



***LA RIBOFLAVINA  
TRANSEPIITELIALE  
NEL CROSS-LINKING CORNEALE***

**XXXV Congresso SOSI 15-17 Aprile 2010, Terrasini**

**Edoardo Stagni, MD, PhD**

**Massimo Filippello, MD**

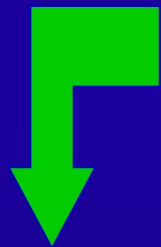
**Donato Buccoliero, MD**

**Catania**

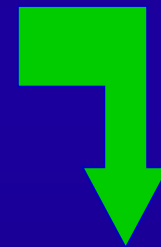
# Barriera epiteliale



**Effetto schermo**

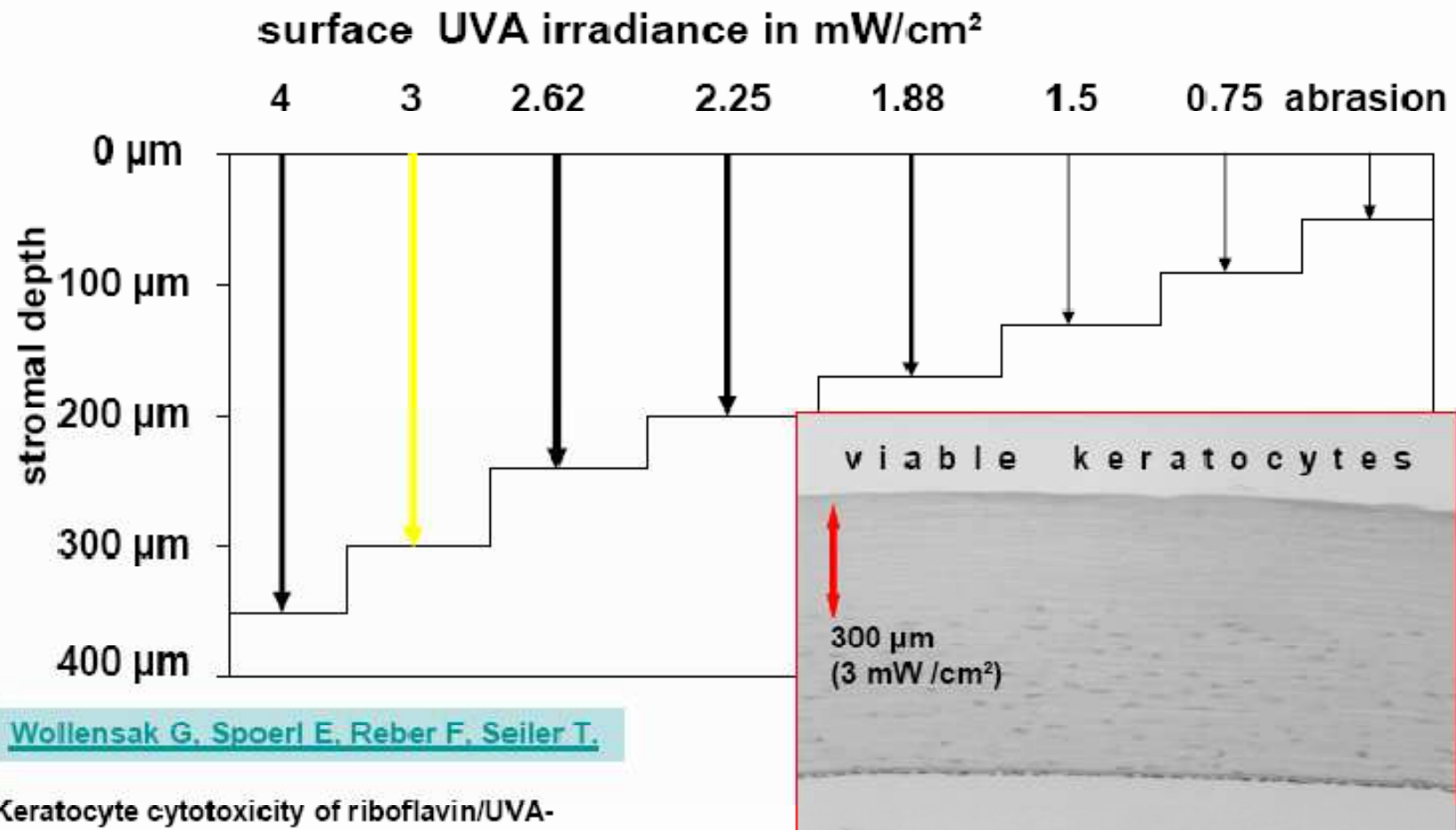


**Assorbimento  
riboflavina**



**Intensità laser**

## Stromale Keratocyten Apoptosis: 300 $\mu\text{m}$



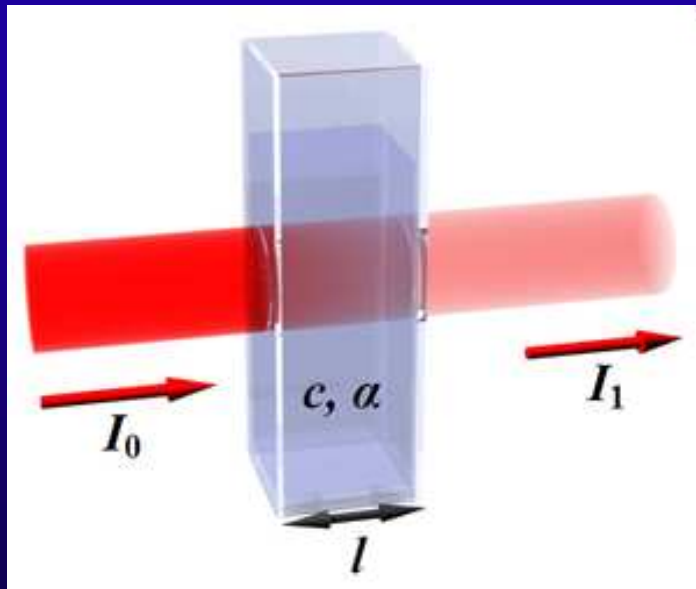
Wollensak G, Spoerl E, Reber F, Seiler T.

Keratocyte cytotoxicity of riboflavin/UVA-treatment in vitro. *Eye*. 2004 Jul;18(7):718-22.

