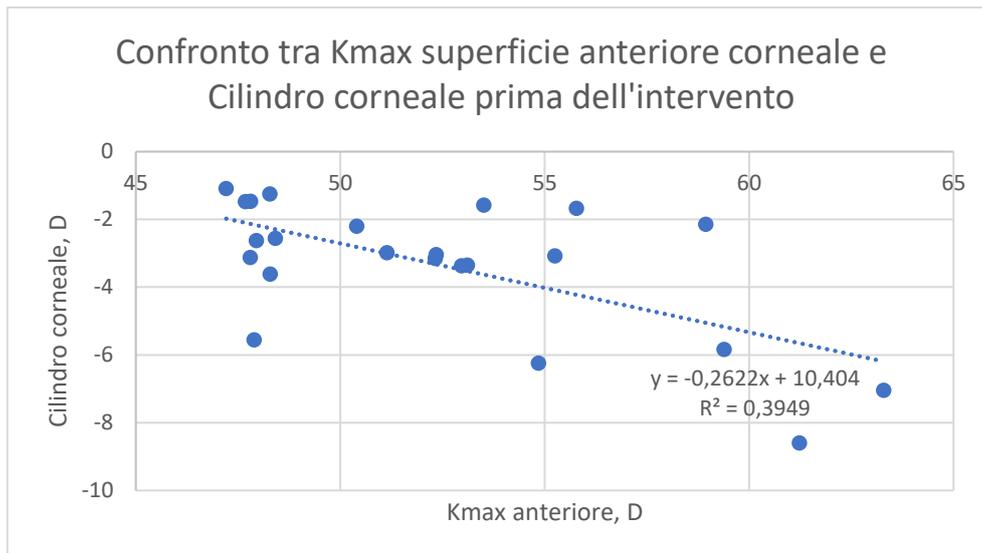


grafico 10: Scatter plot tra il Kmax della superficie anteriore e lo Cilindro corneale prima dell'intervento.

Lo scatter plot nel grafico 10 raffigura la relazione tra il Kmax della superficie anteriore (ascissa, in diottrie) e il Cilindro corneale (ordinate, in diottrie) prima dell'intervento. Dal grafico a dispersione e dal coefficiente di correlazione pari a -0.6284 si può dedurre che esiste un'anticorrelazione tra le due variabili, perciò al crescere del Kmax anteriore, aumenta il Cilindro corneale. L'entità della relazione è abbastanza forte, si può notare dai punti raggruppati intorno alla retta di regressione lineare, di cui è stata indicata la sua equazione.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Kmax [D] a 1 mese dall'intervento Superficie Anteriore Corneale	Cilindro corneale [D] a 1 mese dall'intervento
1	17	4	48.48	-1.13
2	26	1	47.07	-1.01
3	21	2	49.93	-4.38
4	48	4	55.26	-4.39
5	71	4	55.65	-1.51
6	32	4	61.85	-6.13
7	31	3	52.89	-3.95
8	26	3	53.88	-1.67
9	28	2	51.60	-2.56
10	31	1	50.39	-2.07
11	30	2	51.59	-3.28
12	47	3	49.81	-5.61
13	27	3	53.21	-5.74
14	54	2	48.44	-2.24
15	33	1	47.65	-3.21
16	40	1	53.65	-3.62
17	46	1	47.97	-4.89
18	25	2	52.70	-3.27
19	40	2	53.15	-2.72
20	30	4	62.68	-10.20
21	27	2	50.00	-1.36
22	29	4	60.85	-6.60
23	20	4	59.26	-5.75

Tabella 36: Massima curvatura sagittale anteriore e Cilindro corneale a 1 mese dall'intervento derivanti dalle mappe topografiche di 23 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria.

	KMAX SUPERFICIE ANTERIORE A 1M DALL'INTERVENTO	CILINDRO CORNEALE A 1M DALL'INTERVENTO
KMAX SUPERFICIE ANTERIORE A 1M DALL'INTERVENTO	1	
CILINDRO CORNEALE A 1M DALL'INTERVENTO	-0.6827	1

Tabella 37: Risultati della correlazione tra il Kmax della superficie anteriore e lo Cilindro corneale a 1 mese dall'intervento.

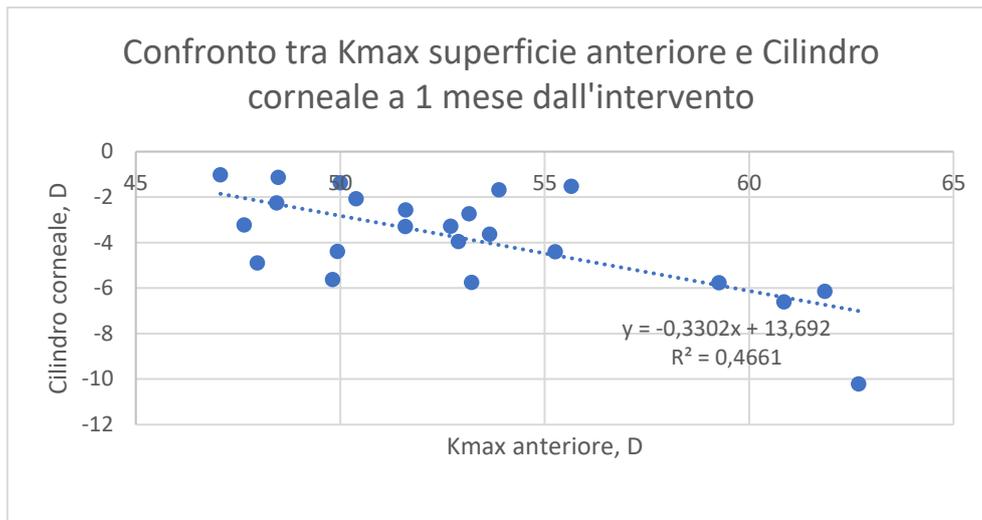


grafico 11: Scatter plot tra il Kmax della superficie anteriore e lo Cilindro corneale a 1 mese dall'intervento.

Lo scatter plot nel grafico 11 raffigura la relazione tra il Kmax della superficie anteriore (ascissa, in diottrie) e il Cilindro corneale (ordinate, in diottrie) a 1 mese dal Cross-Linking. A distanza di un mese viene mantenuta l'anticorrelazione tra le due variabili presente già prima dell'intervento. L'entità della relazione è abbastanza forte, si può notare dai punti raggruppati intorno alla retta di regressione lineare, di cui è stata indicata la sua equazione

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Kmax [D] a 6 mesi dall'intervento Superficie Anteriore Corneale	Cilindro corneale [D] a 6 mesi dall'intervento
1	17	4	57.44	-6.35
2	26	1	47.08	-1.01
3	21	2	47.51	-1.21
4	48	4	55.38	-3.73
5	71	4	55.67	-1.76
6	32	4	61.80	-5.39
7	31	3	54.30	-3.46
8	26	3	53.62	-1.98
9	28	2	52.12	-2.37
10	31	1	47.94	-1.59
11	30	2	50.69	-3.30
12	47	3	49.01	-4.41
13	27	3	53.46	-6.10
14	54	2	48.57	-1.97
15	33	1	46.80	-2.27
16	40	1	52.72	-4.30
17	46	1	48.14	-4.83
18	25	2	52.44	-2.38
19	40	2	49.20	-2.42
20	30	4	-	-
21	27	2	-	-
22	29	4	-	-
23	20	4	-	-

Tabella 38: Massima curvatura sagittale anteriore e Cilindro corneale a 6 mesi dall'intervento derivanti dalle mappe topografiche di 19 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria.

	KMAX SUPERFICIE ANTERIORE A 6M DALL'INTERVENTO	CILINDRO CORNEALE A 6M DALL'INTERVENTO
KMAX SUPERFICIE ANTERIORE A 6M DALL'INTERVENTO	1	
CILINDRO CORNEALE A 6M DALL'INTERVENTO	-0.5535	1

Tabella 39: Risultati della correlazione tra il Kmax della superficie anteriore e lo Cilindro corneale a 6 mesi dall'intervento.

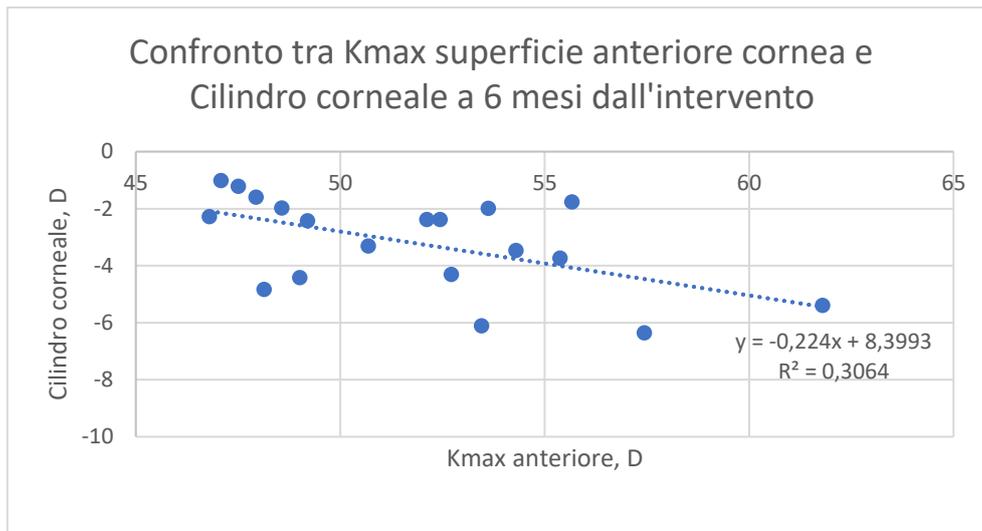


grafico 12: Scatter plot tra il Kmax della superficie anteriore e lo Cilindro corneale a 6 mesi dall'intervento.

Lo scatter plot nel grafico 12 raffigura la relazione, a 6 mesi dal Cross-Linking, tra il Kmax della superficie anteriore (ascissa, in diottrie) e il Cilindro corneale (ordinate, in diottrie). A distanza di 6 mesi è ancora presente la correlazione tra le due variabili seppur debole rispetto a prima e a 1 mese dall'intervento.

Si è analizzata la correlazione del Kmax della superficie anteriore con il Cilindro corneale prima dell'intervento, a 1 mese e a 6 mesi successivi al Cross-Linking. Per ciascun paziente è stata indicata l'età e lo stadio.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Kmax [D] Pre-intervento Superficie Posteriore Corneale	Cilindro corneale [D] Pre-intervento
1	17	4	-9.76	-2.14
2	26	1	-7.15	-1.08
3	21	2	-9.96	-1.24
4	48	4	-10.45	-3.07
5	71	4	-9.78	-1.67
6	32	4	-10.46	-1.47
7	31	3	-8.83	-3.35
8	26	3	-8.97	-1.57
9	28	2	-10.09	-3.15
10	31	1	-8.20	-1.46
11	30	2	-9.80	-2.98
12	47	3	-8.69	-3.61
13	27	3	-8.40	-6.24
14	54	2	-7.61	-2.55
15	33	1	-7.83	-2.62
16	40	1	-10.76	-3.03
17	46	1	-7.33	-5.55
18	25	2	-8.48	-3.36
19	40	2	-7.38	-2.20
20	30	4	-11.37	-8.59
21	27	2	-7.44	-3.12
22	29	4	-10.79	-7.04
23	20	4	-12.50	-5.83

Tabella 40: Massima curvatura sagittale posteriore e Cilindro corneale prima dell'intervento derivanti dalle mappe topografiche di 23 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria.

