



# *Università degli Studi di Firenze*

Dottorato di Ricerca  
La patologia vascolare nel distretto testa-collo  
XXI Ciclo  
Coordinatore: Prof. Lucio Rucci

## **CHERATOPLASTICA LAMELLARE ANTERIORE PROFONDA (DALK) E TERAPIA ANTIVIRALE NELLA GESTIONE DELLE ULCERE CORNEALI NEOVASCOLARI ERPETICHE.**

Relatore:  
Prof. Ugo Menchini

Dottorando:  
Dott. Nicola Santoro

Anno Accademico 2007-2008

**CHERATOPLASTICA LAMELLARE ANTERIORE PROFONDA (DALK) E  
TERAPIA ANTIVIRALE NELLA GESTIONE DELLE ULCERE CORNEALI  
NEOVASCOLARI ERPETICHE**

INDICE

Introduzione.....	pag. 3
Scopo del lavoro.....	pag. 13
Anatomia della superficie oculare.....	pag. 14
Superficie oculare e acuità visiva.....	pag. 19
Fisiopatologia della superficie oculare.....	pag. 20
La cheratite erpetica.....	pag. 24
Terapia medica.....	pag. 30
Aciclovir.....	pag. 30
Corticosteroidi.....	pag. 32
Terapia chirurgica.....	pag. 32
La cheratoplastica.....	pag. 33
Materiali e Metodi.....	pag. 35
Risultati.....	pag. 37
Discussione.....	pag. 38
Conclusioni.....	pag. 42
Bibliografia.....	pag. 44
Tabelle.....	pag. 49

## INTRODUZIONE

La cheratite erpetica rappresenta uno dei problemi clinici oftalmologici più gravi a causa della sua elevata potenzialità a determinare un'invalidità permanente del visus per la perdita della trasparenza corneale.<sup>1</sup>

Le manifestazioni cliniche oculari dell'infezione da Herpes Simplex Virus (HSV) possono interessare palpebre, congiuntiva, cornea, uvea e retina. La cheratite rappresenta comunque la manifestazione più comune dell'infezione erpetica e l'ulcera corneale, con la conseguente opacità, l'esito più infausto. La prognosi visiva nella maggior parte di casi è abbastanza buona tuttavia ulcere, cicatrici e opacità significative, spesso risultato di una malattia ricorrente, possono trovare nella cheratoplastica l'unica terapia possibile per restaurare una valida acuità visiva.

Le problematiche inerenti ad una cheratoplastica in un occhio affetto da ulcera corneale neovascolare erpetica ruotano fondamentalmente intorno a due aspetti:

1. L'alta percentuale di rigetti.
2. L'elevata frequenza di recidiva dell'infezione post cheratoplastica.

*Il rigetto* acquisisce un ruolo importante nella cheratite erpetica; il suo trattamento riduce le difese immunitarie facilitando la recidiva dell'infezione. E' necessario adottare in tempi rapidissimi le dovute precauzioni ed evitare che il rigetto immunologico si complichino con la recidiva dell'infezione e viceversa. Come riportato in letteratura, un grande passo avanti nel ridurre le percentuali di rigetto nella cheratite erpetica è stato l'introduzione della cheratoplastica lamellare anteriore profonda (DALK). La DALK è una tecnica chirurgica che prevede la rimozione degli strati più superficiali della cornea (epitelio, membrana di Bowman e stroma), lasciando in situ la membrana di Descemet e l'endotelio, e il successivo innesto di un lembo donatore. La possibilità di sostituire l'opacità corneale lasciando intatto l'endotelio, previene la componente endoteliale del

rigetto, che è la più rischiosa per la sopravvivenza del lembo trapiantato.<sup>2</sup> Negli anni 60-70 l'affermazione generalizzata degli antibiotici, del cortisone, la migliore conoscenza e comprensione della fisiologia corneale, l'avvento del microscopio operatorio e delle suture in nylon, il miglioramento degli strumenti chirurgici, il perfezionamento della tecnica, la conservazione tessutale, hanno dato alla cheratoplastica perforante il ruolo di tecnica elettiva nel trapianto di cornea. La cheratoplastica lamellare a scopo ottico rimaneva ancora una tecnica chirurgica difficile, con scarsi risultati visivi. Fino al 1970 la cheratoplastica lamellare era poco utilizzata solamente rappresentando solo il 3-4% di tutti i trapianti corneali.

Nel 1974 Anwar descrisse una nuova tecnica di cheratoplastica lamellare effettuata mediante dissezione profonda corneale sfruttando il clivaggio naturale tra lo stroma e la membrana di Descemet, ottenendo un letto ricevente liscio e trasparente.

A partire dagli anni 80 la cheratoplastica lamellare venne completamente rivalutata alla luce delle nuove acquisizioni fisiopatologiche dell'endotelio corneale, al perfezionamento delle tecniche di chirurgia refrattiva e per il fatto che gli studi scientifici sulla cheratoplastica perforante evidenziavano da un lato buoni risultati refrattivi, dall'altro alte percentuali di rigetto (circa il 20% di episodi di rigetto) e una drastica riduzione del numero di cellule endoteliali trapiantate nel corso degli anni. La cheratoplastica lamellare suscitò così un nuovo interesse, proponendosi come valida alternativa alla perforante per forme particolari di cheratopatia con integrità dell'endotelio, con il vantaggio teorico di ridurre il numero dei rigetti e di limitare la perdita di cellule endoteliali al solo tempo chirurgico.

Negli anni si sono sviluppate molte tecniche chirurgiche tutte volte a trovare il metodo più sicuro e più efficace per l'esposizione della membrana di Descemet al fine di poter ottenere risultati visivi migliori per lo scopo ottico. Negli anni '90 da ricerche

anatomiche risultò che tra lo stroma e la membrana di Descemet esisteva un'aderenza molto lassa e che sarebbe stato possibile a questo livello trovare un ottimo piano di clivaggio. Nel 1995 Sun effettuò la cheratoplastica lamellare con viscodissezione in 21 occhi che presentavano cheratopatia bollosa dolente. Sun dissecò con successo il tessuto corneale edematoso patologico in tutti gli occhi senza nessuna perforazione della membrana di Descemet. Sei mesi dopo l'intervento la sintomatologia dolorosa si risolse in tutti i casi tuttavia il risultato visivo fu molto modesto.<sup>3</sup>

Nel 1997 Sugita propose la tecnica di cheratoplastica lamellare profonda con idrodelaminazione. La sua tecnica chirurgica consisteva nella trapanazione della cornea per  $\frac{3}{4}$  della sua profondità con il trapano a suzione di Hessburg-Barron ed in una cheratectomia superficiale. In seguito nello stroma corneale veniva iniettata soluzione salina con un ago da 27 gauge. La soluzione penetrava tra le fibre collagene determinando uno sbiancamento e un rigonfiamento delle stesse. (*Figura 1*)