Ciò è supportato dalle seguenti considerazioni:

- a l'intensità della radiazione diminuisce in maniera esponenziale seguendo la legge di Lambert Beer
- b il 65% dei raggi UVA è assorbito nei primi 250 micron dello stroma corneale , solo il 7% raggiunge l'endotelio

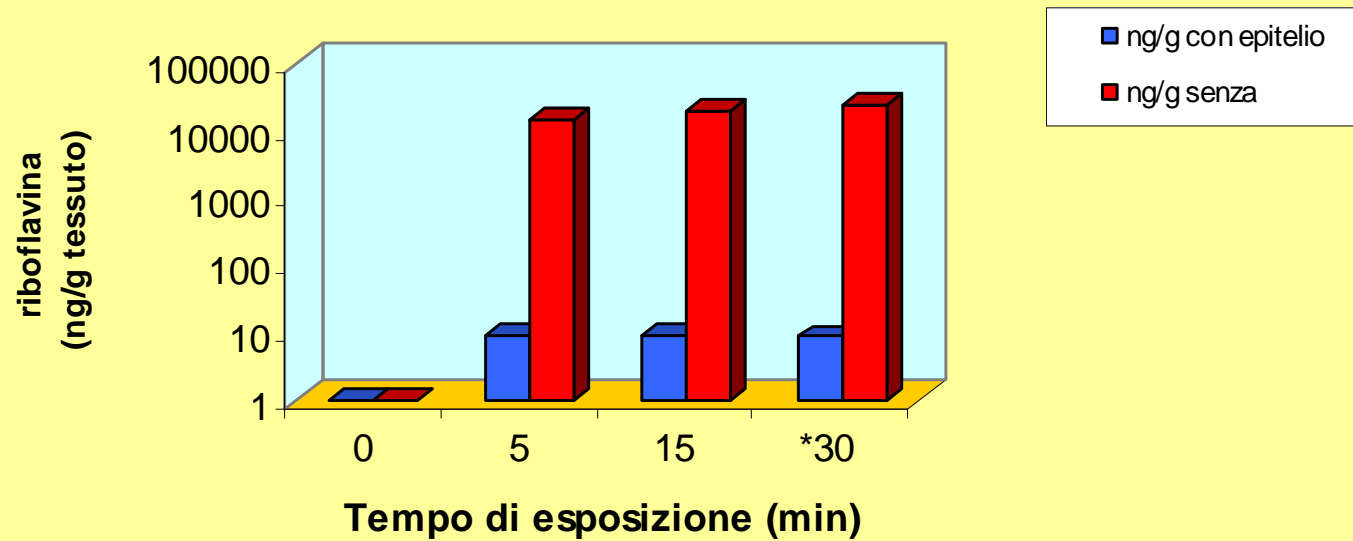
**La Legge di Lambert-Beer correla la quantità di luce assorbita da un mezzo alla natura chimica, alla concentrazione ed allo spessore del mezzo attraversato.**



**un fascio di luce di intensità  $I_0$  attraversa uno spessore  $l$  di una soluzione a concentrazione  $c$  e ne emerge con intensità  $I_1$ .**

# EPITELIO CORNEALE

Concentrazione di riboflavina nella cornea di pazienti trattati localmente con riboflavina 0.1%



Dott. Stefano Baiocchi

# Riboflavina e Destrano T500



✓ **Bio-enhancer**

✓ **Foto-enhancer**

Composizione qualitativa  
fornita dal Committente:

Riboflavina fosfato sodica  
EDTA 2Na

Tris

Destrano

Tampone fosfato

Acqua depurata

**BREVETTO RM2008A000472**

# Trometamolo

Il trometamolo (Tris -(idrossimetil)amminometano) è un aminoalcol biologicamente inerte di bassa tossicità, utilizzato per tamponare l'anidride carbonica e gli acidi *in vitro* ed *in vivo*. E' presente in un'ampia varietà di prodotti, tra cui i cosmetici, come soluzione tampone a livello industriale e come componente di farmaci per la sua azione alcalinizzante sia intracellulare che extracellulare. Sebbene ampiamente usato, gli effetti collaterali dovuti ad una sensibilizzazione al prodotto sono estremamente rari essendo riportato, in letteratura, un solo caso che riguardava una dermatite periorbitale indotta dall'utilizzo di un gel contenente trometamolo. Risulta pertanto estremamente ben tollerato.

Nahas G G, Sutin K M, Fermon C et al. Guidelines for the treatment of acidaemia with THAM. Drugs 1998; 55: 191-224.

# Trometamolo

- **Potenziamento dell'effetto**

(Abdelkader H et al., *AAPS PharmSciTech.*, 2007)

- **Diminuzione della tossicità**

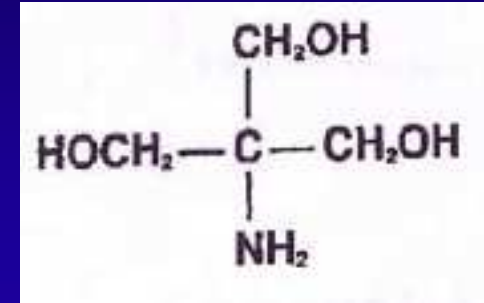
(*U.S. Pharmacopoeia*, Vol. XXII)

- **Miglioramento della farmacocinetica, farmacodinamica e biodisponibilità (liposolubilità)**

(Valles et al., *Methods Find Exp Clin Pharmacol.*, 2006)

- **Unito all'EDTA permette il passaggio attraverso le tight-junctions**

(Cover et al., *Microbios*, 68 1991)





Rapporto finale 2008/644-1 SAM

## **CITOTOSSICITA' PROVA PER CONTATTO DIRETTO**

### CONCLUSIONI

Sulla base dei risultati ottenuti, interpretati secondo quanto previsto dalla UNI EN ISO 10993-5:2000, il prodotto in esame "SOLUZIONE OFTALMICA IPOTONICA A" deve essere considerato **NON CITOTOSSICO.**

## **IRRITAZIONE OCULARE**

Nel corso dello studio si sono osservate le seguenti anomalie:

Cornea:	nulla di anormale
Iride:	nulla di anormale
Congiuntiva	
rossore:	Nulla di anormale
chemosi:	nulla di anormale
spurgo:	nulla di anormale

### CONCLUSIONI

Sulla base dei risultati ottenuti, interpretati secondo quanto previsto dalla UNI EN ISO 10993-10:2004, il prodotto in esame "SOLUZIONE OFTALMICA IPOTONICA A" deve essere considerato come **NON IRRITANTE**

Rapporto Finale 2008/644-3 SAM

## **SENSIBILIZZAZIONE ALLERGICA**

### CONCLUSIONI

Sulla base dei risultati ottenuti, interpretati secondo quanto previsto dalla norma UNI EN ISO 10993-10:2004, il prodotto in esame "SOLUZIONE OFTALMICA IPOTONICA A" deve essere definito **NON SENSIBILIZZANTE.**



## Istituto Superiore di Sanità

Organismo Notificato N° 0373 - Sezione Presso il Dipartimento AMPP  
Notified Body N° 0373 – Unit relating to the Department AMPP

**ATTESTATO DI CERTIFICAZIONE CE**  
secondo l'Allegato III della Direttiva Europea 93/42/CEE.  
(recepita con il Decreto Legislativo n. 46 del 24/2/1997)

**EC CERTIFICATION DOCUMENT**  
according to Annex III of EC Directive 93/42/EEC  
(enforced by the Decreto Legislativo n. 46 issued on 24/2/1997)

**L'Istituto Superiore di Sanità, Organismo Notificato n° 0373, attesta  
che il dispositivo medico**

*The Istituto Superiore di Sanità, Notified Body n° 0373, certifies that the medical device*

*Soluzione oftalmica per il cross-linking del collagene corneale  
(Riboflavina 0,1%), sterile*