	KMAX SUPERFICIE POSTERIORE PRIMA DELL'INTERVENTO	CILINDRO CORNEALE PRIMA DELL'INTERVENTO
KMAX SUPERFICIE POSTERIORE PRIMA DELL'INTERVENTO	1	
CILINDRO CORNEALE PRIMA DELL'INTERVENTO	0.3688	1

Tabella 41: Risultati della correlazione tra il Kmax della superficie posteriore e lo Cilindro corneale prima dell'intervento.

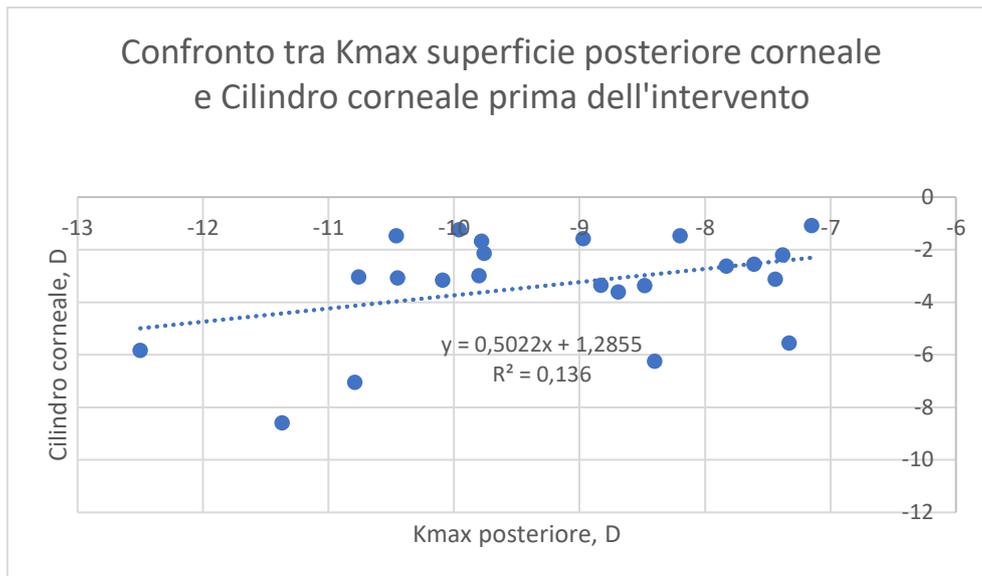


grafico 13: Scatter plot tra il Kmax della superficie posteriore e lo Cilindro corneale prima dell'intervento.

Lo scatter plot nel grafico 13 raffigura la relazione tra il Kmax della superficie posteriore (ascissa, in diottrie) e il Cilindro corneale (ordinate, in diottrie) prima dell'intervento. Dal grafico a dispersione e dal coefficiente di correlazione pari a 0.3688 si può dedurre che le due variabili non sono correlate. I punti sono dispersi casualmente intorno alla retta di regressione lineare.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Kmax [D] a 1 mese dall'intervento Superficie Posteriore Corneale	Cilindro corneale [D] a 1 mese dall'intervento
1	17	4	-9.29	-1.13
2	26	1	-7.19	-1.01
3	21	2	-9.80	-4.38
4	48	4	-10.31	-4.39
5	71	4	-9.29	-1.51
6	32	4	-10.24	-6.13
7	31	3	-8.71	-3.95
8	26	3	-9.51	-1.67
9	28	2	-9.13	-2.56
10	31	1	-7.84	-2.07
11	30	2	-7.23	-3.28
12	47	3	-8.11	-5.61
13	27	3	-9.10	-5.74
14	54	2	-7.86	-2.24
15	33	1	-9.86	-3.21
16	40	1	-10.95	-3.62
17	46	1	-7.45	-4.89
18	25	2	-9.50	-3.27
19	40	2	-10.24	-2.72
20	30	4	-11.24	-10.20
21	27	2	-7.43	-1.36
22	29	4	-10.24	-6.60
23	20	4	-10.67	-5.75

Tabella 42: Massima curvatura sagittale posteriore e Cilindro corneale a 1 mese dall'intervento derivanti dalle mappe topografiche di 23 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria.

	KMAX SUPERFICIE POSTERIORE A 1M DALL'INTERVENTO	CILINDRO CORNEALE A 1M DALL'INTERVENTO
KMAX SUPERFICIE POSTERIORE A 1M DALL'INTERVENTO	1	
CILINDRO CORNEALE A 1M DALL'INTERVENTO	0.5060	1

Tabella 43: Risultati della correlazione tra il Kmax della superficie posteriore e lo Cilindro corneale a 1 mese dall'intervento.

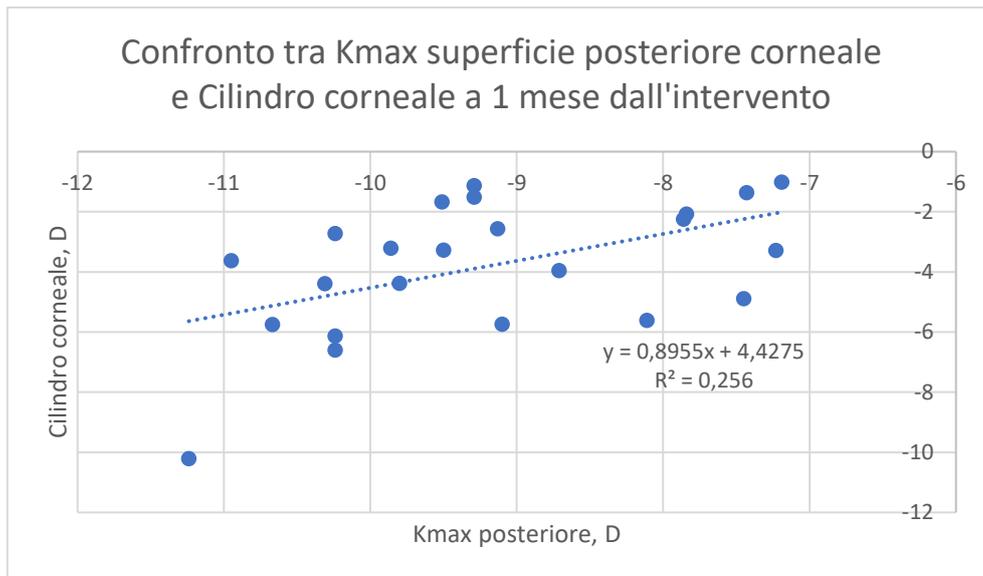


grafico 14: Scatter plot tra il Kmax della superficie posteriore e lo Cilindro corneale a 1 mese dall'intervento.

Lo scatter plot nel grafico 14 raffigura la relazione tra il Kmax della superficie posteriore (ascissa, in diottrie) e il Cilindro corneale (ordinate, in diottrie) a 1 mese dall'intervento. Confrontando il grafico 13 con il grafico 14 e i loro coefficienti di correlazione si può dedurre che anche a distanza di 1 mese le due variabili continuano ad essere non correlate.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Kmax [D] a 6 mesi dall'intervento Superficie Posteriore Corneale	Cilindro corneale [D] a 6 mesi dall'intervento
1	17	4	-9.26	-6.35
2	26	1	-7.32	-1.01
3	21	2	-9.45	-1.21
4	48	4	-10.43	-3.73
5	71	4	-9.18	-1.76
6	32	4	-10.13	-5.39
7	31	3	-8.52	-3.46
8	26	3	-8.95	-1.98
9	28	2	-8.25	-2.37
10	31	1	-7.74	-1.59
11	30	2	-9.02	-3.30
12	47	3	-9.85	-4.41
13	27	3	-9.68	-6.10
14	54	2	-7.85	-1.97
15	33	1	-8.48	-2.27
16	40	1	-10.66	-4.30
17	46	1	-7.11	-4.83
18	25	2	-9.46	-2.38
19	40	2	-10.27	-2.42
20	30	4	-	-
21	27	2	-	-
22	29	4	-	-
23	20	4	-	-

Tabella 44: Massima curvatura sagittale posteriore e Cilindro corneale a 6 mesi dall'intervento derivanti dalle mappe topografiche di 19 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria.

	KMAX SUPERFICIE POSTERIORE A 6M DALL'INTERVENTO	CILINDRO CORNEALE A 6M DALL'INTERVENTO
KMAX SUPERFICIE POSTERIORE A 6M DALL'INTERVENTO	1	0
CILINDRO CORNEALE A 6M DALL'INTERVENTO	0.3714	1

Tabella 45: Risultati della correlazione tra il Kmax della superficie posteriore e lo Cilindro corneale a 6 mesi dall'intervento.

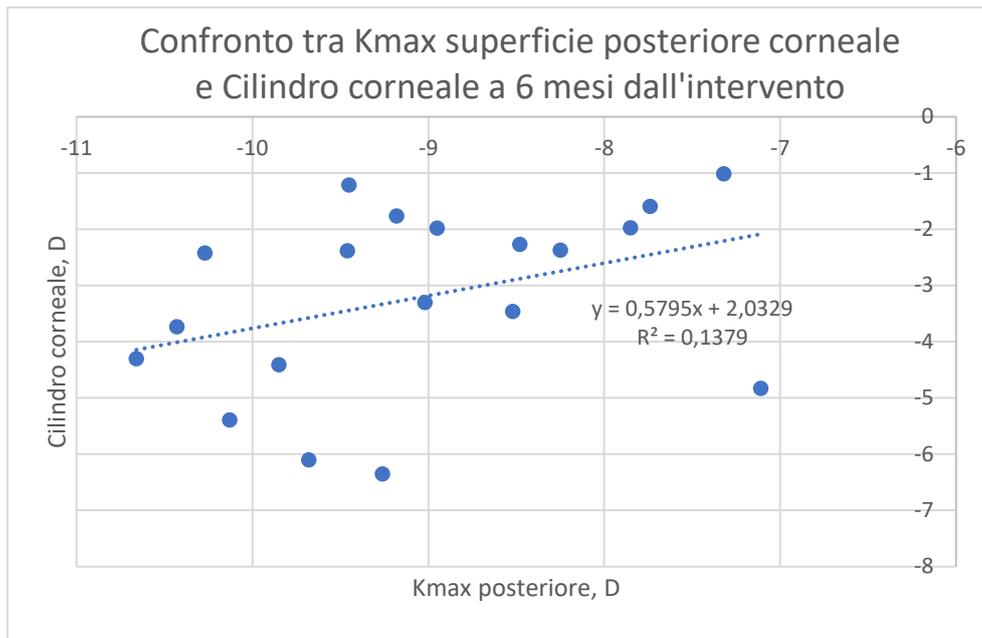


grafico 15: Scatter plot tra il Kmax della superficie posteriore e lo Cilindro corneale a 6 mesi dall'intervento

Lo scatter plot nel grafico 15 raffigura la relazione tra il Kmax della superficie posteriore (ascissa, in diottrie) e il Cilindro corneale (ordinate, in diottrie) a 6 mesi dall'intervento. Confrontando il grafico 13 e il grafico 14 con il grafico 15 e i loro coefficienti di correlazione si può dedurre che anche a distanza di 6 mesi le due variabili continuano a non essere correlate.

Si è stimata la correlazione tra spessore e il Cilindro corneale prima dell'intervento, a 1 mese e a 6 mesi successivi al Cross-Linking. Per ciascun paziente è stata indicata l'età e lo stadio.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Thk [ $\mu\text{m}$ ] Pre-intervento	Cilindro corneale [D] Pre-intervento
1	17	4	438	-2.14
2	26	1	507	-1.08
3	21	2	504	-1.24
4	48	4	435	-3.07
5	71	4	455	-1.67
6	32	4	505	-1.47
7	31	3	494	-3.35
8	26	3	450	-1.57
9	28	2	465	-3.15
10	31	1	497	-1.46
11	30	2	427	-2.98
12	47	3	443	-3.61
13	27	3	493	-6.24
14	54	2	457	-2.55
15	33	1	496	-2.62
16	40	1	504	-3.03
17	46	1	481	-5.55
18	25	2	461	-3.36
19	40	2	508	-2.20
20	30	4	419	-8.59
21	27	2	477	-3.12
22	29	4	444	-7.04
23	20	4	459	-5-83

Tabella 46: Spessore e Cilindro corneale prima dell'intervento derivanti dalle mappe topografiche di 23 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria.