Fig1: DALK con idrodelaminazione secondo Sugita

Tale manovra permetteva la rimozione dello stroma riducendo il rischio di perforazione della Descemet. Lo slammellamento del tessuto stromale veniva effettuato con una spatola di 0.25 mm. di diametro. Lo stroma rimanente veniva rimosso con forbici corneale. Sugita pubblicò uno studio effettuato su 120 occhi con opacità stromale (leucoma corneale, distrofia a lattice, distrofia gelatinosa, distrofia granulare, cicatrice corneale posterpetica, opacità con eziologia sconosciuta) sottoposti a DALK con

idrodelaaminazione. Il follow up medio era di 6 mesi. Nel 62,8% la miglior acuità visiva corretta fu di 0,5, solamente il 10,6% ebbe un'acuità visiva di 0,1 (il 7,9% presentava un'alterazione maculare). La perforazione della membrana di Descemet durante l'operazione avvenne nel 39,2% dei casi (in 47 occhi), ma dopo 12 mesi non vi furono differenze nell'acuità visiva o nel numero di cellule endoteliali tra questi occhi e quelli nei quali non vi era stata perforazione. Nel 30% degli occhi con microperforazione vi fu la formazione di una doppia camera anteriore che fu eliminata con iniezione di aria. Non vi furono differenze statisticamente significative fra gli occhi con formazione della doppia camera e gli altri perforati, nel decorso postoperatorio. In questo studio non sono stati osservati casi di rigetto endoteliale. La microscopia endoteliale rivelò che la media della conta endoteliale era di 2225 cellule/mm<sup>2</sup>, mentre 24 mesi dopo l'intervento questo valore era di 1937 cellule/mm<sup>2</sup>. Sugita ha osservato che la conta di cellule endoteliale dopo cheratoplastica lamellare subiva una diminuzione nei primi 6 mesi del postoperatorio poi la perdita si stabilizzava, contrariamente a quanto avveniva dopo la cheratoplastica perforante dove il numero delle cellule endoteliali continuava a ridursi con una considerevole velocità anche 5 anni dopo l'intervento. Secondo Sugita, la sua tecnica con idrodelaaminazione tramite iniezione di soluzione salina minimizzava il rischio di perforazione della membrana di Descemet ed era indicata negli occhi con opacizzazione stromale con un'integra funzionalità delle cellule endoteliali. La causa dell'acuità visiva postoperatoria bassa era probabilmente giustificata dalla cicatrizzazione che avveniva nell'interfaccia tra la cornea del donatore e lo stroma del ricevente. Sugita concludeva il suo studio affermando che la cheratoplastica lamellare dovrebbe essere utilizzata più frequentemente poiché offriva risultati visivi soddisfacenti e stabili per un lungo periodo, una minor perdita di cellule endoteliali nel decorso postoperatorio ed un bassissimo rischio di rigetto.<sup>4</sup>

Nel 1998 Tsubota ed altri applicarono il principio del “dividi e conquista” della chirurgia della cataratta e la tecnica della sutura singola continua regolabile alla metodica della cheratoplastica lamellare.<sup>5</sup>

Nel 1999 Melles descrisse una nuova tecnica chirurgica per la cheratoplastica lamellare profonda con immissione di aria in camera anteriore e viscodissezione. Il proposito di questa procedura chirurgica consisteva nell’effettuare una dissezione stromale profonda sotto controllo visivo, permettendo, in caso di una perforazione, il completamento della dissezione o l’arresto dell’intera procedura nella attesa di effettuare una cheratoplastica perforante. La tecnica chirurgica di Melles consisteva in un primo scambio, attraverso un’incisione limbare autochiudente, dell’acqueo con aria per visualizzare la superficie corneale posteriore, interfaccia “aria endotelio”. Attraverso un’incisione sclerale di 5mm veniva creata una tasca stromale profonda usando l’interfaccia “aria endotelio” come piano di riferimento per la dissezione profonda. (Figura 2)

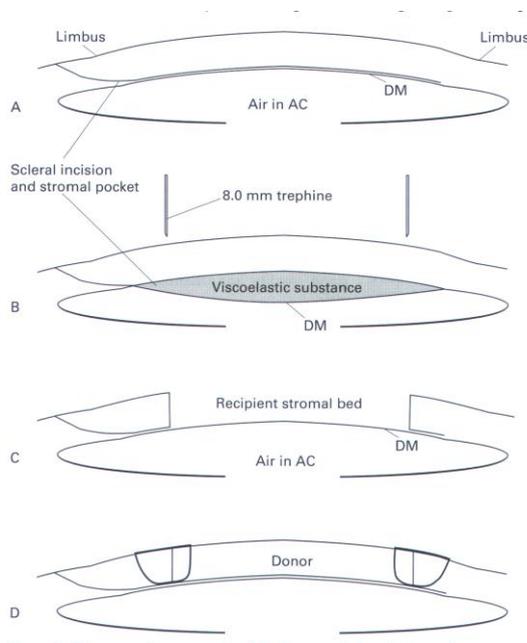


Fig 2: Rappresentazione schematica di DALK secondo Melles

La dissezione stromale profonda poteva essere monitorata dall'ampiezza della banda scura che si formava tra la punta della spatola e la luce riflessa dall'interfaccia aria endotelio. La spatola si approfondiva fino a quando la banda scura scompariva, individuando virtualmente il piano appena al di sopra della membrana di Descemet. In seguito l'aria veniva rimossa dalla camera anteriore e una sostanza viscoelastica (idrossipropilmetilcellulosa) veniva iniettata nella tasca precostituita. Si effettuava, poi, la trapanazione con il trapano a suzione di Hessburg-Barron fin quando si notava la fuoriuscita di viscoelastica dall'incisione. La lamella corneale veniva poi rimossa con un microscissore curvo ed il letto ricevente era ben irrigato per togliere tutta la sostanza viscoelastica.

Era quindi innestato il bottone corneale del donatore con un diametro di 0,25-0,50mm in più rispetto al letto ricevente, previa rimozione della membrana di Descemet e dell'endotelio. Il lembo veniva suturato con due giri continui con una sutura in nylon 10.0. aggiustabile.

Tale procedura chirurgica venne effettuata in vitro su 30 occhi della banca degli occhi e su 7 occhi di pazienti viventi. Dei 7 occhi 1 presentava una distrofia granulare ricorrente, 3 cheratocono, 3 opacità corneale. La tecnica chirurgica fu completata su 25 occhi dei 30 della banca degli occhi. In tre occhi (12%) avvenne una perforazione contenuta con iniezione di aria in camera anteriore. La media della profondità di dissezione corneale fu del 95,4%. In un solo occhio vi fu la conversione in cheratoplastica perforante a causa di una perforazione intraoperatoria. Un trapianto ad un mese dall'intervento presentava un residuo di viscoelastica la quale fu rimossa mediante irrigazione dopo una parziale rimozione del lembo donatore che in seguito fu nuovamente suturato. Tutti i lembi trapiantati erano trasparenti. La migliore acuità

visiva corretta variava da 0,25 a 0,1 e l'astigmatismo tra 1 e 3,5 diottrie. La pachimetria centrale variava tra 0,62 e 0,73mm.

Secondo Melles i difetti della cheratoplastica lamellare erano dati dall'impossibilità di conoscere, durante l'intervento, la profondità della dissezione stromale e dalla possibilità di perforazione corneale. Affermò inoltre che quando veniva iniziato un trapianto corneale la procedura chirurgica doveva essere completata come cheratoplastica lamellare o perforante, sebbene i requisiti del tessuto donatore fossero differenti per l'una o l'altra procedura. Questo poteva essere considerato un problema quando fosse necessario convertire una cheratoplastica lamellare in perforante, poiché nella prima la lamella corneale donatrice era generalmente ottenuta da un occhio fresco con la qualità dell'endotelio sconosciuta, mentre per la perforante l'endotelio del donatore doveva essere di ottima qualità.