**fabbricato da**  
*manufactured by*

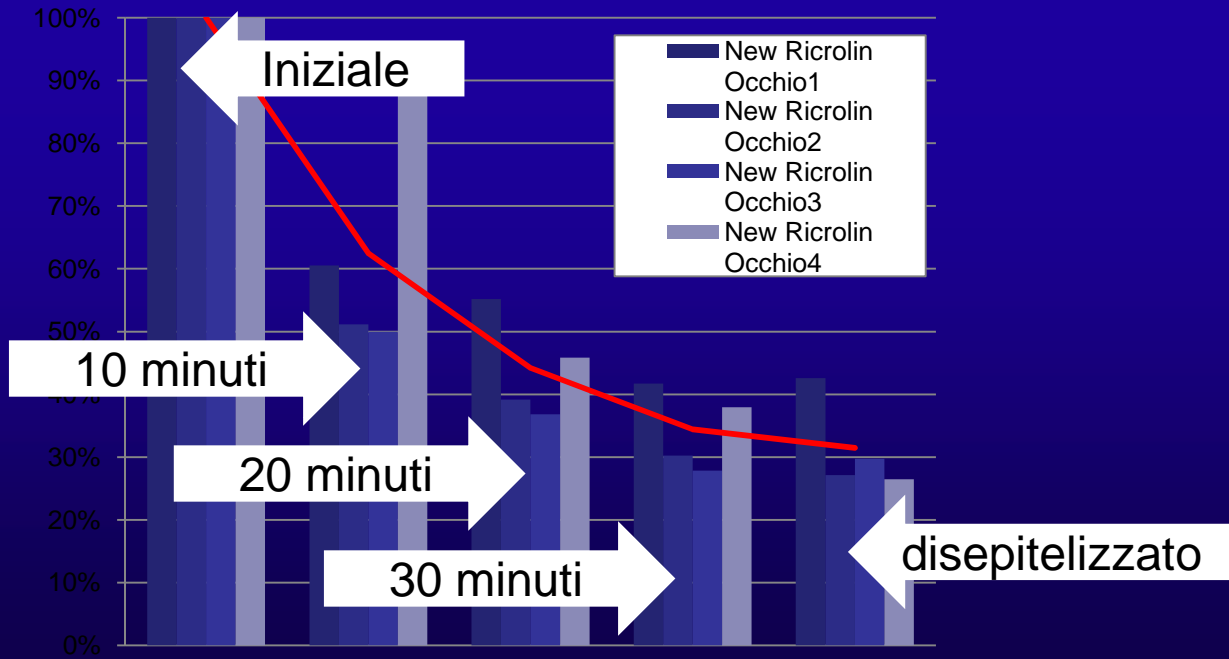
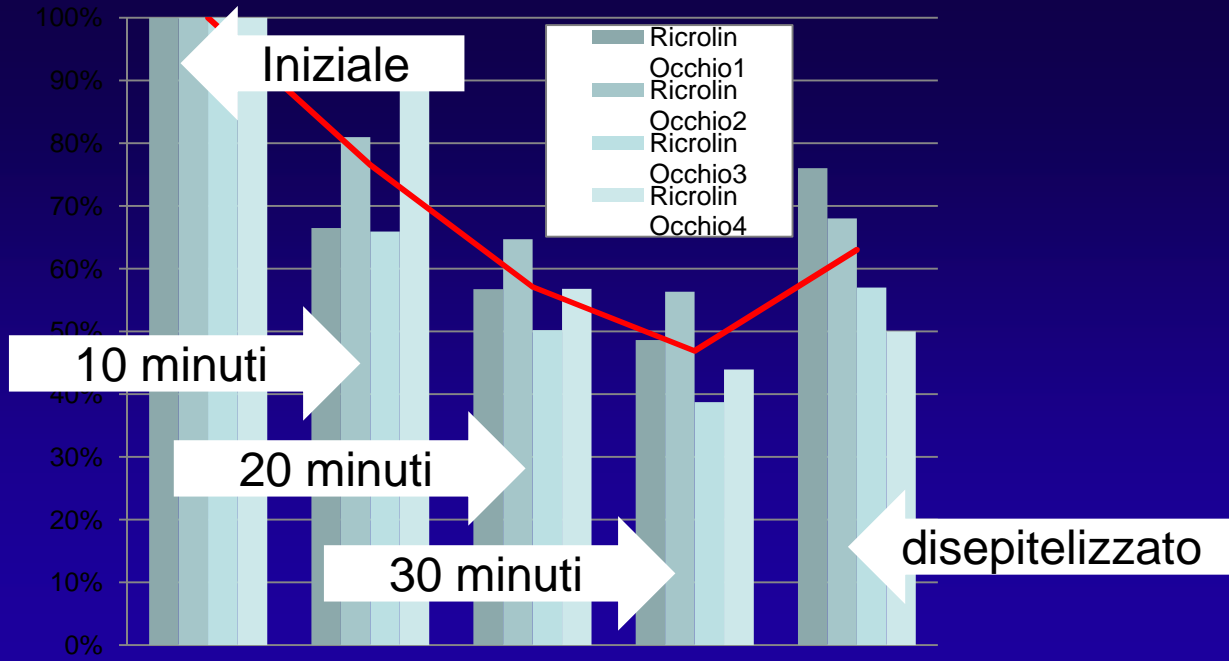
**SOFT Italia S.p.A.**

**soddisfa ai requisiti applicabili della Direttiva Europea 93/42/CEE.**  
*satisfies the requirements set out in EC Directive 93/42/EEC.*

**Il Responsabile Della Sezione**  
(Dott.ssa Yvanna Camiccioni)  
*The Director of the Unit*

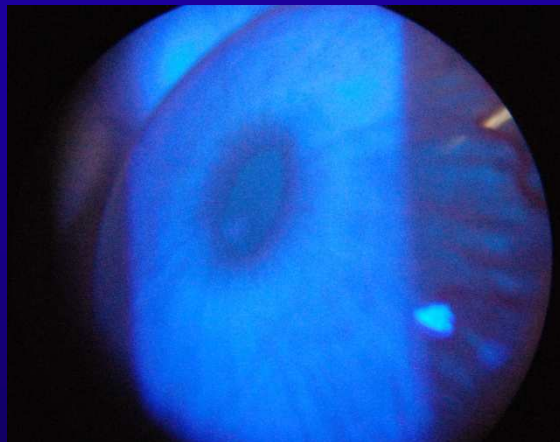
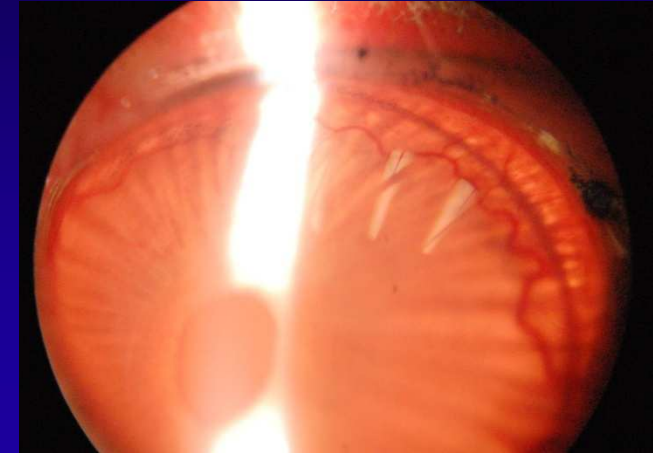