	THK PRIMA DELL'INTERVENTO	CILINDRO CORNEALE PRIMA DELL'INTERVENTO
THK PRIMA DELL'INTERVENTO	1	
CILINDRO CORNEALE PRIMA DELL'INTERVENTO	0.4109	1

Tabella 47: Risultati della correlazione tra lo spessore e Cilindro corneale prima dell'intervento.

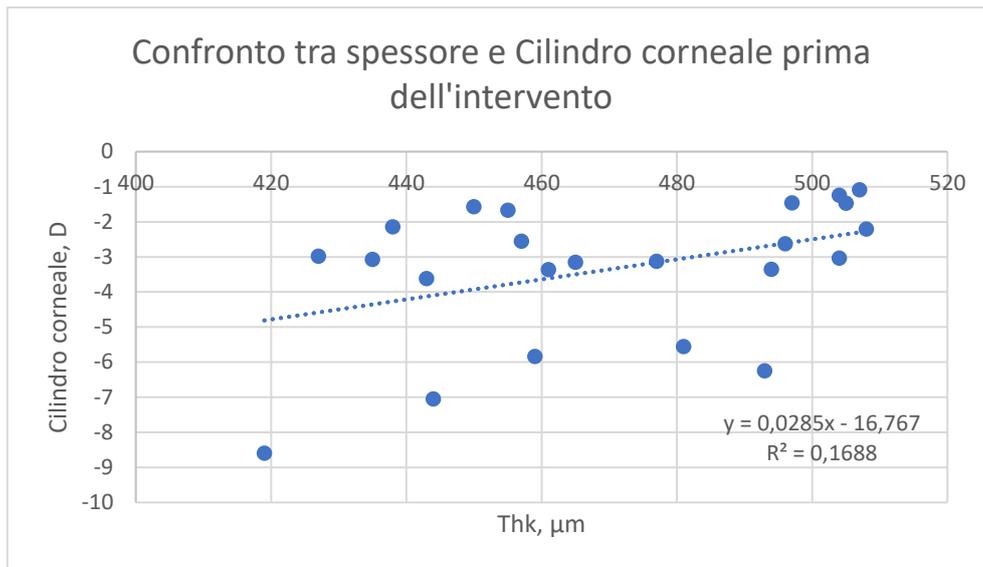


grafico 16: Scatter plot tra lo spessore e Cilindro corneale prima dell'intervento.

Lo scatter plot nel grafico 16 raffigura la relazione tra lo spessore (ascissa, in diottrie) e il Cilindro corneale (ordinate, in diottrie) prima dell'intervento. Dal grafico a dispersione e dal coefficiente di correlazione pari a 0.4109 si può dedurre che le due variabili non sono correlate. I punti sono dispersi casualmente intorno alla retta di regressione lineare.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Thk [ $\mu\text{m}$ ] a 1 mese dall'intervento	Cilindro corneale [D] a 1 mese dall'intervento
1	17	4	468	-1.13
2	26	1	430	-1.01
3	21	2	317	-4.38
4	48	4	412	-4.39
5	71	4	462	-1.51
6	32	4	466	-6.13
7	31	3	490	-3.95
8	26	3	451	-1.67
9	28	2	453	-2.56
10	31	1	466	-2.07
11	30	2	377	-3.28
12	47	3	365	-5.61
13	27	3	403	-5.74
14	54	2	471	-2.24
15	33	1	398	-3.21
16	40	1	395	-3.62
17	46	1	489	-4.89
18	25	2	396	-3.27
19	40	2	370	-2.72
20	30	4	402	-10.20
21	27	2	295	-1.36
22	29	4	456	-6.60
23	20	4	452	-5.75

Tabella 48: Spessore e Cilindro corneale a 1 mese dall'intervento derivanti dalle mappe topografiche di 23 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria.

	THK A 1M DALL'INTERVENTO	CILINDRO CORNEALE A 1M DALL'INTERVENTO
THK A 1M DALL'INTERVENTO	1	
AR A 1M DALL'INTERVENTO	0.0246	1

Tabella 49: Risultati della correlazione tra lo spessore e Cilindro corneale a 1 mese dall'intervento.

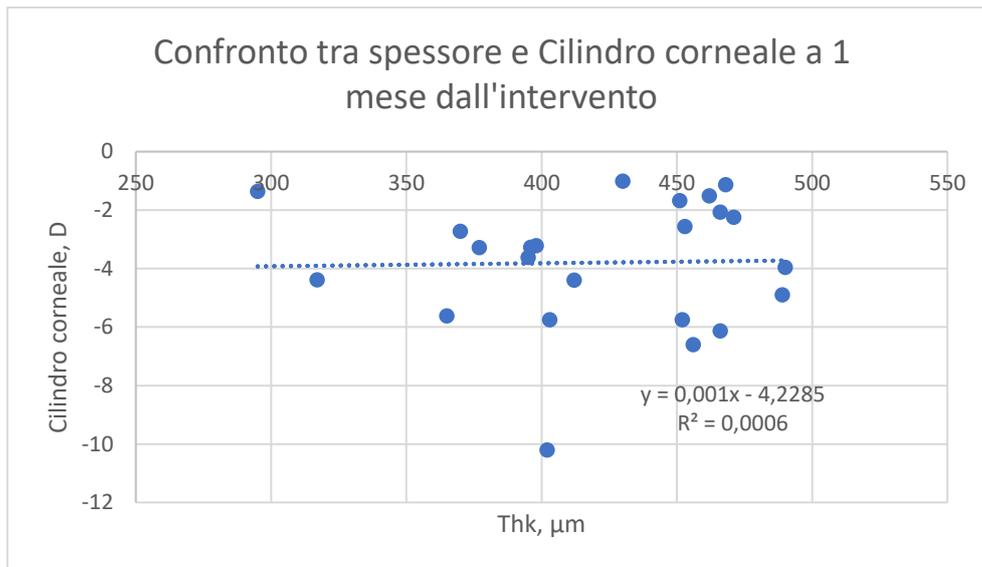


grafico 17: Scatter plot tra lo spessore e Cilindro corneale a 1 mese dall'intervento

Confrontando il grafico 17 con il grafico 16 e i coefficienti di correlazione si può notare che a distanza di 1 mese le due variabili continuano a non essere correlate.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Thk [ $\mu\text{m}$ ] a 6 mesi dell'intervento	Cilindro corneale [D] a 6 mesi dell'intervento
1	17	4	213	-6.35
2	26	1	430	-1.01
3	21	2	424	-1.21
4	48	4	433	-3.73
5	71	4	462	-1.76
6	32	4	471	-5.39
7	31	3	496	-3.46
8	26	3	462	-1.98
9	28	2	461	-2.37
10	31	1	438	-1.59
11	30	2	371	-3.30
12	47	3	390	-4.41
13	27	3	409	-6.10
14	54	2	482	-1.97
15	33	1	436	-2.27
16	40	1	473	-4.30
17	46	1	508	-4.83
18	25	2	414	-2.38
19	40	2	380	-2.42
20	30	4	-	-
21	27	2	-	-
22	29	4	-	-
23	20	4	-	-

Tabella 50: Spessore e Cilindro corneale a 6 mesi dall'intervento derivanti dalle mappe topografiche di 19 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria.

	THK A 6M DALL'INTERVENTO	CILINDRO CORNEALE A 6M DALL'INTERVENTO
THK A 6M DALL'INTERVENTO	1	
AR A 6M DALL'INTERVENTO	0.3392	1

Tabella 51: Risultati della correlazione tra lo spessore e Cilindro corneale a 6 mesi dall'intervento.

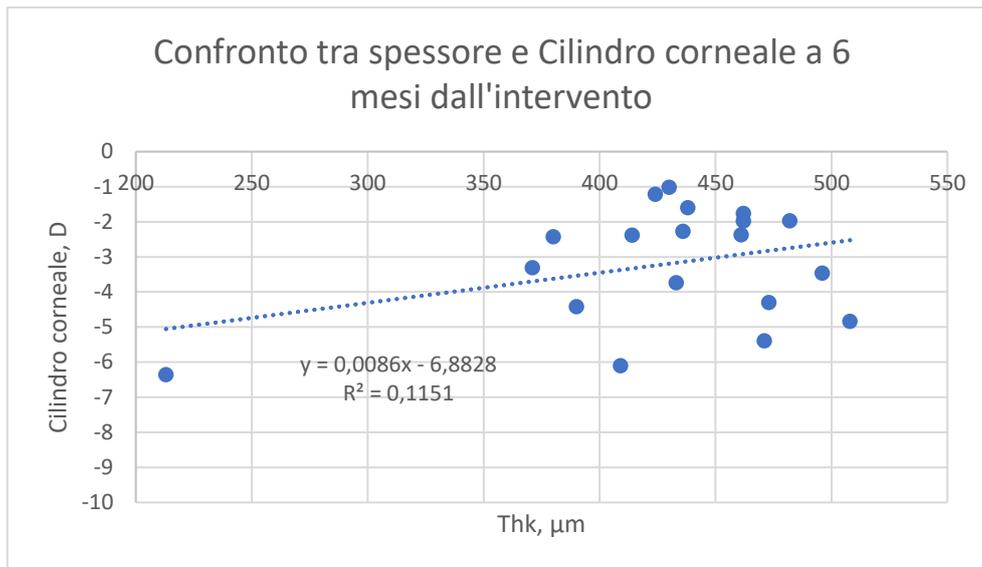


grafico 18: Scatter plot tra lo spessore e Cilindro corneale a 6 mesi dall'intervento.

A distanza di 6 mesi dalla terapia viene confermata l'assenza di correlazione tra lo spessore corneale e il cilindro corneale, come mostra il grafico 18 e il coefficiente di correlazione pari a 0.3392.

## 5.5 Calcolo statistico dell'indice cheratometrico che valuta l'efficacia del Cross-Linking e risultati

Una volta acquisiti tutti i dati topografici delle 23 cornee patologiche, si è proceduto con il calcolo matematico del nuovo indice cheratometrico. Il fine di questa tesi magistrale è proporre questo indice che valuti non solo quantitativamente il successo della terapia, ma anche che affianchi l'eventuale scelta oggettiva di adottare ulteriori azioni terapeutiche da parte dell'Oculista.

La curvatura (Kmax) è gold-standard più comunemente utilizzato per rilevare o documentare la progressione dell'ectasia ed è comunemente impiegato come indicatore dell'efficacia del Cross-Linking [73]. In seguito al trattamento la curvatura, con lo scorrere dei mesi, dovrebbe regredire o almeno arrestare il suo sviluppo. Per questa ragione nel ricavare l'indice di successo del Cross-Linking si è deciso di focalizzarsi sul Kmax.

Per facilitare e velocizzare la comprensione al medico di tale nuovo parametro, esso verrà fornito come valore numerico adimensionale in percentuale. Vengono ricavati due indici relativi alla superficie anteriore della cornea, uno che determina il successo a 1 mese dalla terapia, l'altro visualizza il successo a 6 mesi dall'operazione.