Melles, comparando la sua tecnica chirurgica con le tecniche di cheratoplastica lamellare esistenti, affermò che la sua procedura offriva il vantaggio di poter ottenere una superficie stromale ricevente più liscia che potesse ridurre i rischi di cicatrizzazioni dell'interfaccia. Lo svantaggio era dato dal fatto che veniva aperta la camera anteriore per lo scambio acqueo/aria prima della dissezione corneale. Questo poteva portare ad un rischio di infezioni intraoculari ed a un danno alle strutture della camera anteriore. L'endotelio ricevente poteva essere danneggiato dal rigonfiamento della camera anteriore con l'aria. Con tale tecnica si ebbe il 13% di perdita in meno di cellule endoteliali rispetto alla cheratoplastica perforante.<sup>6-8</sup>

Nel 2002, Anwar ha riproposto, sulla scia di Archila e Rostron, la tecnica chirurgica con iniezione di aria che va a formare una grande bolla tra lo stroma e la membrana di Descemet. (*Figura 3*)

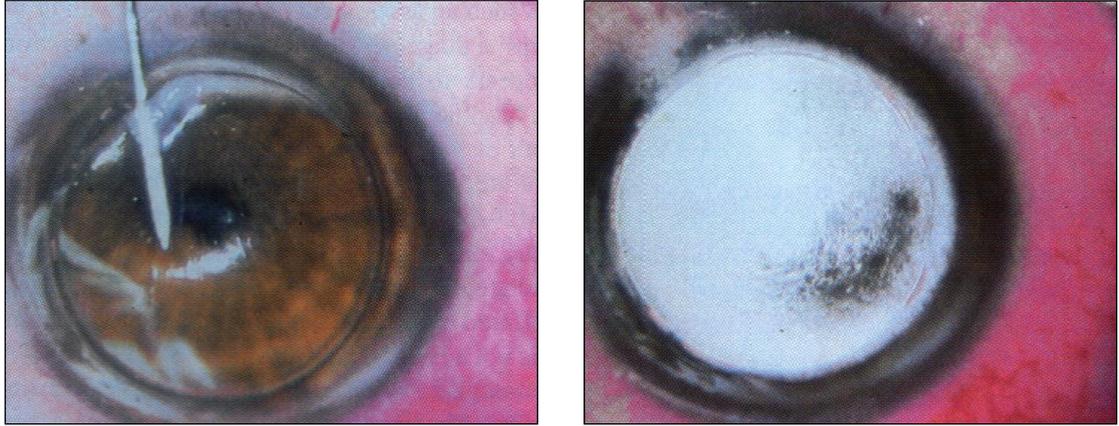


Fig 3: DALK con tecnica Big Bubbles secondo Anwar

In contrasto con i suoi predecessori, egli fece una trapanazione a suzione di circa 60-80% dello spessore corneale prima di iniettare aria. Inserì l'ago da 27-30 gauge nello stroma, attraverso l'ingresso principale avanzando nel centro del lembo fino a che la punta dell'ago arrivava in posizione paracentrale. La parte smussa dell'ago, rivolta in basso, dovrebbe diminuire il rischio di perforare la membrana di Descemet e facilitare l'ingresso posteriore di aria.

Quando la punta dell'ago si trovava nel posto desiderato, si iniettava aria fino a formare una grande bolla con un contorno circolare tra la membrana di Descemet e lo stroma più profondo (nel piano pre-descemetico). Il risultato era la comparsa di uno sbiancamento, di un disco semiopaco, il cui margine, coincideva con il solco della trapanazione.

La misura della bolla dipende dalla quantità di aria iniettata.

Anwar ha eseguito la cheratoplastica lamellare anteriore profonda con la tecnica della grande bolla d'aria su 181 pazienti con cheratocono. L'89% dei pazienti a 6 mesi presentava un'acuità visiva di 20/40 ed il 10% aveva un visus di 20/20. Le perforazioni intraoperatorie si verificarono nel 9% dei casi.<sup>2,9</sup>

Attualmente, gli sforzi scientifici sono concentrati sulla possibilità futura di ottenere un sistema automatizzato per la chirurgia lamellare.<sup>10</sup>

La chiave del successo chirurgico potrebbe essere rappresentata dall'utilizzo ottimale del laser ad eccimeri. Il problema più importante da risolvere è trovare la giusta profondità di ablazione che eviti danni alla Descemet ed all'endotelio (perforazioni) e riuscire a creare un letto uniforme, soprattutto nel cheratocono

La recidiva del processo infettivo può essere la causa del fallimento e del conseguente rigetto in soggetti operati per cheratite erpetica. I dati riportati in letteratura riguardanti la sopravvivenza del lembo donatore variano in base alla durata del follow-up e alla concomitante terapia con antivirali e corticosteroidi topici. In pazienti trattati con terapia antivirale e terapia steroidea topica dopo cheratoplastica perforante, le recidive si verificano nel 10-25% dei casi durante il primo anno e nel 9-22% durante i successivi 2-5 anni. Tali percentuali sono assai più alte in pazienti non sottoposti a terapia antivirale (20-45% durante i 2-5 anni di follow-up).<sup>1</sup> Le recidive nel primo anno sono più frequenti rispetto ai successivi anni di follow-up; questo è probabilmente dovuto al frequente uso di corticosteroidi topici nel primo anno post intervento, e quindi alla immunosoppressione iatrogena che facilita la recidiva di malattia. I pazienti sottoposti a cheratoplastica lamellare o perforante per cheratite erpetica sono sempre a rischio di recidiva. Raramente, la cheratite erpetica può verificarsi in pazienti sottoposti a cheratoplastica perforante senza un'apparente storia di pregresse cheratiti erpetiche. Uno studio retrospettivo su 2398 cheratoplastiche perforanti, ha rilevato che nei 2112 pazienti sottoposti a cheratoplastica perforante per ragioni diverse dalla cheratite erpetica, 18 pazienti (0,85%) presentavano una cheratite epiteliale da HSV nel lembo trapiantato. Nella maggior parte dei casi ciò si è verificato almeno due anni dopo l'intervento chirurgico.<sup>11</sup>

La terapia di profilassi antivirale post cheratoplastica eseguita per cheratite erpetica allo scopo di minimizzare la percentuale di recidiva e di fallimento del trapianto corneale

deve essere sempre presa in considerazione per tutti i pazienti. In uno studio condotto su due gruppi di pazienti sottoposti a cheratoplastica di cui uno trattato con profilassi antivirale topica, la sopravvivenza del lembo corneale a 5 anni è migliorata dal 58 al 71% e l'incidenza delle cheratiti erpetiche recidivanti si è ridotta dal 34 all'1%. Numerosi studi hanno inoltre dimostrato l'efficacia dell'uso dell'aciclovir orale nel ridurre le recidive di cheratite erpetica rispetto a gruppi di pazienti sottoposti a cheratoplastica senza profilassi antivirale.<sup>1</sup>

La riduzione delle recidive si traduce in una riduzione delle percentuali di rigetto, a conferma che l'infezione erpetica può scatenare il rigetto del lembo. La durata e la dose ottimale della terapia di profilassi antivirale in pazienti sottoposti a cheratoplastica per cheratite erpetica deve essere ancora definitivamente determinata, ma i risultati di alcuni studi suggeriscono la necessità di una terapia a lungo termine. Dal momento che l'incidenza delle recidive è massima nel primo anno dall'intervento è necessario instaurare una terapia antivirale almeno per i primi dodici mesi.<sup>12-15</sup>

Molti Autori concordano sul fatto che l'uso dell'aciclovir orale, alla dose di 400 mg per 2 volte al giorno, rappresenti la dose minima efficace nel prevenire l'insorgenza di recidive.