**Ricrolin vs Ricrolin TE: penetrazione stromale**

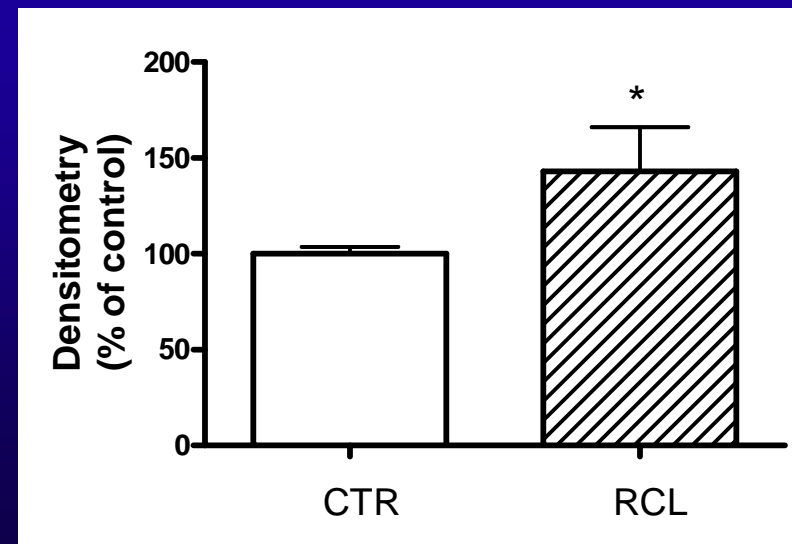


# Test in vivo

Group	Treatment	Observations Measurements	Assessment of corneal damage
I	Ricrolin	Slit-lamp evaluation and photographs before treatment, and immediately after the last eye drop instillation; then 12, 24 and 36 h.	Methylene blue will be used as dye to assess the corneal damage.
II	Ricrolin TE		



Quantification of corneal riboflavin TE uptake was assessed by densitometry analysis. \* $p < 0.05$  vs. CTR



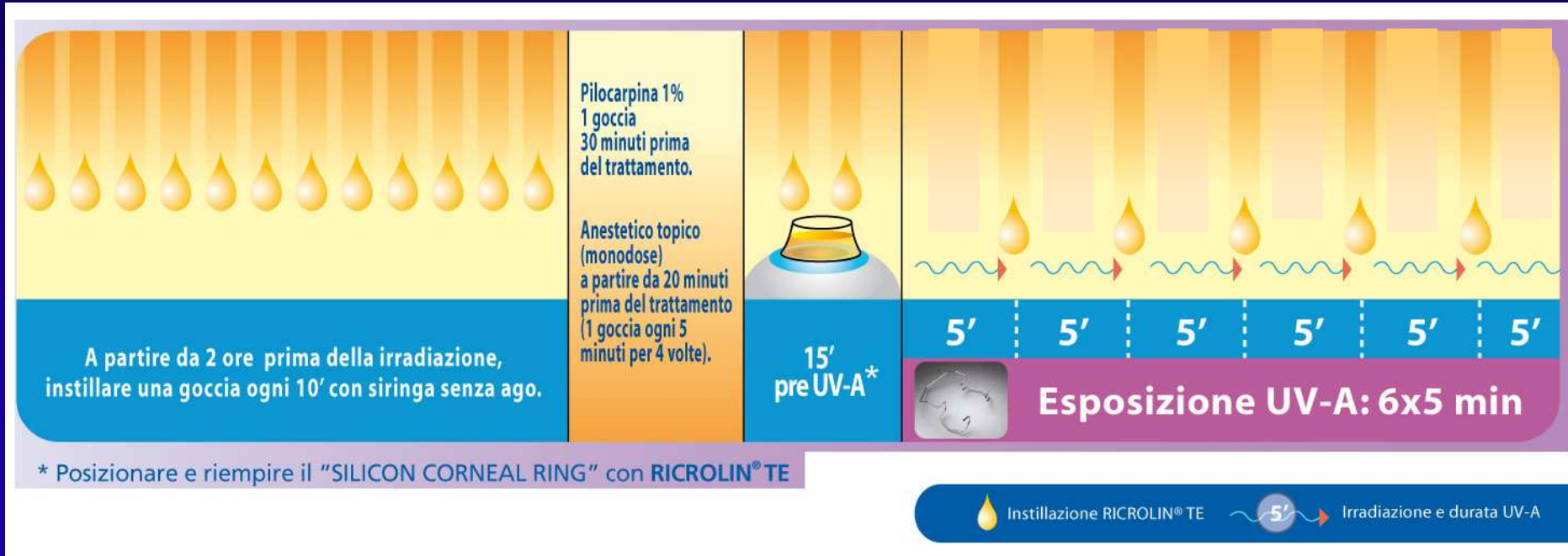
# Criteri di inclusione

- 48 pazienti
- Età compresa tra 12 e 42 anni (età media 27 anni)
- Cheratocono evolutivo II e III stadio (Amsler – Krumeich)
- Trattato occhio con maggiore curvatura e minore spessore corneale
- Occhio controlaterale utilizzato come controllo
- Spessore corneale medio di 412,9 micron

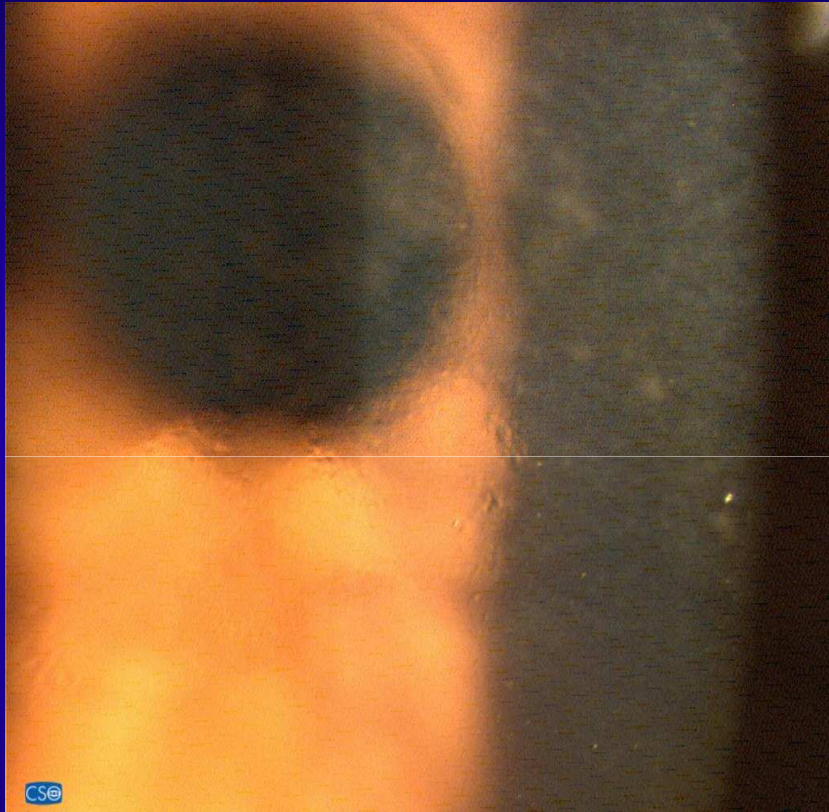
# Materiali e metodi

- **Controlli: T0, 7 giorni, 15 giorni, 1 mese, 3 mesi, 6 mesi, 9 mesi e 1 anno**
- **AV testata in condizioni di naturale miopia con tavole LogMar ETDRS**
- **Strumentazione:**
  - LAF
  - pachimetria ad ultrasuoni e ottica
  - topografia e aberrometria corneale
  - OCT corneale
  - conta endoteliale