Nel calcolo dell'indice cheratometrico a 1 mese dalla terapia viene messo in relazione la massima curvatura sagittale anteriore 1 mese dopo il Cross-Linking con quella prima dell'intervento.

$$indice_{1M} \% = \frac{Kmax_{ant_{1M}} - Kmax_{ant_{pre}}}{Kmax_{ant_{pre}}} \cdot 100 \quad (21)$$

Dove:

- $Kmax_{ant_{1M}}$  è la massima curvatura sagittale anteriore 1 mese dopo il Cross-Linking
- $Kmax_{ant_{pre}}$  è la massima curvatura sagittale anteriore prima dell'intervento

Nel calcolo dell'indice cheratometrico a 6 mesi dalla terapia viene messo in relazione la massima curvatura sagittale anteriore 6 mesi dopo il Cross-Linking con quella prima dell'intervento.

$$indice_{6M} \% = \frac{Kmax_{ant_{6M}} - Kmax_{ant_{pre}}}{Kmax_{ant_{pre}}} \cdot 100 \quad (22)$$

Dove:

- $Kmax_{ant_{6M}}$  è la massima curvatura sagittale anteriore 6 mesi dopo il Cross-Linking
- $Kmax_{ant_{pre}}$  è la massima curvatura sagittale anteriore prima dell'intervento

Nella Tabella 52 sono riassunti i valori dei Kmax della superficie anteriore in diottrie prima e a 1 mese dal Cross-Linking delle 23 cornee patologiche, sono state indicate anche per ogni paziente l'età e lo stadio. Applicando la formula dell'indice<sub>1M</sub> % su Microsoft Office Excel è stato calcolato il valore corrispondente per ogni singola superficie corneale anteriore corrispondente all'occhio destro.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Kmax [D] Pre-intervento Relativa alla Superficie Corneale Anteriore	Kmax [D] a 1 mese dall'intervento Relativa alla Superficie Corneale Anteriore	Indice in percentuale a 1 mese dall'intervento Relativa alla Superficie Corneale Anteriore
1	17	4	58.94	48.48	-17.75
2	26	1	47.21	47.07	-0.30
3	21	2	48.28	49.93	3.42
4	48	4	55.25	55.26	0.02
5	71	4	55.78	55.65	-0.23
6	32	4	47.68	61.85	29.72
7	31	3	53.11	52.89	-0.41
8	26	3	53.51	53.88	0.69
9	28	2	52.32	51.60	-1.38
10	31	1	47.81	50.39	5.40
11	30	2	51.14	51.59	0.88
12	47	3	48.29	49.81	3.15
13	27	3	54.85	53.21	-2.99
14	54	2	48.41	48.44	0.06
15	33	1	47.95	47.65	-0.63
16	40	1	52.35	53.65	2.48
17	46	1	47.89	47.97	0.17
18	25	2	52.97	52.70	-0.51
19	40	2	50.40	53.15	5.46
20	30	4	61.23	62.68	2.37
21	27	2	47.80	50.00	4.60
22	29	4	63.29	60.85	-3.86
23	20	4	59.39	59.26	-0.22

Tabella 52: Massima curvatura sagittale anteriore prima dell'intervento, massima curvatura sagittale anteriore a 1 mese dalla terapia derivanti dalle mappe topografiche di 23 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria, indice cheratometrico a 1 mese dal Cross-Linking.

Nel grafico 19 viene raffigurato l'indice di gravità attinente alla superficie anteriore corneale a 1 mese dal Cross-Linking. Osservando il numeratore dell' $indice_{1M} \%$  è presente la differenza tra  $Kmax_{ant_{1M}} - Kmax_{ant_{pre}}$ , perciò per riscontrare un miglioramento nella terapia l' $indice_{1M} \%$  deve restituire una quantità percentuale negativa o prossima allo zero, essendo che la misura del  $Kmax_{ant_{pre}}$  dovrebbe risultare maggiore del  $Kmax_{ant_{1M}}$ .

Si può dedurre che l'intervento è risultato favorevole, con la relativa regressione della curvatura della superficie anteriore corneale dopo 1 mese, riscontrando un indice inferiore a zero, se è pari o prossimo a zero la curvatura si è stabilizzata e non è progredita nel tempo.

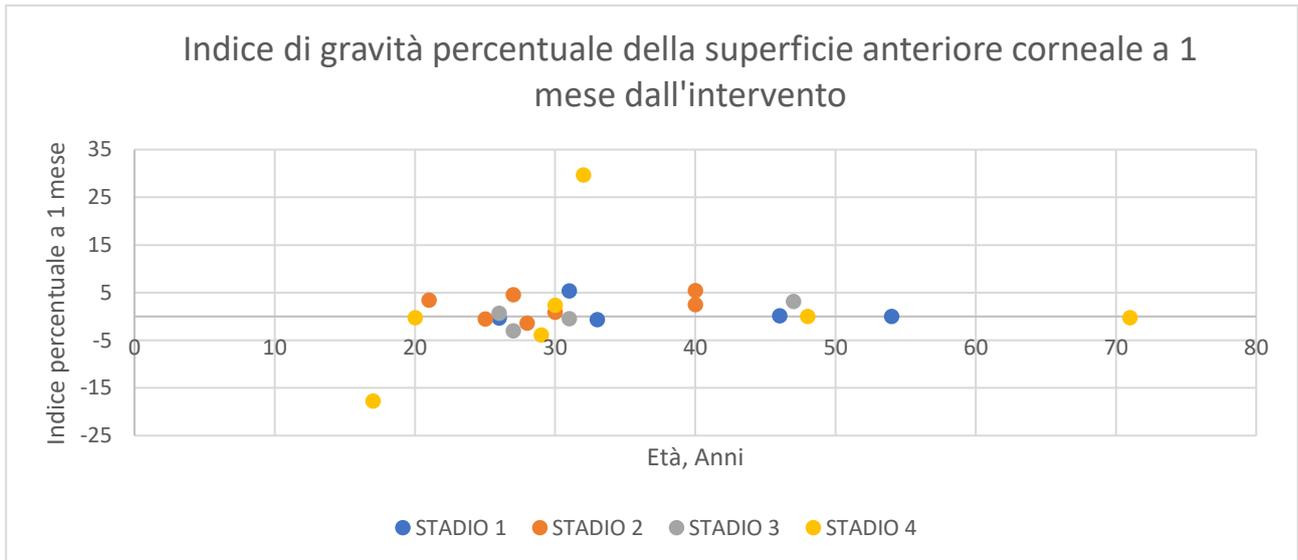


grafico 19: Indice di gravità in percentuale della superficie anteriore corneale a 1 mese dal Cross-Linking.

I colori rappresentano gli stadi, sull'ascisse è collocata l'età del paziente e sull'ordinate invece l'indice percentuale a 1 mese dal Cross-Linking.

Dal grafico 19 si può constatare che non tutte le cornee rispondono nell'immediato, infatti molti valori ottenuti dell' $indice_{1M} \%$  sono al di sopra dell'asse e maggiori o in prossimità dello zero, ciò può essere dovuto ad una risposta infiammatoria del paziente dopo il trattamento oppure può essere legato alla risposta di una cornea adulta, che fisiologicamente presenta una stroma più duro.

Nella Tabella 53 sono riassunti i valori dei Kmax della superficie anteriore in diottrie prima, a 6 mesi dal Cross-Linking delle 19 cornee patologiche, sono state indicate anche per ogni paziente l'età e lo stadio. Applicando la formula dell' $indice_{6M} \%$  su Microsoft Office Excel è stato calcolato il valore corrispondente per ogni singola superficie corneale anteriore corrispondente all'occhio destro.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Kmax [D] Pre-intervento Superficie Anteriore Corneale	Kmax [D] a 6 mesi dell'intervento Superficie Anteriore Corneale	Indice in percentuale a 6 mesi dall'intervento Relativa alla Superficie Corneale Anteriore
1	17	4	58.94	57.44	-2.54
2	26	1	47.21	47.08	-0.28
3	21	2	48.28	47.51	-1.59
4	48	4	55.25	55.38	0.24
5	71	4	55.78	55.67	-0.20
6	32	4	47.68	61.80	29.61
7	31	3	53.11	54.30	2.24
8	26	3	53.51	53.62	0.21
9	28	2	52.32	52.12	-0.38
10	31	1	47.81	47.94	0.27
11	30	2	51.14	50.69	-0.88
12	47	3	48.29	49.01	1.49
13	27	3	54.85	53.46	-2.53
14	54	2	48.41	48.57	0.33
15	33	1	47.95	46.80	-2.40
16	40	1	52.35	52.72	0.71
17	46	1	47.89	48.14	0.52
18	25	2	52.97	52.44	-1.00
19	40	2	50.40	49.20	-2.38
20	30	4	61.23	-	-
21	27	2	47.80	-	-
22	29	4	63.29	-	-
23	20	4	59.39	-	-

Tabella 53: Massima curvatura sagittale anteriore prima dell'intervento, massima curvatura sagittale anteriore a 6 mesi dalla terapia derivanti dalle mappe topografiche di 19 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria, indice cheratometrico a 6 mesi dal Cross-Linking.

Nel grafico 20 viene raffigurato l'indice di gravità attinente alla superficie anteriore corneale a 6 mesi dal Cross-Linking. Osservando il numeratore dell' $indice_{6M} \%$  è presente la differenza tra  $Kmax_{ant_{6M}} - Kmax_{ant_{pre}}$ , perciò per riscontrare un miglioramento nella terapia l' $indice_{6M} \%$  deve restituire una quantità percentuale negativa o prossima allo zero, essendo che la misura del  $Kmax_{ant_{pre}}$  dovrebbe risultare maggiore del  $Kmax_{ant_{6M}}$ .

Si può dedurre che l'intervento è risultato favorevole, con la relativa regressione della curvatura della superficie anteriore corneale dopo 6 mesi, riscontrando un indice inferiore a zero, se è pari o prossimo a zero la curvatura si è stabilizzata e non è progredita nel tempo.

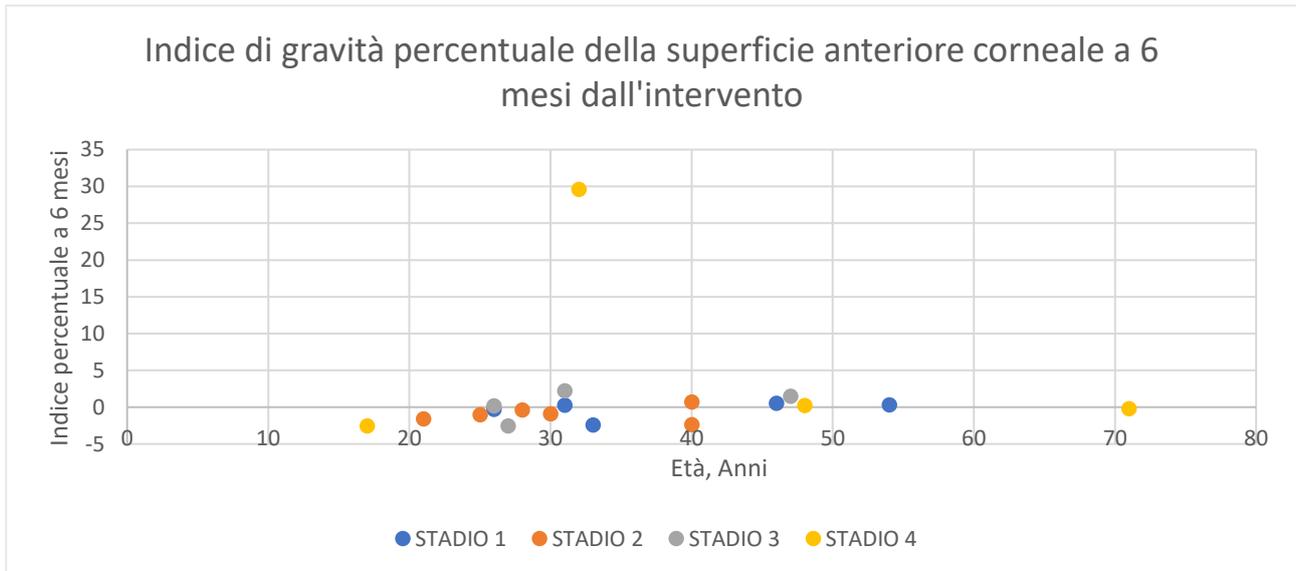


grafico 20: Indice di gravità in percentuale della superficie anteriore corneale a 6 mesi dal Cross-Linking.