Lo studio HEDS riporta i dati riguardo l'efficacia farmacologica di aciclovir nel ridurre l'incidenza delle recidive. In un gruppo di 703 pazienti con un primo episodio di herpes oculare è stato somministrato aciclovir orale e placebo. La recidiva si è verificata nel 19% dei pazienti trattati con aciclovir e nel 32% nei pazienti trattati con placebo ( $p < 0,001$ ). La recidiva della patologia stromale è avvenuta nel 14% dei pazienti trattati con l'antivirale e nel 28% di quelli trattati con placebo ( $p = 0,005$ ). È stato così stabilito il benefico effetto dell'aciclovir. Gli studi precedenti all'uso dell'aciclovir orale riportavano che le recidive in pazienti con pregressa cheratite stromale variavano dal

27% al 64% nell'arco dei 2 anni. La somministrazione di aciclovir orale, invece, non si è dimostrata efficace nel prevenire la susseguente cheratite stromale o l'irite in pazienti con cheratite epiteliale, né nel trattamento della cheratite stromale stessa. Gli steroidi topici, invece, riducono la persistenza e la progressione dell'inflammazione stromale e non aumentano significativamente il rischio di recidiva epiteliale.<sup>16,17</sup>

Alcuni Autori raccomandano di confermare la presenza dell'HSV nelle cornee espianate del ricevente prima di iniziare la terapia antivirale orale, che può avere costi elevati. Con la terapia orale si ottengono livelli di farmaco in camera anteriore e negli altri distretti dell'organismo nettamente più elevati rispetto a quelli raggiunti dagli antivirali topici. L'aciclovir orale non interferisce con la cicatrizzazione della ferita chirurgica.

Da quanto esposto fino ora risultano evidenti i vantaggi di una corretta terapia antivirale nel prevenire la recidiva di malattia, e della cheratoplastica lamellare nel prevenire il rigetto immunitario. Ridurre il rischio immunologico significa ridurre la necessità di terapia steroidea e quindi ridurre la principale causa di rigetto nel primo anno post intervento

L'antivirale sistemico e la cheratoplastica lamellare anteriore profonda (DALK) sono i due punti chiavi che pongono le base di una lunga sopravvivenza al lembo innestato.

## **SCOPO DEL LAVORO**

Le numerose esperienze scientifiche sulla cheratoplastica lamellare sono state supportate dalla convinzione teorica che con tale tecnica il rischio di rigetto dell'innesto sia ridotto al minimo e che la durata nel tempo del lembo trapiantato sia sicuramente maggiore rispetto ad una cheratoplastica perforante. Il limite di tale tecnica sembra

essere legato ai risultati visivi, ancora oggi inferiori rispetto ad una cheratoplastica perforante. Al fine di ottimizzare i successi funzionali, la ricerca si è focalizzata soprattutto sulla possibilità di ottenere una superficie profonda, liscia e regolare, evitando la possibilità di perforazione, lasciando ancora aperto il capitolo di quale sia la migliore tecnica per la dissezione stromale.

La terapia di profilassi antivirale post cheratoplastica eseguita per cheratite erpetica deve essere sempre presa in considerazione per tutti i pazienti, in particolar modo per quelli immunosoppressi. Lo scopo della profilassi antivirale è quello di minimizzare l'incidenza delle recidive e quindi il rigetto e il danno della cornea donata

Lo scopo del nostro lavoro è stato valutare in pazienti consecutivi operati presso la Unità Operativa di Oculistica di Grosseto tra Gennaio 2003 e Gennaio 2007:

1. la reale efficacia dell'intervento di cheratoplastica lamellare nel minimizzare il rischio di rigetto anche in occhi con cicatrici neovascolari erpetiche.
2. valutare se l'estensione della neovascolarizzazione corneale può influenzare il risultato chirurgico
3. l'esito funzionale post cheratoplastica lamellare espresso come: visus (corretto e non corretto) e conta endoteliale.
4. la reale efficacia dell'utilizzo profilattico di antivirali sistemici nel ridurre le recidive di cheratite erpetica.
5. la potenziale nefrotossicità di una terapia in cronico con aciclovir

## **ANATOMIA DELLA SUPERFICIE OCULARE**

Nel 1977, Thoft e Friend hanno proposto la denominazione di "superficie oculare" per il comparto anatomico costituito da epitelio corneale e congiuntivale; la scoperta del ruolo

delle cellule del limbus corneale ha ulteriormente contribuito alla definizione di tale unità anatomo-funzionale.

Cornea, congiuntiva e limbus sono rivestiti da un epitelio squamoso, stratificato e non cheratinizzato, che giace su di una membrana basale ed è connesso, tramite complessi giunzionali, ad un tessuto connettivo stromale. L'epitelio serve da barriera contro la perdita di fluidi e l'ingresso di patogeni, ed è resistente ai traumi, infatti le cellule epiteliali aderiscono strettamente l'una all'altra ed alla matrice extracellulare sottostante.

Il tessuto connettivo delle tre regioni funge da supporto strutturale e da mezzo di trasporto di fluidi e sostanze, e contiene cellule che servono al mantenimento della matrice e degli epitelii. Attualmente, quando si parla di superficie oculare, si considerano, oltre agli epitelii di cornea, congiuntiva e limbus, anche il film lacrimale e le palpebre, compreso il margine libero palpebrale; tali strutture, oltre ad essere connesse dal punto di vista anatomico, funzionano in modo inter-dipendente e l'anomalia di una può produrre conseguenze anche sulle altre.<sup>18</sup>

L'epitelio corneale umano è costituito da cinquantasette strati cellulari, ha uno spessore regolare di 50 µm, è trasparente e privo di cellule mucipare.

A differenza di altri epitelii appartenenti alla medesima categoria, è specializzato per ricoprire un tessuto connettivo non vascolarizzato, lo stroma corneale, composto da tre strati di matrice extracellulare; lo strato di Bowman, una zona acellulare a contatto con la membrana basale dell'epitelio; lo stroma lamellare, intermedio, costituito da fasci appiattiti di collagene le cui fibre di diametro e spaziatura uniformi sono essenziali per la trasparenza della cornea (la distanza delle fibrille corneali è circa la metà della lunghezza d'onda della luce visibile; se la distanza aumenta la cornea perde la

trasparenza). Infine la membrana di Descemet, che è la membrana basale dell'endotelio corneale. (Figura 4)