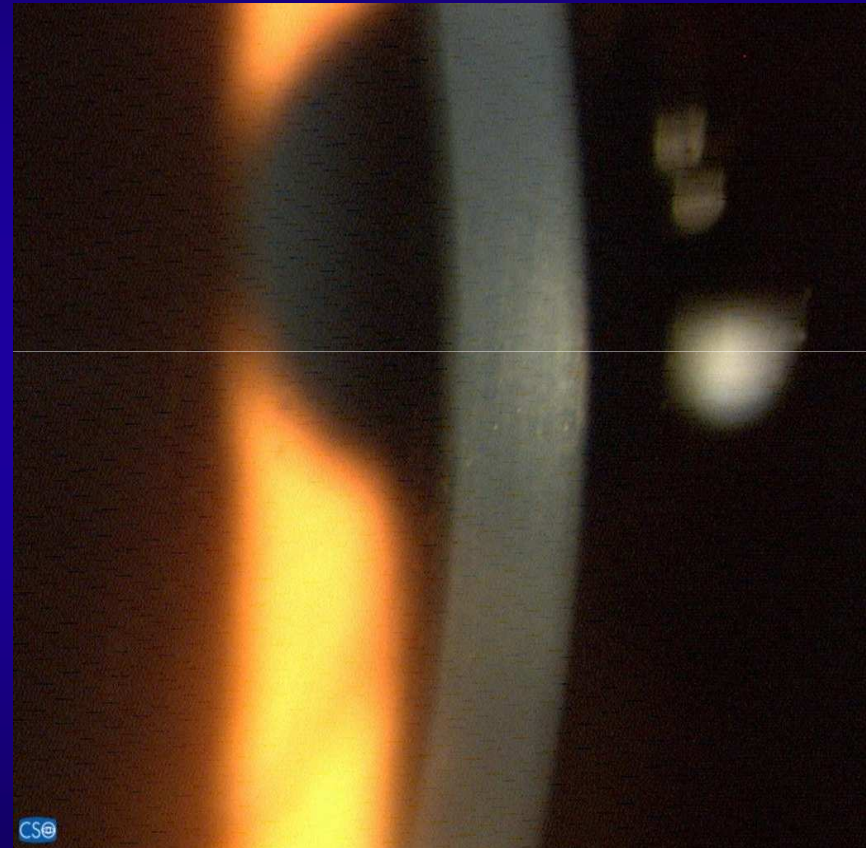
# Tecnica chirurgica



# Epitelio corneale



Al termine del trattamento



Dopo 24 ore



# Risultati

**Visus (log MAR)**

$p < 0.05$

	Pre CXL		14 months	
	CXL	Controls	CXL	Controls
UCVA	$0,71 \pm 0.12$	$0,82 \pm 0.23$	$0,36 \pm 0.23$	$0.95 \pm 0.28$
BCVA	$0,35 \pm 0.23$	$0,46 \pm 0.21$	$0,16 \pm 0.77$	$0,66 \pm 0.31$

**Pachimetria**

CXL	Controls
Pre: $412,9 \pm 21.5$	Pre: $423,3 \pm 12.2$
Post: $410,3 \pm 15.3$	Post: $409,0 \pm 16.5$

dati non significativi ( $p < 0.5$ )

# Risultati

## Conta endoteliale (cell/mm<sup>2</sup>)

CXL		Controls	
Pre:	2427 ± 236.4	Pre:	2523 ± 198.2
Post:	2387 ± 361.0	Post:	2474 ± 241.0

dati non significativi (p < 0.05)

## Cheratometria centrale (3 mm)

	Pre CXL		14 months	
	CXL	Controls	CXL	Controls
Sim kS	51,02 ± 1.10	51,12 ± 1.02	48,05 ± 0.21	51,56 ± 0.47
Sim kF	45,13 ± 0.97	46,12 ± 0.99	48,12 ± 0.35	46,21 ± 0.22
Sim Cyl	5,89	4,91	3,62 ± 0.40	5,41 ± 0.51