I colori rappresentano gli stadi, sull'ascisse è collocata l'età del paziente e sull'ordinate invece l'indice percentuale a 6 mesi dal Cross-Linking.

Dal grafico 20 si può notare che valori ottenuti dell'indice<sub>6M</sub> % sono al di sotto dell'asse o in prossimità dello zero, si può dedurre che la fase infiammatoria presente a 1 mese cessi dopo 6 mesi, riscontrando quasi per tutti i pazienti un miglioramento dell'indice di gravità con la relativa regressione o stabilità della curvatura della superficie anteriore corneale e di conseguenza il successo della terapia.

L'eccezione è il paziente numero 6, il quale a 6 mesi continua ad avere un indice cheratometrico molto alto, pari a 29.61, questo può essere conseguente ad un errore di misura del topografo oppure può essere legato al 4 stadio della malattia.

È stato proposto l'utilizzo della stessa formula anche nel calcolo dell'indice riferito alla superficie posteriore della cornea.

Nel calcolo dell'indice cheratometrico a 1 mese dalla terapia viene messo in relazione la massima curvatura sagittale posteriore 1 mese dopo il Cross-Linking con quella prima dell'intervento.

$$indice_{1M} \% = \frac{Kmax_{post_{1M}} - Kmax_{post_{pre}}}{Kmax_{post_{pre}}} \cdot 100 \quad (23)$$

Dove:

- $Kmax_{post_{1M}}$  è la massima curvatura sagittale posteriore 1 mese dopo il Cross-Linking
- $Kmax_{post_{pre}}$  è la massima curvatura sagittale posteriore prima dell'intervento

Nel calcolo dell'indice cheratometrico a 6 mesi dalla terapia viene messo in relazione la massima curvatura sagittale posteriore 6 mesi dopo il Cross-Linking con quella prima dell'intervento.

$$indice_{6M}\% = \frac{Kmax_{post_{6M}} - Kmax_{post_{pre}}}{Kmax_{post_{pre}}} \cdot 100 \quad (24)$$

Dove:

- $Kmax_{post_{6M}}$  è la massima curvatura sagittale posteriore 6 mesi dopo il Cross-Linking
- $Kmax_{post_{pre}}$  è la massima curvatura sagittale posteriore prima dell'intervento

Nella Tabella 54 sono riassunti i valori dei Kmax della superficie posteriore in diottrie prima e a 1 mese dal Cross-Linking delle 23 cornee patologiche, sono state indicate anche per ogni paziente l'età e lo stadio. Applicando la formula dell'indice<sub>1M</sub> % su Microsoft Office Excel è stato calcolato il valore corrispondente per ogni singola superficie corneale posteriore corrispondente all'occhio destro.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Kmax [D] Pre-intervento Superficie Posteriore Corneale	Kmax [D] a 1 mese dell'intervento Superficie Posteriore Corneale	Indice in percentuale a 1 mese dall'intervento Relativa alla Superficie Corneale Posteriore
1	17	4	-9.76	-9.29	-4.82
2	26	1	-7.15	-7.19	0.56
3	21	2	-9.96	-9.80	-1.61
4	48	4	-10.45	-10.31	-1.34
5	71	4	-9.78	-9.29	-5.01
6	32	4	-10.46	-10.24	-2.10
7	31	3	-8.83	-8.71	-1.36
8	26	3	-8.97	-9.51	6.02
9	28	2	-10.09	-9.13	-9.51
10	31	1	-8.20	-7.84	-4.39
11	30	2	-9.80	-7.23	-26.22
12	47	3	-8.69	-8.11	-6.67
13	27	3	-8.40	-9.10	8.33
14	54	2	-7.61	-7.86	3.29
15	33	1	-7.83	-9.86	25.93
16	40	1	-10.76	-10.95	1.77
17	46	1	-7.33	-7.45	1.64
18	25	2	-8.48	-9.50	12.03
19	40	2	-7.38	-10.24	38.75
20	30	4	-11.37	-11.24	-1.14
21	27	2	-7.44	-7.43	-0.13
22	29	4	-10.79	-10.24	-5.10
23	20	4	-12.50	-10.67	-14.64

Tabella 54: Massima curvatura sagittale posteriore prima dell'intervento, massima curvatura sagittale posteriore a 1 mese dalla terapia derivanti dalle mappe topografiche di 23 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria, indice cheratometrico a 1 mese dal Cross-Linking.

Nel grafico 21: Indice di gravità in percentuale della superficie posteriore corneale a 1 mese dal Cross-Linking. grafico 21 viene raffigurato l'indice di gravità attinente alla superficie posteriore corneale a 1 mese dal Cross-Linking. Osservando il numeratore dell' $indice_{1M} \%$  è presente la differenza tra  $Kmax_{post_{1M}} - Kmax_{post_{pre}}$ , perciò per riscontrare un miglioramento nella terapia l' $indice_{1M} \%$  deve restituire una quantità percentuale negativa o prossima allo zero, essendo che la misura del  $Kmax_{post_{pre}}$  dovrebbe risultare maggiore del  $Kmax_{post_{1M}}$ .

Si può dedurre che l'intervento è risultato favorevole, con la relativa regressione della curvatura della superficie posteriore corneale dopo 1 mese, riscontrando un indice inferiore a zero, se è pari o prossimo a zero la curvatura si è stabilizzata e non è progredita nel tempo.

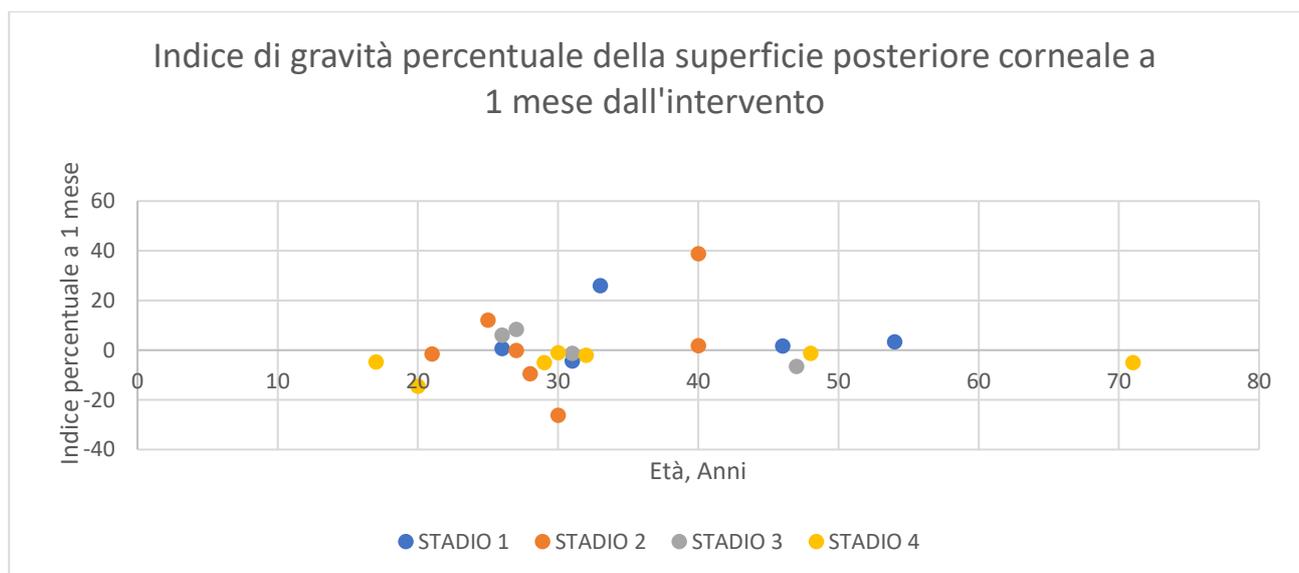


grafico 21: Indice di gravità in percentuale della superficie posteriore corneale a 1 mese dal Cross-Linking.

I colori rappresentano gli stadi, sull'ascisse è collocata l'età del paziente e sull'ordinate invece l'indice percentuale a 1 mese dal Cross-Linking.

Dal grafico 21 si può riscontrare una risposta molto variabile della superficie posteriore della cornea a 1 mese dalla terapia, infatti molti valori ottenuti dell' $indice_{1M} \%$  sono al di sopra dell'asse e maggiori o in prossimità dello zero.

Nella Tabella 55 sono riassunti i valori dei Kmax della superficie posteriore in diottrie prima, a 6 mesi dal Cross-Linking delle 19 cornee patologiche, sono state indicate anche per ogni paziente l'età e lo stadio. Applicando la formula dell' $indice_{6M} \%$  su Microsoft Office Excel è stato calcolato il valore corrispondente per ogni singola superficie corneale anteriore corrispondente all'occhio destro.

Paziente n.	Età [Anni]	Stadio	Kmax [D] Pre-intervento Superficie Posteriore Corneale	Kmax [D] a 6 mesi dell'intervento Superficie Posteriore Corneale	Indice in percentuale a 6 mesi dall'intervento Relativa alla Superficie Corneale Posteriore
1	17	4	-9.76	-9.26	-5.12
2	26	1	-7.15	-7.32	2.38
3	21	2	-9.96	-9.45	-5.12
4	48	4	-10.45	-10.43	-0.19
5	71	4	-9.78	-9.18	-6.13
6	32	4	-10.46	-10.13	-3.15
7	31	3	-8.83	-8.52	-3.51
8	26	3	-8.97	-8.95	-0.22
9	28	2	-10.09	-8.25	-18.24
10	31	1	-8.20	-7.74	-5.61
11	30	2	-9.80	-9.02	-7.96
12	47	3	-8.69	-9.85	13.35
13	27	3	-8.40	-9.68	15.24
14	54	2	-7.61	-7.85	3.15
15	33	1	-7.83	-8.48	8.30
16	40	1	-10.76	-10.66	-0.93
17	46	1	-7.33	-7.11	-3.00
18	25	2	-8.48	-9.46	11.56
19	40	2	-7.38	-10.27	39.16
20	30	4	-11.37	-	-
21	27	2	-7.44	-	-
22	29	4	-10.79	-	-
23	20	4	-12.50	-	-

Tabella 55: Massima curvatura sagittale posteriore prima dell'intervento, massima curvatura sagittale posteriore a 6 mesi dalla terapia derivanti dalle mappe topografiche di 19 cornee sottoposte al Cross-Linking presso l'Ospedale di Alessandria, indice cheratometrico a 6 mesi dal Cross-Linking.

Nel grafico 21: Indice di gravità in percentuale della superficie posteriore corneale a 1 mese dal Cross-Linking. grafico 22 viene raffigurato l'indice di gravità attinente alla superficie posteriore corneale a 6 mesi dal Cross-Linking. Osservando il numeratore dell' $indice_{6M} \%$  è presente la differenza tra  $Kmax_{post_{6M}} - Kmax_{post_{pre}}$ , perciò per riscontrare un miglioramento nella terapia l' $indice_{6M} \%$  deve restituire una quantità percentuale negativa o prossima allo zero, essendo che la misura del  $Kmax_{post_{pre}}$  dovrebbe risultare maggiore del  $Kmax_{post_{6M}}$ .