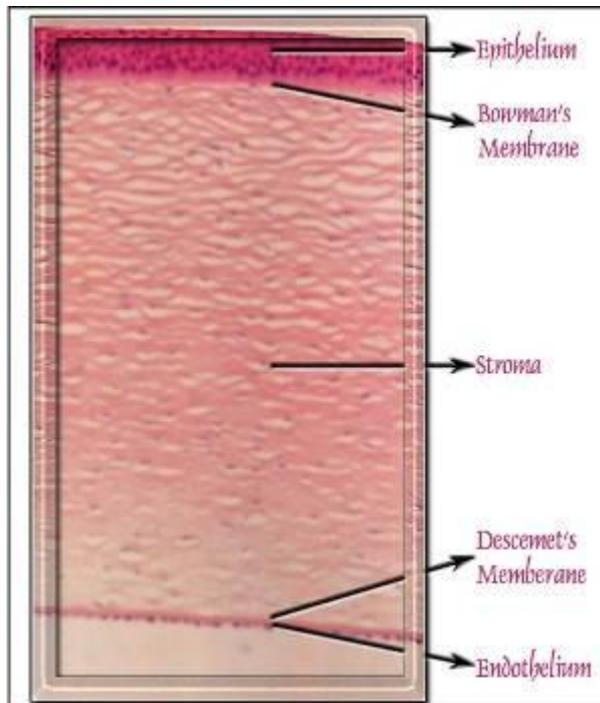


Fig 4: Schema dell'anatomia corneale

Nell'epitelio corneale si identificano tre- quattro strati di cellule squamose esterne, uno-tre strati intermedi di cellule alate (presentano sottili estensioni laterali che si dipartono da un corpo cellulare arrotondato); infine un singolo strato di cellule basali colonnari. L'epitelio corneale, come tutti gli epiteli squamosi stratificati, viene continuamente rinnovato, e dispone di un sistema efficiente per riparare le lesioni. Gli strati esterni ed intermedi, infatti, sono costituiti da cellule post-mitotiche, che si differenziano progressivamente fino a desquamarsi, mentre lo strato basale, costituito da *transient amplifying cells* variamente differenziate, rappresenta il comparto mitoticamente attivo, capace di garantire un completo *turnover* ogni 6-7 giorni (il tempo necessario per il rinnovo del 95% delle cellule epiteliali è di circa un anno). Le cellule basali dell'epitelio aderiscono alla membrana basale e allo stroma sottostante producendo una serie di strutture tra loro connesse, denominate complessi giunzionali. Sul versante

citoplasmatico della membrana delle cellule basali è visibile una regione elettrone-densa nella quale si inseriscono filamenti di cheratina. Questa regione è un emidesmosoma e, nella cornea centrale, il 30% circa della membrana delle cellule basali è occupata da tali giunzioni fra cellule e substrato. Sul versante esterno della membrana cellulare, in corrispondenza dell'emidesmosoma, una sottile linea elettrone-densa corre parallela alla membrana cellulare, e da essa si dipartono sottili filamenti di ancoraggio che attraversano una zona chiara, la lamina lucida, e raggiungono la zona elettrone-densa della membrana basale. Le fibrille di ancoraggio, bandeggiate, sono composte da collagene tipo VII, che ha un dominio globulare e un dominio ad elica. Raggruppamenti di domini ad elica si associano per formare le fibrille bandeggiate, tale rete serve a mantenere l'epitelio e la sua membrana basale connessi allo stroma. I principali componenti del citoplasma delle cellule basali, delle "ali" e delle cellule squamose, sono i filamenti intermedi, costituiti da proteine note come cheratine. Le cheratine formano una famiglia di circa 30 proteine insolubili in acqua, e costituiscono i filamenti associati ai desmosomi in quasi tutti gli epitelii. Le cheratine sono classificate in due grandi sottofamiglie: il tipo I (acide) e il tipo II (neutro-basiche). Ogni cheratina basica viene generalmente co-espressa assieme ad una cheratina acida, formando un dimero, caratteristico del grado di differenziazione cellulare e del tipo di tessuto. Durante la differenziazione delle cellule dell'epitelio corneale dallo strato basale a quello apicale, vengono espresse in sequenza tre principali coppie di cheratine. I dimeri K3 (p.m. 64 KDa) e K12 sono markers di differenziazione per l'epitelio corneale, e per l'epitelio limbare soprabasale, mentre sono assenti nello strato basale del limbus e nella congiuntiva bulbare adiacente, che invece esprimono la cheratina K19.

Anche gli altri due tipi di filamenti del citoscheletro cellulare, i filamenti di actina e i microtubuli, sono presenti nelle cellule epiteliali corneali. I filamenti di actina sono

distribuiti nel citoplasma, ma sono particolarmente concentrati dentro e sotto le micropliche della membrana delle cellule apicali (le micropliche sono pieghe a forma di creste che, viste in sezione, formano regolari ondulazioni della membrana). I microtubuli sono particolarmente evidenti nelle cellule in mitosi, dove determinano il piano di divisione cellulare e sono coinvolti nella separazione dei cromosomi.

Le membrane ondulate apicali delle cellule basali mostrano un evidente glicocalice filamentoso, costituito da catene laterali oligosaccaridiche, glicoproteine e glicolipidi intrinseci alla membrana o adsorbiti, e proteoglicani adsorbiti. Si pensa che il glicocalice, interagendo con la mucina del film lacrimale, possa avere un ruolo nella distribuzione del film sulla superficie dell'occhio. Sulle cellule apicali ci sono anche microvilli, proiezioni interdigitate che non sono numerose come le micropliche e possono essere da queste distinte con la microscopia elettronica a scansione. La protezione della funzione di rifrazione e trasmissione della luce è assicurata da un sistema di fibre nervose sensoriali che possono indurre una rapida risposta nei confronti di agenti dannosi. La cornea è il tessuto più innervato dell'organismo. La maggior parte delle terminazioni nervose è costituita da fibre sensitive mieliniche A  $\alpha$  e C, provenienti dalla prima branca del nervo trigemino (nervo oftalmico). Tali fibre, che nell'attraversare la membrana basale dell'epitelio perdono la guaina mielinica, danno origine ad una fitta rete di nocicettori che spiega la sensibilità della cornea agli stimoli esogeni. L'innervazione sensoriale della cornea costituisce il braccio afferente per due archi riflessi che provocano la lacrimazione (attraverso le fibre parasimpatiche del VII° nervo) e l'ammicciamento (attraverso le fibre motrici del VII° nervo). Questi due archi riflessi costituiscono la base neuro-anatomica per la difesa della superficie oculare dai traumi. Inoltre le fibre nervose trigeminali esercitano un ruolo trofico nei confronti dell'epitelio corneale, stimolando le mitosi e favorendo i processi riparativi.<sup>19</sup>

## **Superficie oculare e acuità visiva**

La qualità ottica dell'immagine dipende dall'effetto combinato di ciascun elemento refrattivo dell'occhio, in particolare cornea e cristallino. Tuttavia anche il film lacrimale, che fino a non molti anni fa ha ricevuto scarsa attenzione, gioca un ruolo importante. Per una buona acuità visiva, la qualità della superficie corneale è in alcune condizioni, più importante della trasparenza dello stroma. Minime variazioni nella forma della superficie oculare possono produrre un deficit visivo significativo. La cornea umana, vista in sezione, ha la forma di una lente concavo-convessa, più spessa in periferia (~700  $\mu\text{m}$ ) rispetto al centro (~550  $\mu\text{m}$ ). Complessivamente, la cornea contribuisce per ~43 diottrie al potere totale di 60 diottrie dell'occhio (70% della rifrazione totale). Il rimanente potere refrattivo è fornito dal cristallino. I 3-4mm centrali della cornea presentano una curvatura pressoché costante. La localizzazione ed il diametro di tale area corrispondono abbastanza bene con il diametro di ~4 mm della pupilla in condizioni fotopiche. In altre parole, la porzione di cornea in cui la rifrazione è ottimale, e priva di aberrazioni, è in corrispondenza ottica con la pupilla, ed è quindi in grado di produrre un'immagine retinica di elevata qualità. Il film lacrimale rappresenta il primo vero elemento refrattivo dell'occhio, ed è associato alla più ampia variazione nell'indice di rifrazione. Esso, ricoprendo in modo uniforme la superficie della cornea, regolarizza le micropliche delle cellule superficiali dell'epitelio corneale. In assenza del film lacrimale, tali estroflessioni produrrebbero gravi alterazioni nella qualità ottica della cornea. Piccoli cambiamenti localizzati nel raggio della superficie del film producono significative alterazioni del potere refrattivo, con conseguenti aberrazioni (una variazione di raggio di 0,2 mm produce un cambiamento di potere di circa 1,3 diottrie). Recentemente, è stato dimostrato che negli occhi normali, dopo ogni

ammiccamento si verifica una diminuzione delle aberrazioni di superficie, contemporanea alla distribuzione e regolarizzazione del film lacrimale sulla superficie corneale.<sup>20</sup> Quando, per effetto dell'evaporazione e di altri fattori, il film lacrimale comincia ad interrompersi, le aberrazioni aumentano. In un occhio normale, le minime aberrazioni misurabili cominciano ad apparire dopo sei secondi dall'ammiccamento.