p < 0.05

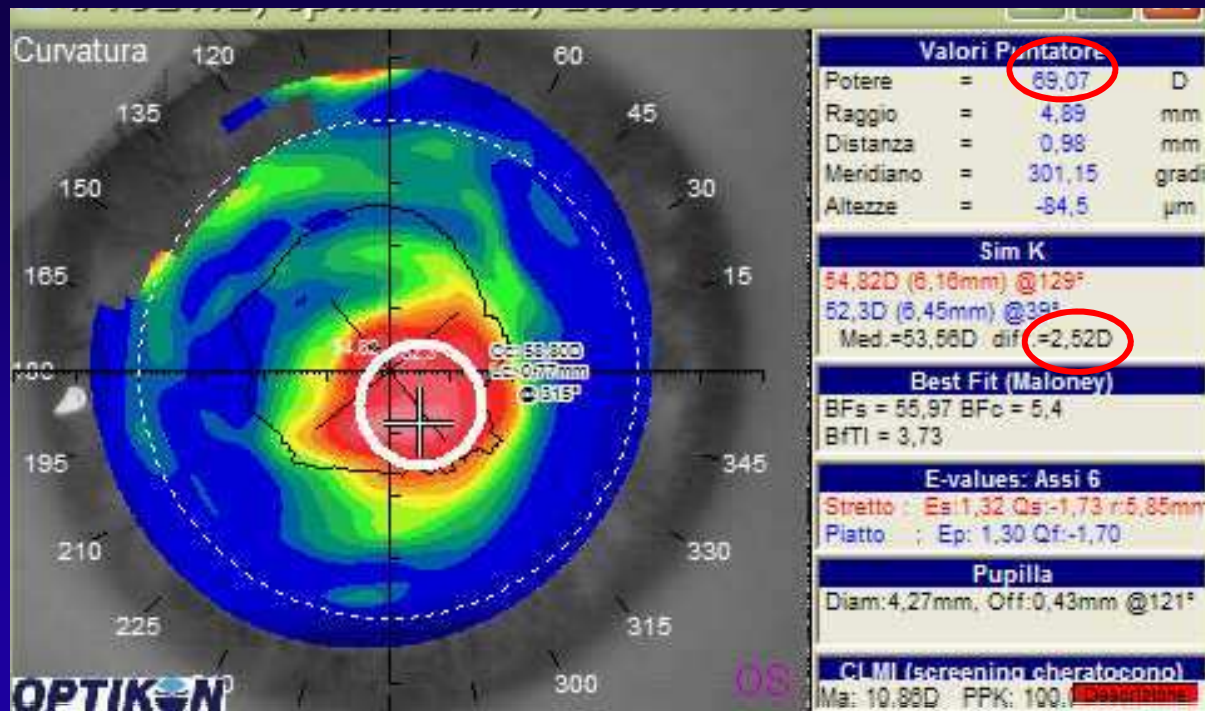
# Risultati

## Curvatura massima (KcAK) e indici CLMI (Ma, Mc)

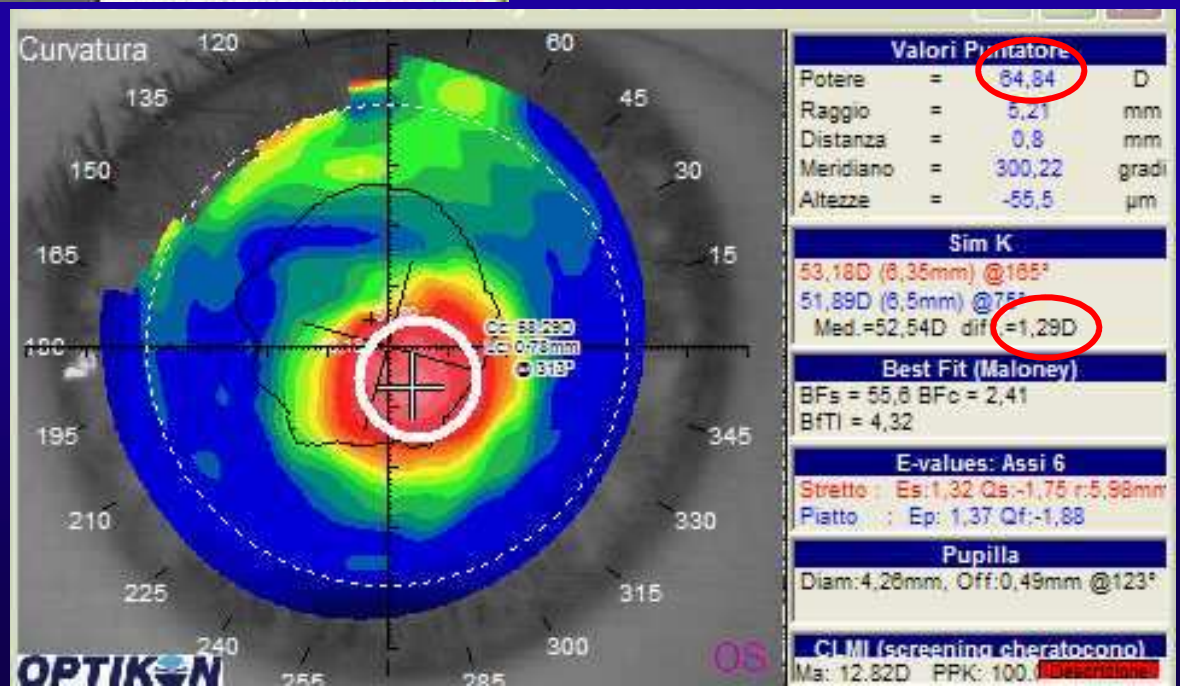
	Pre CXL		14 months	
	CXL	Controls	CXL	Controls
Kcak	<b>59,12 ± 1.10</b>	58,89 ± 2.02	<b>57,61 ± 1.02</b>	60,56 ± 0.91
Mc	<b>56,46 ± 0.97</b>	56,31 ± 1.93	<b>55,58 ± 0.89</b>	58,34 ± 0.86
Ma	<b>23,89 ± 0.75</b>	21,91 ± 2.05	<b>20,92 ± 1,21</b>	24,08 ± 0.57

p<0.05

# Risultati



6 mesi post CXL TE



# Risultati

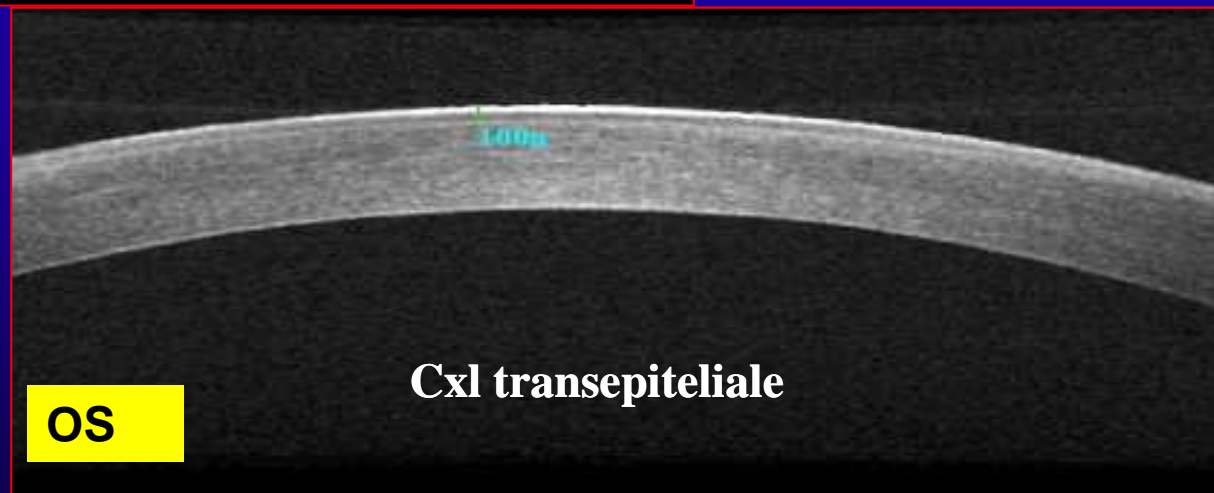
## Aberrazioni corneali

	Pre CXL		14 months	
	CXL	Controls	CXL	Controls
Rms	<b>4,68 ± 0.27</b>	4,43 ± 0.75	<b>3,26 ± 0.38</b>	4,89 ± 0.95
Coma	<b>2,21 ± 0.97</b>	2,28 ± 1.93	<b>1,50 ± 0.88</b>	2,40 ± 0.41
S.A.	<b>0,98 ± 0.15</b>	1,12 ± .052	<b>0,35 ± 0.41</b>	1,29 ± 0.37

**p<0.05**

# OCT corneale SLO/OTI

S.P. 35 aa, controllo a 3 aa (OD) e a 14 mesi (OS)



Linea grigia a circa 100 micron.