Si può dedurre che l'intervento è risultato favorevole, con la relativa regressione della curvatura della superficie posteriore corneale dopo 6 mesi, riscontrando un indice inferiore a zero, se è pari o prossimo a zero la curvatura si è stabilizzata e non è progredita nel tempo.

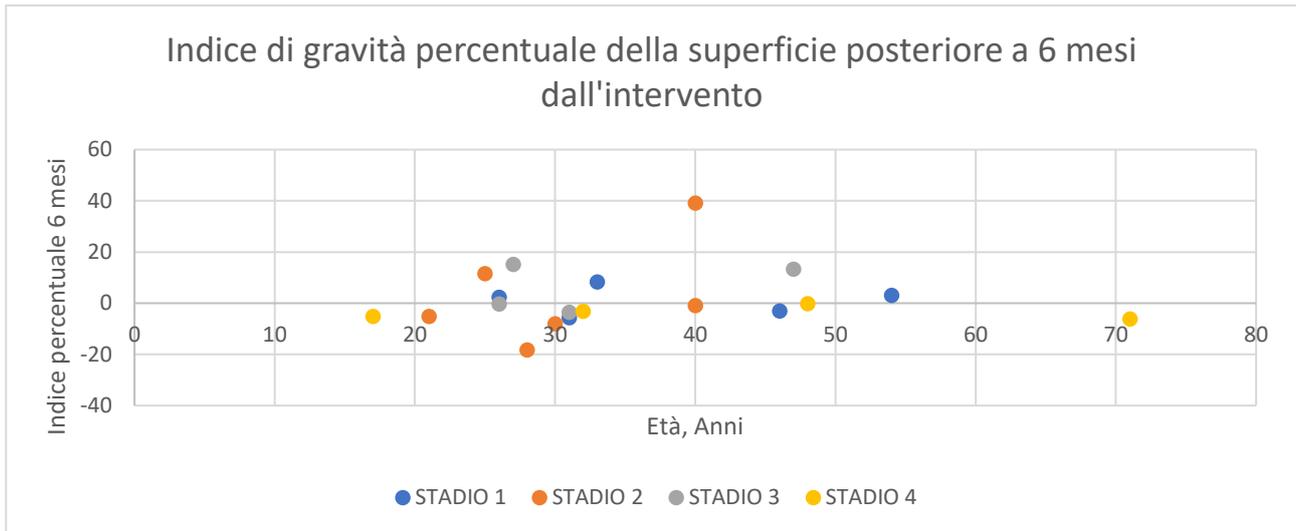


grafico 22: Indice di gravità in percentuale della superficie posteriore corneale a 6 mesi dal Cross-Linking.

I colori rappresentano gli stadi, sull'ascisse è collocata l'età del paziente e sull'ordinate invece l'indice percentuale a 6 mesi dal Cross-Linking.

Dal grafico 22 si può riscontrare una risposta molto variabile della superficie posteriore della cornea a 6 mesi dalla terapia, fenomeno già presente dopo 1 mese, infatti molti valori ottenuti dell' $indice_{6M} \%$  sono al di sopra dell'asse e maggiori o in prossimità dello zero. Il Cross-Linking è una terapia che agisce principalmente sulla superficie anteriore e questo può essere una motivazione del risultato instabile sulla superficie posteriore e non solo, bisogna considerare che ogni cornea parte da una spessore iniziale differente.

Il cambiamento della superficie anteriore corneale potrebbe anche fare da schermo e condizionare la rilevazione dei dati della superficie posteriore da parte del topografo.

Nella Tabella 56 sono riassunti per ciascun paziente l'età, l'indice percentuali della superficie anteriore corneale a 1 mese dall'intervento, l'indice percentuale della superficie anteriore corneale a 6 mesi dall'intervento, l'indice percentuale della superficie posteriore corneale a 1 mese dall'intervento, l'indice percentuale della superficie posteriore corneale a 6 mesi dall'intervento.

<b>Paziente n.</b>	<b>Età [Anni]</b>	<b>Indice in percentuale a 1 mese dall'intervento Relativa alla Superficie Corneale Anteriore</b>	<b>Indice in percentuale a 6 mesi dall'intervento Relativa alla Superficie Corneale Anteriore</b>	<b>Indice in percentuale a 1 mese dall'intervento Relativa alla Superficie Corneale Posteriore</b>	<b>Indice in percentuale a 6 mesi dall'intervento Relativa alla Superficie Corneale Posteriore</b>
<b>1</b>	17	-17.75	-2.54	-4.82	-5.12
<b>23</b>	20	-0.22	-	-14.64	-
<b>3</b>	21	3.42	-1.59	-1.61	-5.12
<b>18</b>	25	-0.51	-1.00	12.03	11.56
<b>2</b>	26	-0.30	-0.28	0.56	2.38
<b>8</b>	26	0.69	0.21	6.02	-0.22
<b>13</b>	27	-2.99	-2.53	8.33	15.24
<b>21</b>	27	4.60	-	-0.13	-
<b>9</b>	28	-1.38	-0.38	-9.51	-18.24
<b>22</b>	29	-3.86	-	-5.10	-
<b>11</b>	30	0.88	-0.88	-26.22	-7.96
<b>20</b>	30	2.37	-	-1.14	-
<b>7</b>	31	-0.41	2.24	-1.36	-3.51
<b>10</b>	31	5.40	0.27	-4.39	-5.61
<b>6</b>	32	29.72	29.61	-2.10	-3.15
<b>15</b>	33	-0.63	-2.40	25.93	8.30
<b>16</b>	40	2.48	0.71	1.77	-0.93
<b>19</b>	40	5.46	-2.38	38.75	39.16
<b>17</b>	46	0.17	0.52	1.64	-3.00
<b>12</b>	47	3.15	1.49	-6.67	13.35
<b>4</b>	48	0.02	0.24	-1.34	-0.19
<b>14</b>	54	0.06	0.33	3.29	3.15
<b>5</b>	71	-0.23	-0.20	-5.01	-6.13

*Tabella 56: Indice percentuale della superficie anteriore corneale a 1 mese dall'intervento, indice percentuale della superficie anteriore corneale a 6 mesi dall'intervento, indice percentuale della superficie posteriore corneale a 1 mese dall'intervento, indice percentuale della superficie posteriore corneale a 6 mesi dall'intervento.*

Nel grafico 23 per ciascun paziente viene confrontato l'indice percentuale della superficie anteriore a 1 mese in arancione con quello a 6 mesi in grigio. Sulle ascisse viene rappresentata l'età, sulle ordinate l'indice percentuale della superficie anteriore.

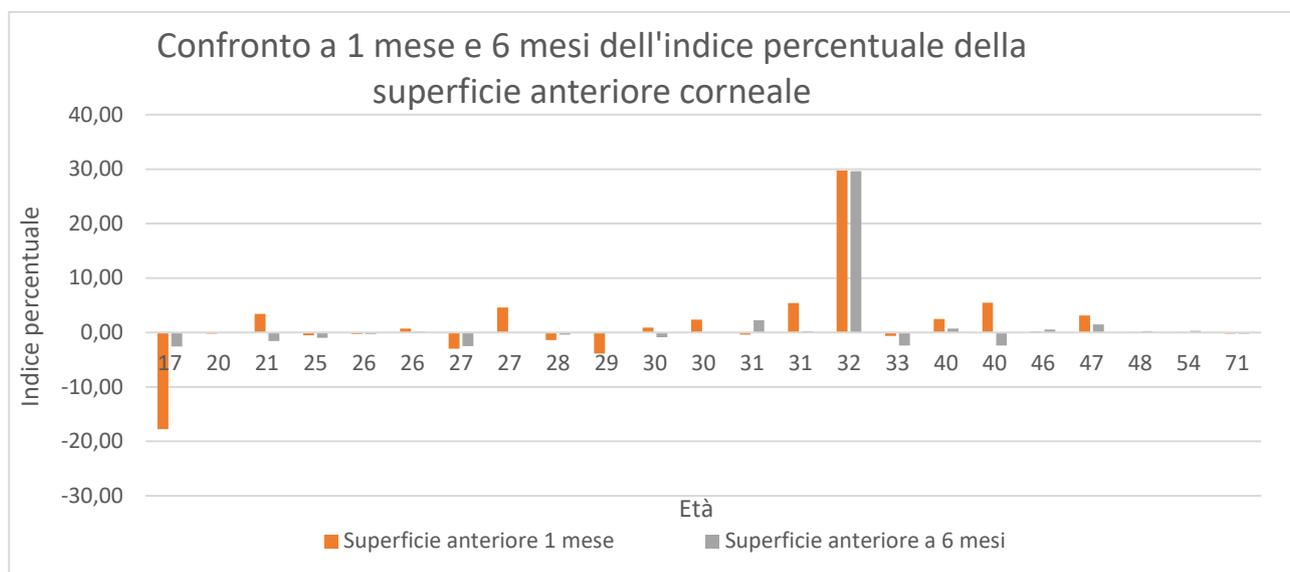


grafico 23: Confronto a 1 mese e 6 mesi dell'indice percentuale della superficie anteriore corneale.

Si può desumere che la terapia ha avuto successo se almeno l'indice percentuale della superficie anteriore a distanza di 6 mesi è collocato sotto o in prossimità dello zero. Nonostante che la risposta alla terapia vari da paziente a paziente e questo è dovuto ad uno spessore di partenza corneale differente, si può osservare che in quasi tutti i casi l'indice, trascorsi i 6 mesi dall'operazione, si dispone sotto o in prossimità dello zero.

Il paziente numero 1 presenta un miglioramento notevole a 1 mese dall'intervento, trascorsi i 6 mesi ha un peggioramento sebbene l'indice sia comunque al di sotto dello zero. Bisogna valutare che tale paziente ha 17 anni, pertanto la cornea è instabile e mutevole nel tempo.

I pazienti con età superiore a 20 anni mostrano una variazione dell'indice a 1 mese e a 6 mesi molto limitata.

Il paziente 6 con età 32 anni ha un indice a 1 mese e a 6 mesi pressoché uguale e con valore molto alto, il trattamento non è risultato favorevole, ciò può essere legato allo stadio avanzato della terapia (4 stadio) oppure essendo una cornea adulta potrebbe essere rigida.

Il paziente di secondo stadio numero 19, con età 40 mostra un peggiora iniziale a 1 mese che regredisce a 6 mesi, mostrando un miglioramento. Il successo del Cross-Linking dipende sia dall'età del paziente che dallo stadio corneale di partenza.

Nel grafico 24 per ciascun paziente viene confrontato l'indice percentuale della superficie posteriore a 1 un mese in arancione con quello a 6 mesi in grigio. Sulle ascisse viene rappresentata l'età, sulle ordinate l'indice percentuale della superficie posteriore.