## **FISIOPATOLOGIA DELLA SUPERFICIE OCULARE**

L'integrità della superficie oculare è garantita dal corretto funzionamento dei suoi costituenti. L'anatomia e la dinamica palpebrale sono requisiti fondamentali per comprendere molti fenomeni di superficie. La Cheratinizzazione del margine palpebrale, la blefarite cronica, le alterazioni delle ciglia e l'infiammazione cronica della congiuntiva palpebrale, possono sfuggire ad un esame clinico superficiale.<sup>19</sup> I *problemi quantitativi* di produzione della componente acquosa del film lacrimale producono complesse conseguenze dell'occhio secco. I *problemi qualitativi* (alterazioni del corretto rapporto fra i singoli componenti del film lacrimale), sono eterogenei, difficili da svelare e con una patogenesi ancora in via di chiarimento. Inoltre risulta difficile comprendere, in molti casi, quale sia il fattore scatenante di una serie di fenomeni che, quando producono una sintomatologia, risultano sempre di notevole complessità. L'insufficienza *quantitativa, qualitativa o funzionale* del film lacrimale produce inizialmente una sintomatologia di superficie non specifica (irritazione e rossore oculare, sensazione di corpo estraneo, bruciore, senso di fastidio, prurito, secrezione mucide o lipidica, fotosensibilità, edema palpebrale), che inizialmente può essere associata ad un'obiettività negativa o sfumata. Poi possono sopraggiungere lesioni organiche delle strutture di superficie con sofferenza e alterazioni di trasparenza

dell'epitelio corneale, *dellen* e diminuzione dell'acuità visiva. Gli occhi che presentano una anomala funzionalità del film lacrimale producono aberrazioni ottiche importanti e precoci rispetto agli occhi normali. In questi occhi, un corretto utilizzo di sostituti lacrimali aumenta il *break up time* (*tempo di rottura del film lacrimale* *vn 10 sec*) e migliora la qualità dell'immagine retinica. Un alterazione del film lacrimale ha effetti anche sulla congiuntiva; si possono osservare iperemia, congestione, sofferenza epiteliale nell'area interpalpebrale, per poi arrivare, a seconda della patogenesi, a quadri di metaplasia epiteliale con diminuzione o scomparsa della componente mucipara, fibrosi sottoepiteliale, infiammazione cronica.

Dal punto di vista patogenetico, esiste uno spartiacque importante che condiziona la gravità, la terapia e la prognosi di una patologia della superficie oculare: la presenza o meno di un deficit di cellule staminali dell'epitelio corneale o congiuntivale. Le condizioni che producono un deficit del limbus corneale possono avere un'eziologia primitiva (il microambiente stromale non favorisce la funzionalità delle cellule staminali), o secondaria (fattori esterni distruggono le cellule staminali),

La perdita, parziale o totale, delle cellule staminali dell'epitelio corneale determina una compromissione del *turnover* epiteliale che si traduce in difetti epiteliali, ulcere stromali, sostituzione della superficie corneale con epitelio congiuntivale e formazione di un panno neovascolare. I meccanismi di riparazione tessutale della cornea, cioè la sua risposta ad un trauma o ad una infezione hanno aspetti simili a quelli che si verificano negli altri tessuti dell'organismo. La guarigione corneale è caratterizzata da una cascata di eventi sequenziali, orchestrati dall'interazione tra le componenti cellulari corneali (cellule epiteliali, cheratociti e cellule endoteliali), mediante il rilascio di citochine, fattori di crescita e chemochine, per il mantenimento e il ripristino dell'anatomia e della funzione corneale. Il risultato della reazione tessutale dipende da numerosi fattori che

includono la natura e la gravità del trauma e il tipo di tessuto coinvolto. Subito dopo il trauma, la risposta inizia dal tessuto adiacente non coinvolto, attraverso una serie di processi intimamente connessi che portano alla stabilizzazione della ferita, alla produzione di cellule e matrice extracellulare ed infine al rimodellamento del tessuto. Il tessuto traumatizzato non ritorna mai normale, la cornea dopo un trauma perde la sua originaria trasparenza. Le cellule epiteliali vengono rapidamente sostituite attraverso la produzione di altre cellule da parte delle cellule staminali limbari, mentre la membrana di Bowman non viene riformata. La cornea normale non è vascolarizzata e utilizza energia prodotta prevalentemente dal metabolismo aerobico del glucosio. I vasi sanguigni sono attivamente coinvolti nella maggior parte dei processi di riparazione tessutale che avvengono in particolare al limbus. La riparazione corneale inizialmente porta alla formazione del tessuto di granulazione che appare di colorito roseo amorfo di aspetto gelatinoso; è un tessuto di transizione, capace di riempire lo spazio della ferita e di unire i suoi margini grazie alle sue proprietà contrattili. La formazione di tessuto di granulazione è tipica di tutti i distretti dell'organismo. Il tessuto di granulazione in ferite corneali clinicamente non complicate non contiene vasi ematici visibili ed è formato da componenti trasportate dall'umor acqueo e dalle lacrime. Il tessuto di granulazione in ferite complicate contiene numerosi vasi derivanti dal comparto limbare con conseguente formazione di cicatrici corneali riccamente vascolarizzate. Clinicamente, i deficit del limbus, a seconda della gravità del danno, si manifestano con una superficie corneale poco riflettente, di spessore irregolare, e con difetti epiteliali persistenti o ricorrenti. Quando il danno è maggiore, e l'epitelio congiuntivale ricopre la superficie corneale, si osserva la formazione di un panno superficiale neovascolarizzato. (Figura 5)

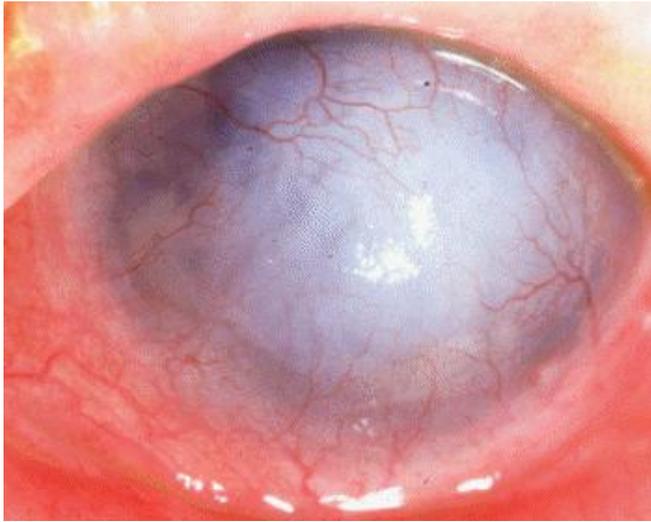


Fig 5: Neovascolarizzazione corneale

Lo stroma risulta più o meno vascolarizzato e compromesso. Questo predispone alla formazione di leucomi, ulcere settiche o trofiche, *melting* e rischio di perforazioni corneali.