# CONFOCALE CXL TE

**E. A. 25 anni, controllo a 14 mesi**



**140  $\mu$**

# CONCLUSIONI

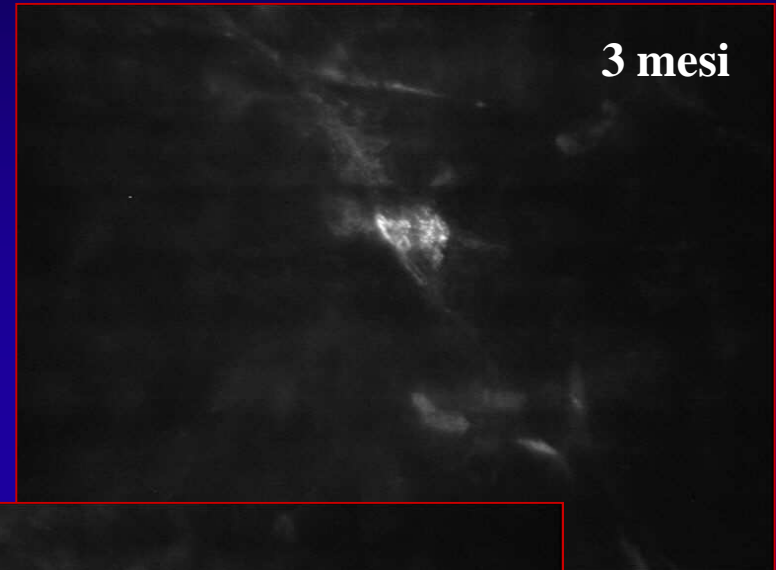
**Il CXL TE permette di trattare quei pazienti che non potrebbero usufruire del CXL, in quanto presenta:**

- **Miglior compliance del paziente** (possibilità di trattare pazienti sotto i 15 anni e "complicati")
- **Assenza di dolore post-trattamento**
- **Spessore corneale < 400 micron**
- **Mantenimento del visus pre-operatorio**
- **Coadiuvare CXL tradizionale** (possibilità di consolidare l'effetto di un CXL mediante l'altra tecnica)