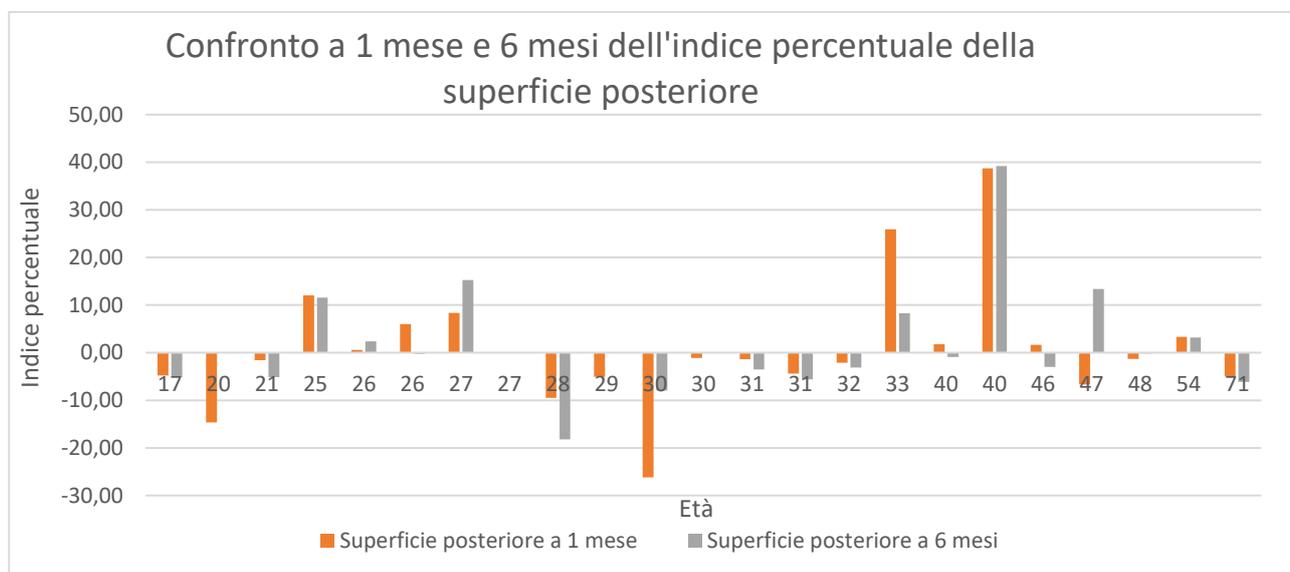


grafico 24: Confronto a 1 mese e 6 mesi dell'indice percentuale della superficie posteriore.

Dal grafico 24 si può riscontrare in tutti i casi un indice sia a 1 mese che a 6 mesi della superficie posteriore instabile e variabile. I motivi possono essere molteplici, bisogna considerare che il Cross-Linking è un trattamento che agisce solo sulla superficie anteriore della cornea e non sulla superficie posteriore, e se anche agisse sulla superficie posteriore bisogna tenere conto che i raggi UV-A devono attraversare tutto lo spessore corneale e un riscaldamento eccessivo della cornea potrebbe causare danni alle strutture interne dell'occhio.

Inoltre il Kmax della superficie anteriore, dopo il Cross-Linking, potrebbe avere un effetto schermate sulla rilevazione dei valori topografici della superficie posteriore.

Bisogna considerare, infine che il campione su cui si è effettuata l'analisi è ridotto.

## CONCLUSIONE

Lo studio approfondito degli indici topografici esistenti e delle mappe topografiche ha portato allo sviluppo di un nuovo indice cheratometrico che permetta di valutare quantitativamente e oggettivamente l'efficacia dell'intervento del Cross-Linking nel corso del tempo e che affianchi il medico nell'eventuale scelta di adottare ulteriori azioni terapeutiche.

Questo indice di gravità adimensionale è stato proposto come valore percentuale di successo al trattamento, per rendere di facile e veloce comprensione la lettura di tale parametro all'Oculista e agli operatori sanitari.

Il Cross-Linking è un trattamento in grado di aumentare il livello di compattazione delle lamelle stromali grazie alla formazione di collagene di neosintesi, inducendo un aumento di rigidità corneale.

Dal confronto tra l'*indice*<sub>1M</sub> % con l'*indice*<sub>6M</sub> % riferiti alla superficie anteriore corneale si evince che non tutte le cornee patologiche dopo 1 mese dal Cross-Linking rispondono, probabilmente è presente una risposta infiammatoria che cessa dopo 6 mesi, in cui si può constatare il successo della terapia, riscontrando un indice a 6 mesi inferiore o prossimo allo zero.

Dal confronto tra l'*indice*<sub>1M</sub> % con l'*indice*<sub>6M</sub> % riferiti alla superficie posteriore corneale si può constatare che in entrambi i casi la risposta al Cross-Linking è molto variabile e instabile, questo perché il trattamento agisce principalmente sulla superficie anteriore corneale e se anche agisse sulla superficie posteriore bisogna valutare che i raggi UV-A devono attraversare tutto lo spessore corneale e un riscaldamento eccessivo della cornea potrebbe provocare danni alle strutture interne oculari. Inoltre il Kmax della superficie anteriore, dopo l'intervento potrebbe esercitare un effetto schermante sulla rivelazione dei valori topografici della superficie posteriore corneale.

Gli sviluppi futuri sono sicuramente testare l'indice di gravità su un campione più ampio, al fine di effettuare un'analisi statistica maggiormente dettagliata rispetto a quanto ottenuto in questo lavoro di tesi magistrale, in modo da ricavare anche un'analisi meno instabile e variabile della superficie posteriore corneale.

Si potrebbe anche sviluppare un programma attraverso l'intelligenza artificiale che restituisca all'Oculista e all'operatore sanitario il valore dell'indice di gravità proposto durante l'esame corneale topografico, con il fine di valutare efficacemente e oggettivamente il successo della terapia e in caso avverso aiuti il medico nella scelta tempestiva di adottare ulteriori azioni terapeutiche.

Il Cross-Linking è l'unica terapia attualmente idonea ad arrestare la progressione del cheratocono, la ricerca in questo campo è in continuo sviluppo, a partire dalla scelta della sostanza fotosensibilizzante e degli enhancer migliori, fino ad arrivare alla scelta dei protocolli idonei da adoperare in sala operatoria.

## BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

- [1] D. W. DelMonte e T. Kim, «Anatomy and physiology of the cornea», *J. Cataract Refract. Surg.*, vol. 37, fasc. 3, pp. 588–598, mar. 2011, doi: 10.1016/j.jcrs.2010.12.037.
- [2] D. Zuin, «Valutazione del comportamento biomeccanico corneale: condizione sana, lesionata e trattata», Tesi magistrale, Università degli studi di Padova, 2022.
- [3] C. Scapin, «Ortocheratologia notturna e proprietà viscoelastiche della cornea», Univesità degli studi di Padova, 2014.
- [4] J. H. Krachmer, M. J. Mannis, e E. J. Holland, «Cornea, Fundamentals, Diagnosis and Management», in *Cornea, Fundamentals, Diagnosis and Management*, Elsevier, 2010.
- [5] G. Pretto, «Sviluppo di un algoritmo per la segmentazione di cellule di endotelio corneale in soggetti patologici», Tesi magistrale, Università degli studi di Padova, 2012.
- [6] N. Formisano *et al.*, «Mechanical Properties of Bioengineered Corneal Stroma», *Adv. Healthc. Mater.*, vol. 10, fasc. 20, p. 2100972, ott. 2021, doi: 10.1002/adhm.202100972.
- [7] S. Hodson, «The regulation of corneal hydration by a salt pump requiring the presence of sodium and bicarbonate ions», *J. Physiol.*, vol. 236, fasc. 2, pp. 271–302, gen. 1974, doi: 10.1113/jphysiol.1974.sp010435.
- [8] T. Seiler, M. Matallana, S. Sendler, e T. Bende, «Does Bowman’s layer determine the biomechanical properties of the cornea?», *Refract. Corneal Surg.*, vol. 8, fasc. 2, pp. 139–142, 1992.
- [9] D. Conti e E. M. Soriano, «Effetto del cross-linking terapeutico sulla biomeccanica corneale: indagine sperimentale in-vitro e modellazione numerica», Tesi Magistrale, Politecnico di Milano, 2018.
- [10] K. M. Meek e C. Boote, «The organization of collagen in the corneal stroma», *Exp. Eye Res.*, vol. 78, fasc. 3, pp. 503–512, mar. 2004, doi: 10.1016/j.exer.2003.07.003.
- [11] E. M. Espana e D. E. Birk, «Composition, structure and function of the corneal stroma», *Exp. Eye Res.*, vol. 198, p. 108137, set. 2020, doi: 10.1016/j.exer.2020.108137.
- [12] P. Flowers, E. J. Neth, W. R. Robinson, K. Theopold, e R. Langley, «Amines and Amides · Chemistry», in *Amines and Amides · Chemistry*, OpenStax, 2019.
- [13] «Collagen», Physiopedia. [Online]. Disponibile su: <https://www.physio-pedia.com/Collagen>
- [14] K. M. Meek, T. Blamires, G. F. Elliott, T. J. Gyi, e C. Nave, «The organisation of collagen fibrils in the human corneal stroma: A synchrotron X-ray diffraction study», *Curr. Eye Res.*, vol. 6, fasc. 7, pp. 841–846, gen. 1987, doi: 10.3109/02713688709034853.
- [15] A. Daxer e P. Fratzl-fX, «Collagen Fibril Orientation in the Human Corneal Stroma and Its Implication in Keratoconus», *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.*, 1997.
- [16] R. H. Newton e K. M. Meek, «The Integration of the Corneal and Limbal Fibrils in the Human Eye», *Biophys. J.*, vol. 75, fasc. 5, pp. 2508–2512, nov. 1998, doi: 10.1016/S0006-3495(98)77695-7.
- [17] A. Pandolfi, «Computational Biomechanics of the Human Cornea», in *Computational Modeling in Biomechanics*, S. De, F. Guilak, e M. Mofrad R. K., A c. di, Springer Netherlands, 2010, pp. 435–466. doi: 10.1007/978-90-481-3575-2\_15.
- [18] F. Deriu, «Cross-linking: risposta elastica corneale a sollecitazioni termiche», Tesi magistrale, Politecnico di Torino, 2022.
- [19] D. Ljubimova, «Biomechanics of the Human Eye and Intraocular Pressure Measurements», Tesi di dottorato, Universitetservice US–AB, Stockholm, 2009.
- [20] I. Blanco-Martínez, J. González-Méijome, e M. Faria-Ribeiro, «Linear fitting of biconic surfaces for corneal modeling», *J. Opt. Soc. Am. A*, vol. 41, gen. 2024, doi: 10.1364/JOSAA.505248.