La sintomatologia varia da disturbi aspecifici di superficie, sino a dolore con blefarospasmo. L'acuità visiva risulta variamente compromessa. Nella patologia grave il quadro clinico consente una facile diagnosi; nella patologia lieve e moderata non è possibile quantificare clinicamente l'entità del deficit limbare e può essere utile lo studio delle cheratine dell'epitelio corneale con una citologia ad impressione. Si tratta di un metodo scarsamente invasivo che consiste nel toccare con un filtro di esteri di cellulosa l'epitelio corneale e/o congiuntivale; in genere, uno tre strati epiteliali aderiscono al filtro, che viene colorato con tecniche istologiche e di immunohistochimica. Il risultato dell'esame consente di determinare l'origine dell'epitelio che ricopre la cornea, e questo dato ha un grande significato clinico. Se la citologia corneale rivela un epitelio K3 positivo, il limbus è funzionante; se la citologia mostra una cellularità mista, con cellule K3 positive, cellule K19 positive, e qualche

cellula mucipara, il limbus corneale è parzialmente danneggiato. Se la cornea risulta interamente ricoperta da cellule K19 positive, con cellule mucipare, il limbus è totalmente compromesso, ed è presente una congiuntivalizzazione della superficie corneale (*figura 8*).

La perdita totale delle cellule staminali dell'epitelio congiuntivale si traduce nel fenomeno della metaplasma squamosa, un processo in cui i cheratinociti congiuntivali e le cellule caliciformi vengono sostituiti da un epitelio squamoso cheratinizzato come quello della cute. Clinicamente questo fenomeno è sempre accompagnato da fibrosi della congiuntiva e cicatrizzazione anomala, con simblefaron ed importanti limitazioni funzionali. Congiuntivalizzazione e metaplasia squamosa rappresentano quindi due gravi e importanti segnali di fallimento della superficie oculare.

Le cause che principalmente portano a un danno di superficie oculare sono da ricondursi a : traumi infezioni e patologie autoimmunitarie.<sup>18,19,20,21,22</sup>

## **LA CHERATITE ERPETICA**

L'HSV è un virus panendemico di cui l'uomo rappresenta l'unico serbatoio. Esistono due sierotipi di herpes simplex virus: HSV-1, classicamente associato all'infezione orofaciale, che è l'agente causale più comune dell'infezione oculare, e l'HSV-2, associato all'infezione genitale. L'HSV-1 è stato ritrovato più frequentemente nei gangli trigeminali, mentre l'HSV- 2 nei gangli sacrali. Il periodo di incubazione dell'infezione primaria varia da 1 a 28 giorni. L'HSV è contagioso durante il periodo asintomatico e per 5-10 giorni dopo la comparsa delle lesioni cutanee o mucose. Gli studi clinici sottostimano molto l'incidenza e la prevalenza dell'infezione, perché più dei 2/3 delle infezioni sono asintomatiche o misconosciute. Dai dati riportati in letteratura si evince

che le infezioni primarie sono clinicamente manifeste nell'1-6% dei casi mentre nel 33% dei casi, l'infezione da HSV si manifesta come infezione recidivante.<sup>23,24</sup>

L'HSV-1 e 2 possono essere trasmessi da pazienti asintomatici, causando infezioni primarie o ricorrenti. Poiché l'HSV-1 è trasmesso principalmente attraverso il contatto con secrezioni orali infette o attraverso lesioni cutaneo-mucose, l'incidenza e la prevalenza sono influenzate dall'affollamento, dalla scarsa igiene e dall'età. La diffusione da pazienti asintomatici rappresenta la modalità di trasmissione in assoluto più frequente. Si calcola che la diffusione asintomatica dell'HSV-1 nelle secrezioni orofaringee avvenga nell' 80% delle persone infette. Si stima che il 70% degli individui dai 15 ai 25 anni siano stati infettati e questa proporzione si alza al 97% con i sessantenni.

Le infezioni oculari primarie da HSV si manifestano principalmente con l'interessamento congiuntivale e/o degli strati superficiali corneali. Lo studio del Moorfields Hospital riporta una congiuntivite moderata o grave nell'84%, una blefarite nel 38%, un'ulcera dendritica nel 15% e una cheratite stromale nel 2% dei casi.<sup>17</sup> Circa il 21% di tutte le congiuntiviti acute riconoscono un'eziologia erpetica. Comunemente l'infezione è monolaterale, ma può tuttavia interessare entrambi gli occhi. Le forme recidivanti si presentano solitamente con le stesse caratteristiche dell'infezione primaria e possono essere scatenate da vari fattori come la febbre, i cambiamenti ormonali, l'esposizione a raggi ultravioletti, stress di tipo psicologico, traumi oculari, manipolazioni del trigemino, chirurgia bulbare.

L'Herpetic Eye Disease Study del Moorfields Hospital (enfatisza l'alta incidenza di recidive riportando che circa il 32% delle infezioni corneali erpetiche sono in realtà forme recidivanti: nel 49% dei casi l'episodio è singolo, nel 40% la frequenza della recidiva è di 2-5 episodi e nell'11% di 6-15 episodi nei primi tre anni.<sup>16,17</sup>

L'incidenza delle recidive è maggiore nei soggetti con interessamento importante della congiuntiva durante l'infezione oculare primaria, mentre la gravità dei segni corneali non influenza l'incidenza della ricorrenza. Il 40% dei pazienti con cheratite primaria, sviluppa un episodio di recidiva di cheratite epiteliale entro 5 anni e nel 10% dei casi ciò esita in ulcere corneali e cicatrici corneali tali da causare un deficit visivo. Dalla letteratura emerge che la gestione medica della patologia e in particolare della cheratite stromale e dell'ulcera corneale, è argomento assai discusso e che l'intervento chirurgico ad oggi più eseguito, la cheratoplastica perforante è gravato da un alto numero di recidive.<sup>17</sup>

La cheratite erpetica viene classificata in 4 forme cliniche.

- Cheratite epiteliale infettiva
- Cheratopatia neurotrofica
- Cheratite stromale
- Endotelite

La cheratite epiteliale infettiva è caratterizzata da vescicole corneali, ulcera dendritica, ulcera geografica e ulcera marginale. Tutte queste manifestazioni sono causate fondamentalmente dalla replicazione virale attiva all'interno dell'epitelio. Le prime lesioni epiteliali a dar mostra di se, sono le piccole vescicole. La più comune rappresentazione della cheratite da HSV è, però, l'ulcera dendritica, termine derivato dal greco «dendron» che significa albero ( *Figura 6*).



Fig 6. Ulcera dendritica

L'ulcera dendritica è una vera e propria ulcera che si approfondisce oltre la membrana basale. Un allargamento dell'ulcera dendritica che sia maggiore della sua lunghezza, viene definita ulcera geografica. Un'altra manifestazione della cheratite epiteliale infettiva è l'ulcera marginale localizzata tipicamente al limbus e caratterizzata dalla presenza di vasi satelliti.