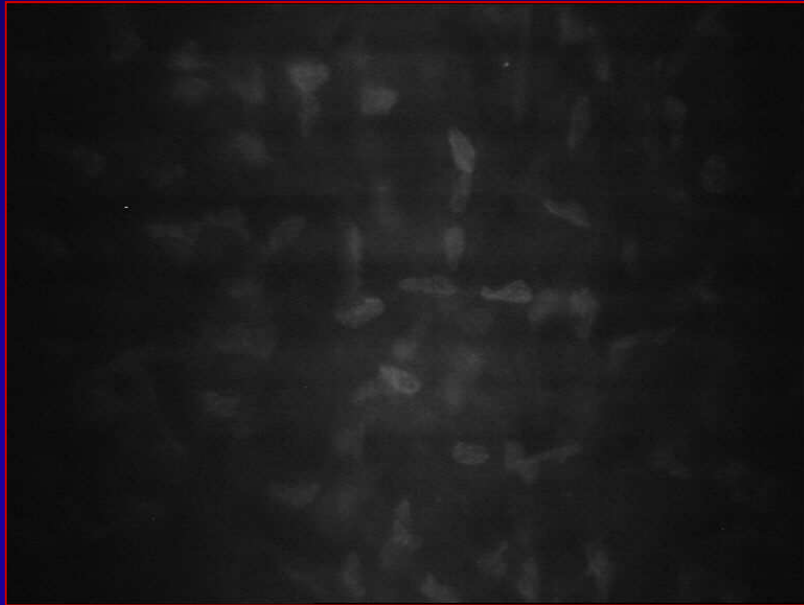


# CONFOCALE CXL



260-300  $\mu$

# MICROSCOPIA CONFOCALE



**Stroma 250  $\mu$   
trattato con CXL TE**

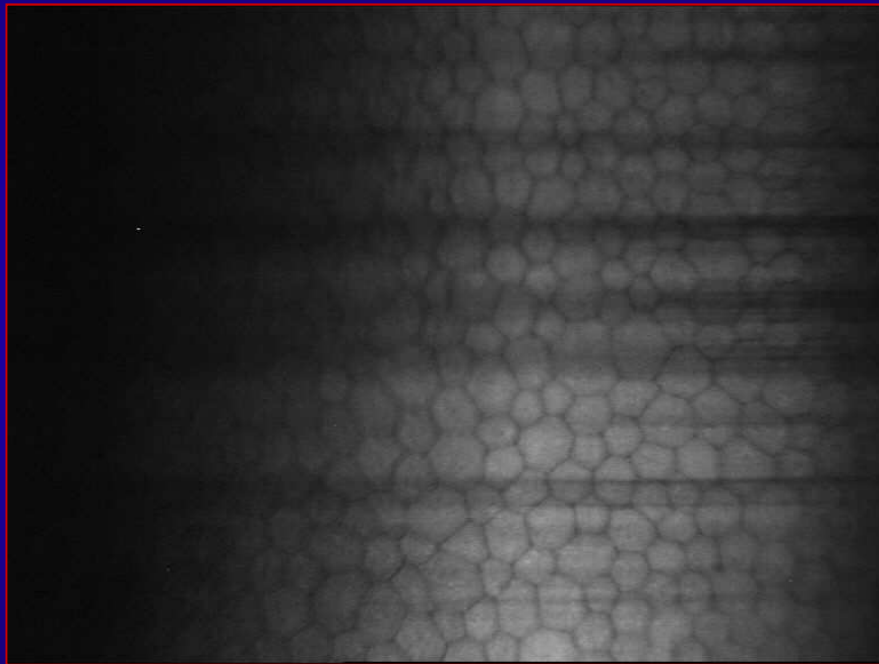


**Stroma 250  $\mu$   
non trattato**

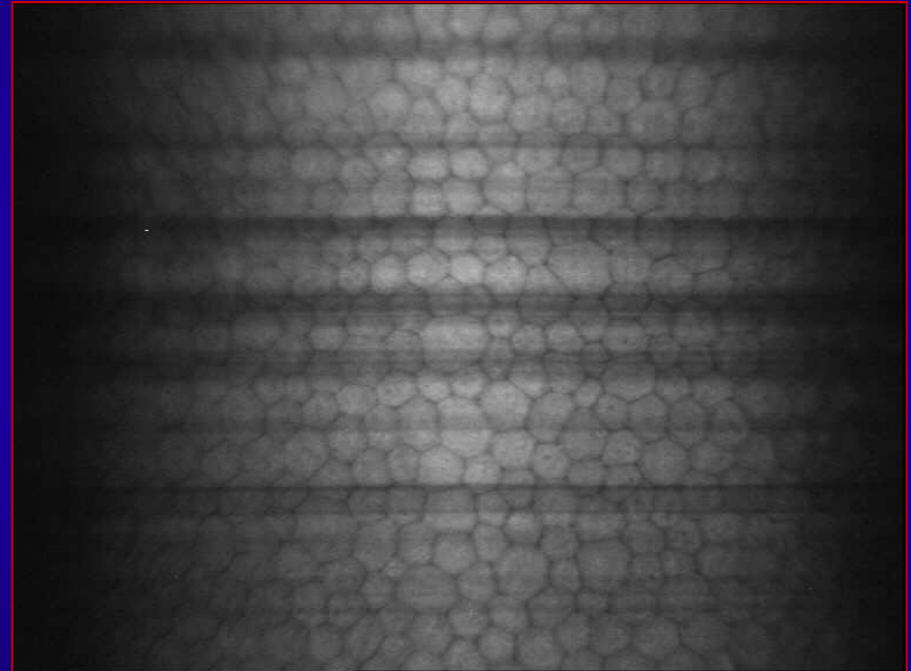


**Stroma 250  $\mu$   
trattato con CXL**

# MICROSCOPIA CONFOCALE

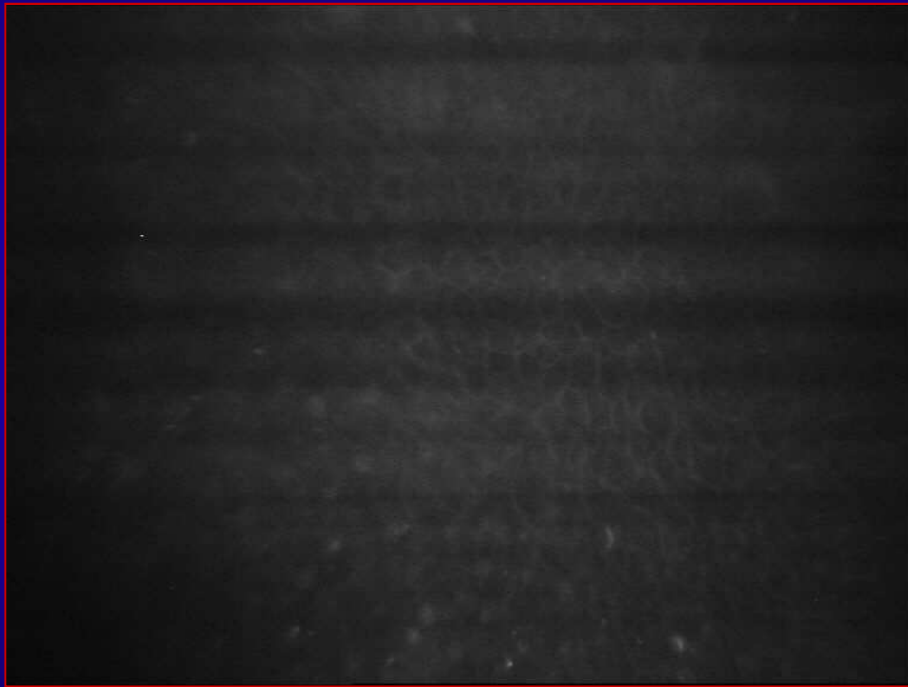


**Endotelio non trattato**



**Endotelio trattato  
con CXL TE**

# MICROSCOPIA CONFOCALE

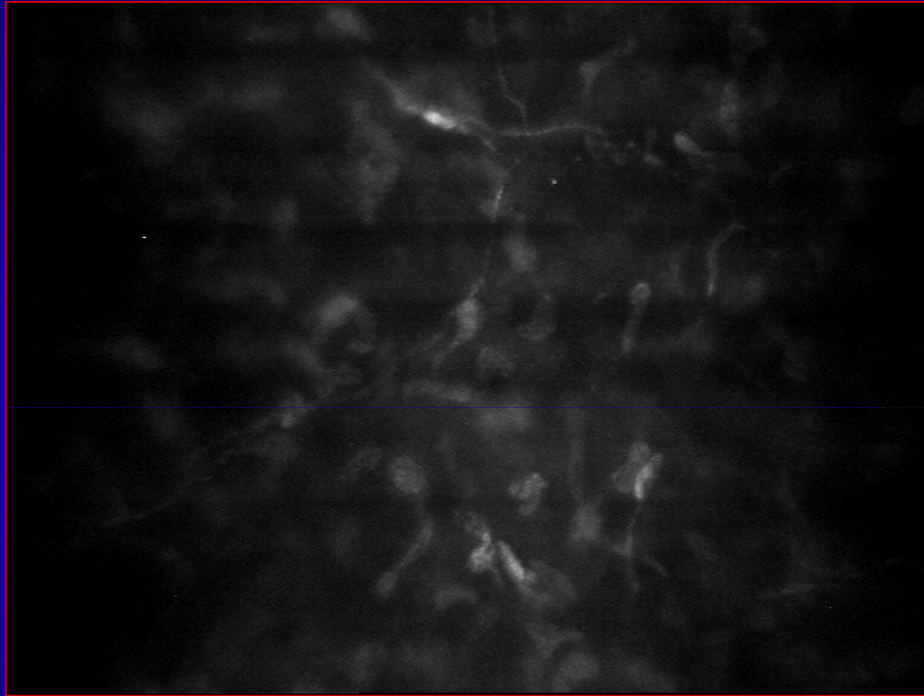


**Epitelio non trattato**

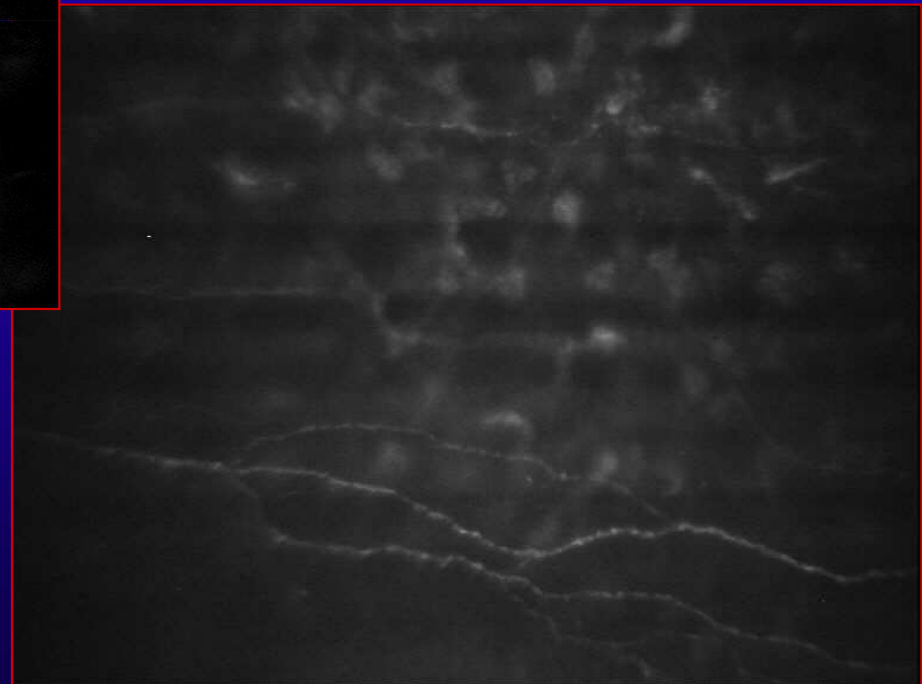


**Epitelio trattato  
con CXL TE**

# CONFOCALE CXL TE



Stroma anteriore  
trattato con CXL TE



Plesso nervoso  
sub epiteliale

**Grazie!**