- [21] A. Pandolfi, G. Fotia, e F. Manganiello, «Finite element simulations of laser refractive corneal surgery», *Eng. Comput.*, vol. 25, fasc. 1, pp. 15–24, gen. 2009, doi: 10.1007/s00366-008-0102-5.
- [22] G. Carichino, «Ellissoide», YouMath. [Online]. Disponibile su: <https://www.youmath.it/lezioni/algebra-lineare/geometria-dello-spazio/4098-ellissoide-in-forma-canonica.html>
- [23] «Corneal Abrasion – TeleHealth Pharmacy». Consultato: 11 marzo 2024. [Online]. Disponibile su: <https://telehealthpharmacy.com/corneal-abrasion/>
- [24] D. P. Piñero e N. Alcón, «In vivo characterization of corneal biomechanics», *J. Cataract Refract. Surg.*, vol. 40, fasc. 6, pp. 870–887, giu. 2014, doi: 10.1016/j.jcrs.2014.03.021.
- [25] J. F. V. Vincent, «Basic Theory of Elasticity and Viscoelasticity», in *Structural Biomaterials*, J. F. V. Vincent, A c. di, London: Macmillan Education UK, 1982, pp. 1–33. doi: 10.1007/978-1-349-16673-2\_1.
- [26] A. Kotecha, «What Biomechanical Properties of the Cornea Are Relevant for the Clinician?», *Surv. Ophthalmol.*, vol. 52, fasc. 6, pp. S109–S114, nov. 2007, doi: 10.1016/j.survophthal.2007.08.004.
- [27] C. J. Roberts, «Concepts and misconceptions in corneal biomechanics», *J. Cataract Refract. Surg.*, vol. 40, fasc. 6, pp. 862–869, giu. 2014, doi: 10.1016/j.jcrs.2014.04.019.
- [28] A. Kalmar e M. K, «Evaluation of arterial tonometry in a clinical setting», 2003.
- [29] D. P. Piñero e N. Alcón, «In vivo characterization of corneal biomechanics», *J. Cataract Refract. Surg.*, vol. 40, fasc. 6, pp. 870–887, giu. 2014, doi: 10.1016/j.jcrs.2014.03.021.
- [30] A. Elsheikh, M. J. Brown, M. Campanelli, D. Alhasso, P. Rama, e D. Garway-Heath, «Experimental Assessment of Corneal Anisotropy», *J. Refract. Surg.*, vol. 24, fasc. 2, pp. 178–187, gen. 2008, doi: 10.3928/1081597X-20080201-09.
- [31] G. Barbaro e P. Troiano, «Cross-linking corneale», *Soc. Oftamologica Ital.*, 2018.
- [32] A. Elsheikh, D. Wang, e D. Pye, «Determination of the Modulus of Elasticity of the Human Cornea», *J. Refract. Surg.*, vol. 23, fasc. 8, pp. 808–818, ott. 2007, doi: 10.3928/1081-597X-20071001-11.
- [33] D. M. Albert, J. W. Miller, D. T. Azar, e B. A. Blodi, «Principles and Practice of Ophthalmology E-Book», *Elsevier*, feb. 2008.
- [34] «Light - Reflection, Refraction, Physics | Britannica». [Online]. Disponibile su: <https://www.britannica.com/science/light/Reflection-and-refraction>
- [35] «Cos 'è la MIOPIA - Problemi Visivi», *Tecnologie Visione*. [Online]. Disponibile su: <https://tecnologievisione.it/miopia/>
- [36] «Astigmatismo: MedlinePlus enciclopedia médica ilustración». [Online]. Disponibile su: [https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp\\_imagepages/19952.htm](https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp_imagepages/19952.htm)
- [37] S. Basu e J. Vazirani, «Keratoconus: current perspectives», *Clin. Ophthalmol.*, p. 2019, ott. 2013, doi: 10.2147/OPHTH.S50119.
- [38] Y. S. Rabinowitz, «Keratoconus», *Surv. Ophthalmol.*, vol. 42, fasc. 4, pp. 297–319, gen. 1998, doi: 10.1016/S0039-6257(97)00119-7.
- [39] medicomaestro, «Kayser-Fleischer Ring», medicomaestro. Consultato: 10 marzo 2024. [Online]. Disponibile su: <https://medicomaestro.com/kayser-fleischer-ring/>
- [40] M. Romero-Jiménez, J. Santodomingo-Rubido, e J. S. Wolffsohn, «Keratoconus: A review», *Contact Lens Anterior Eye*, vol. 33, fasc. 4, pp. 157–166, ago. 2010, doi: 10.1016/j.clae.2010.04.006.
- [41] «Keratoconus 2 | Hereditary Ocular Diseases». [Online]. Disponibile su: <https://disorders.eyes.arizona.edu/disorders/keratoconus-2>

- [42] J. Santodomingo-Rubido, G. Carracedo, A. Suzaki, C. Villa-Collar, S. J. Vincent, e J. S. Wolffsohn, «Keratoconus: An updated review», *Contact Lens Anterior Eye*, vol. 45, fasc. 3, p. 101559, giu. 2022, doi: 10.1016/j.clae.2021.101559.
- [43] H. D. Perry, J. N. Buxton, e B. S. Fine, «Round and Oval Cones in Keratoconus», *Ophthalmology*, vol. 87, fasc. 9, pp. 905–909, set. 1980, doi: 10.1016/S0161-6420(80)35145-2.
- [44] A. Vega Estrada, P. Sanz Díez, e J. L. Alió, «Keratoconus Grading and Its Therapeutic Implications», in *Keratoconus*, J. L. Alió, A c. di, in *Essentials in Ophthalmology.*, Cham: Springer International Publishing, 2017, pp. 177–184. doi: 10.1007/978-3-319-43881-8\_15.
- [45] N. Terai, F. Raiskup, M. Haustein, L. E. Pillunat, e E. Spoerl, «Identification of Biomechanical Properties of the Cornea: The Ocular Response Analyzer», *Curr. Eye Res.*, vol. 37, fasc. 7, pp. 553–562, lug. 2012, doi: 10.3109/02713683.2012.669007.
- [46] «Keratoconus Treatment - C3R, CXL, Crosslinking, INTACS, ROSE-K, Scleral Contact lens, ICL, Phakic IOL, Lasik XTRA». [Online]. Disponibile su: <https://www.grover.net.in/keratoconus/>
- [47] C. de Stefano, «Adattamento di lenti a contatto su cornee irregolari», Tesi triennale, Università degli Studi di Napoli Federico II, 2021.
- [48] L. Boccardo, «Cheratocono: tutto quello che mi hanno insegnato a scuola è diventato obsoleto?», pp. 4–8, 2011.
- [49] «Inseri Intracorneali o Anelli Intrastromali per cheratocono a Roma e Milano - ICRS: INTACS o Ferrara Rings», Studio Oculistico Abbondanza - Roma e Milano. [Online]. Disponibile su: <http://www.abbondanza.org/anelli-intracorneali-i-c-r-s-cheratocono-inseri-intracorneali-cheratocono-anelli-intrastromali-cheratocono/>
- [50] «Atlas Entry - Penetrating keratoplasty (PK)». [Online]. Disponibile su: <https://webeye.ophth.uiowa.edu/eyeforum/atlas/pages/PK/index.htm>
- [51] D. P. Piñero, «Technologies for anatomical and geometric characterization of the corneal structure and anterior segment: a review», *Semin. Ophthalmol.*, vol. 30, fasc. 3, pp. 161–170, mag. 2015, doi: 10.3109/08820538.2013.835844.
- [52] «TOPOGRAFO CORNEAL SIRIUS – Oftomed». [Online]. Disponibile su: <https://www.oftomed.cl/productos/diagnostico/equipos/topografo/topografo-corneal/topografo-corneal-sirius/>
- [53] «Sirius», [https://www.optomedica.com/wp-content/uploads/Sirius\\_ITA.pdf](https://www.optomedica.com/wp-content/uploads/Sirius_ITA.pdf). [Online]. Disponibile su: [https://www.optomedica.com/wp-content/uploads/Sirius\\_ITA.pdf](https://www.optomedica.com/wp-content/uploads/Sirius_ITA.pdf)
- [54] L. Zoldan, «Confronto tra due strumenti combinati Scheimpflug/Placido nella misurazione corneale», Tesi triennale, Università degli Studi di Padova, 2018. [Online]. Disponibile su: [https://thesis.unipd.it/retrieve/da06b182-fa70-4316-bcf3-3f3208d4cee0/Zoldan\\_tesi.pdf](https://thesis.unipd.it/retrieve/da06b182-fa70-4316-bcf3-3f3208d4cee0/Zoldan_tesi.pdf)
- [55] R. Fan, T. C. Chan, G. Prakash, e V. Jhanji, «Applications of corneal topography and tomography: a review», *Clin. Experiment. Ophthalmol.*, vol. 46, fasc. 2, pp. 133–146, 2018, doi: 10.1111/ceo.13136.
- [56] A. Balestrazzi, «GuidaTopografiaCorneale.pdf». [Online]. Disponibile su: <https://www.assoheratocono.org/public2/documenti/GuidaTopografiaCorneale.pdf>
- [57] R. A. Jr, «Simplifying Ectasia Screening with Pentacam Corneal Tomography», *Highlights Ophthalmol.*, vol. 38, 2010.
- [58] S. Francia, «Cheratocono: problematiche cliniche, diagnostiche e terapeutiche in relazione alle proprietà fisiche della cornea», Tesi Magistrale, Politecnico di Torino, 2018.
- [59] «ELEVATION BASED CORNEAL TOPOGRAPHY.pptx», SlideShare. [Online]. Disponibile su: <https://www.slideshare.net/bipinkoirala3/elevation-based-bipinpptx>
- [60] S. Saad *et al.*, «Corneal crosslinking in keratoconus management», *J. Fr. Ophtalmol.*, vol. 43, fasc. 10, pp. 1078–1095, dic. 2020, doi: 10.1016/j.jfo.2020.07.002.

- [61] M. Lombardo, «Il cheratocono ed il trattamento di Cross-linking corneale», *Riv. Contattologia E Optom. Dell'Accademia Ital. Optom. Contattologi*, lug. 2009, [Online]. Disponibile su: [https://www.giulianobruni.com/pdf/AIOC-N2\\_09.pdf#page=32](https://www.giulianobruni.com/pdf/AIOC-N2_09.pdf#page=32)
- [62] P. Kamaev, M. D. Friedman, E. Sherr, e D. Muller, «Photochemical kinetics of corneal cross-linking with riboflavin», *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 53, fasc. 4, pp. 2360–2367, apr. 2012, doi: 10.1167/iovs.11-9385.
- [63] «Hornhautsprechstunde - Universitätsklinikum Giessen und Marburg», Universitätsklinikum Marburg. [Online]. Disponibile su: [https://www.ukgm.de/ugm\\_2/deu/umr\\_aug/17749.html](https://www.ukgm.de/ugm_2/deu/umr_aug/17749.html)
- [64] R. Lisario, «Studio clinico sul cross-linking transepiteliale con iontoforesi». [Online]. Disponibile su: <https://www.assocheratocono.org/articoli/25-comunicazioni/47-studio-clinico-sul-cross-linking-transepiteliale-con-iontoforesi.html>
- [65] «Hornhaut und Keratokonus Behandlung - Augenzentrum». Consultato: 7 maggio 2024. [Online]. Disponibile su: <https://www.augenzentrum.net/behandlung/keratokonus-cross-linking/>
- [66] «I-ON CXL Iontophorese Generator», bon Optic - Partner auf Augenhöhe. [Online]. Disponibile su: <https://bon.de/produkt/i-on-cxl-iontophorese-generator-fur-corneales-crosslinking/>
- [67] <http://fyr.io>, «CBM Vega Cross Linking System | Beye», Beye | The Eye Care Market Research Engine. [Online]. Disponibile su: <https://www.beye.com/r/p/458>
- [68] «CSO – VEGA CBM-X-Linker – Opto Medica». [Online]. Disponibile su: <https://www.optomedica.com/prodotti/chirurgia/apparecchiature/cso-vega-cbm-x-linker/>
- [69] CSO Srl, «Manuale d'uso e manutenzione, VEGA CBM X-LINKER». 2018.
- [70] OOFTA hi-tech, «materiale informativo ad esclusivo uso interno CFX LINKER». 2019.
- [71] D. Gatinel, Indices and screening tests for subclinical keratoconus. - Docteur Damien Gatinel.pdf. SpringerLink.
- [72] K. Doctor *et al.*, «Simplifying and understanding various topographic indices for keratoconus using Scheimpflug based topographers», *Indian J. Ophthalmol.*, vol. 68, fasc. 12, pp. 2732–2743, dic. 2020, doi: 10.4103/ijo.IJO\_2111\_20.
- [73] J. K. Duncan, M. W. Belin, e M. Borgstrom, «Assessing progression of keratoconus: novel tomographic determinants», *Eye Vis.*, vol. 3, fasc. 1, p. 6, mar. 2016, doi: 10.1186/s40662-016-0038-6.
- [74] D. Z. Reinstein, «Corneal Epithelial Thickness Profile in the Diagnosis of Keratoconus», *J. Refract. Surg.*, vol. 25, fasc. 7, pp. 604–610, giu. 2009.
- [75] «Test t a due campioni». [Online]. Disponibile su: [https://www.jmp.com/it\\_it/statistics-knowledge-portal/t-test/two-sample-t-test.html](https://www.jmp.com/it_it/statistics-knowledge-portal/t-test/two-sample-t-test.html)
- [76] N. Iantomasi, «Correlazione statistica: cos'è e quando si usa», Yimp. [Online]. Disponibile su: <https://www.yimp.it/correlazione-statistica/>