I pazienti che hanno avuto una cheratite epiteliale infettiva possono sviluppare una cheratopatia neurotrofica. Questa entità clinica è unica in quanto non riconosce una patogenesi né infettiva né virale. Più precisamente deriva da un danno dell'innervazione corneale che determina una ridotta secrezione lacrimale e una diminuzione della frequenza dell'ammiccamento palpebrale. La cheratopatia può essere esacerbata dall'uso cronico di medicazioni topiche, tra cui i farmaci antivirali. Il sintomo clinico più rilevante è l'assenza di dolore per ipoestesia corneale. Le manifestazioni precoci della cheratopatia neurotrofica sono le irregolarità della superficie corneale e la perdita della normale specularità corneale. Possono in seguito svilupparsi erosioni punctate epiteliali, che possono esitare in un difetto epiteliale persistente. Il difetto epiteliale nella cheratopatia neurotrofica è di forma ovalare con margini piani. La persistenza del difetto epiteliale nella cheratopatia neurotrofica può eventualmente portare all'ulcerazione stromale (ulcera neurotrofica). Questa mantiene la stessa forma rotondeggiante con margini piani come il precedente difetto epiteliale e lo stroma del letto dell'ulcera, tipicamente, sviluppa una opacità grigio-chiara. L'ulcera neurotrofica presenta un bordo ispessito dovuto ad un accumulo di epitelio. Le complicazioni della cheratopatia neurotrofica comprendono la cicatrice stromale, la neovascolarizzazione, l'infezione batterica secondaria, la necrosi e la perforazione.

Sebbene la malattia stromale (Figura 7 e 8) incida approssimativamente solo per il 2% negli episodi di prima manifestazione di cheratite da HSV, è stata riscontrata una

percentuale dal 20% al 48% nelle recidive di questa patologia. In questa malattia, lo stroma corneale può essere colpito mediante una molteplicità di meccanismi, sia primari che secondari.

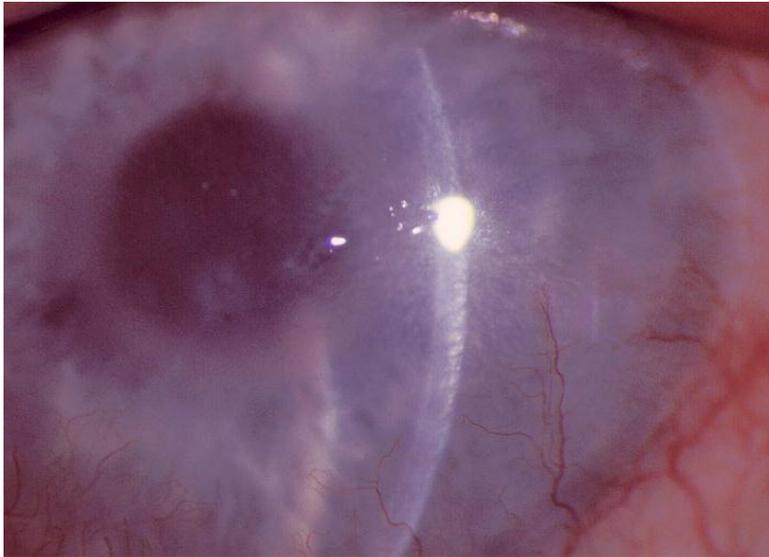


Fig 7: Cheratite stromale. La patologia è primitivamente dello stroma. Si accompagna spesso a neovascolarizzazione profonda. L'infiammazione può essere focale, multifocale o diffusa. In questo caso è presente un'ulcera epiteliale concomitante

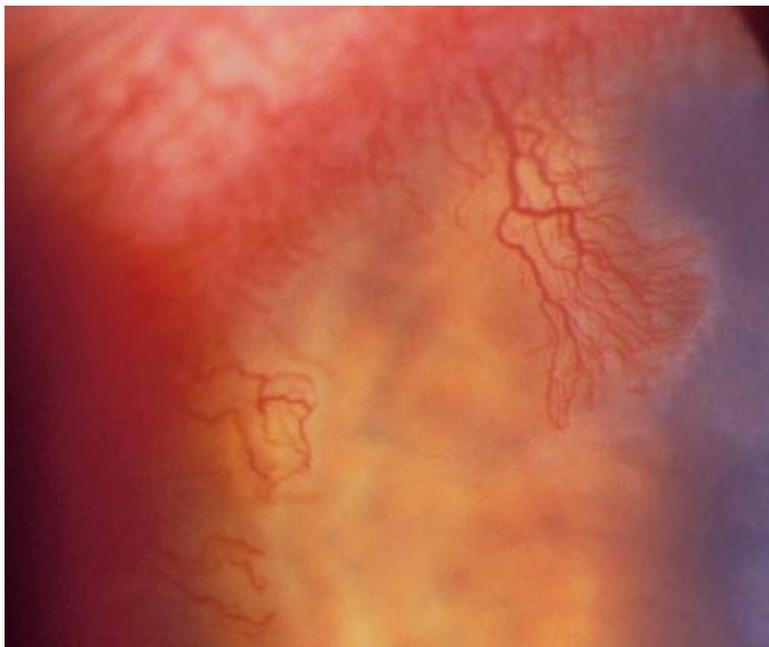


Fig 8: Cheratite stromale: Neovascolarizzazione superficiale e profonda libere.

Il coinvolgimento secondario può essere l'esito della cheratite epiteliale infettiva, della cheratopatia neurotrofica e dell'endotelite. I sintomi clinici si presentano con offuscamento o calo visivo, dolore (associato ad un difetto epiteliale o ad un'uveite anteriore) e fotofobia. Come è stato precisato precedentemente, una patologia epiteliale come la cheratite epiteliale infettiva, può portare allo sviluppo di una cicatrice stromale. Inoltre, la cheratopatia neurotrofica può determinare una cicatrizzazione ed un assottigliamento stromale.

L'endotelite, che deriva da un processo infiammatorio a carico dell'endotelio, produce un edema stromale secondario che, in caso di cronicizzazione, può sviluppare una cicatrice. Bisogna comprendere bene che quando avviene un coinvolgimento stromale secondario ad una cheratite epiteliale infettiva, ad una cheratopatia neurotrofica o ad una endotelite, la causa dell'infiammazione risiede nell'epitelio o nell'endotelio, per cui il trattamento deve essere mirato alla vera causa dell'infiammazione se vogliamo ridurre gli effetti a livello stromale. Ci sono due quadri di interessamento stromale da HSV che possono colpire primariamente lo stroma corneale e devono essere riconosciuti come tali: la cheratite stromale necrotizzante, dovuta ad una diretta invasione dello stroma da parte del virus e la cheratite stromale immune, dovuta fondamentalmente ad una reazione immune a livello dello stroma, sebbene possa giocare un ruolo anche il virus attivo.<sup>25- 29</sup>

Un'attenta valutazione e conoscenza di ciascuna delle manifestazioni cliniche della cheratite da HSV appare fondamentale per il trattamento appropriato di questa patologia

## **Terapia medica**

La corretta classificazione delle forme cliniche di cheratite erpetica permette di identificarne il meccanismo patogenetico e così impostare la terapia più efficace. L'elenco dei farmaci utili per il trattamento della malattia erpetica corneale include: Antivirali topici, antivirali sistemici, corticosteroidi, lubrificanti e antibiotici topici. Ognuno, con il suo spettro d'azione e la tempistica adeguata, può essere efficace nel controllo sia dell'infezione che degli esiti.

### *Aciclovir*

Il trattamento delle infezioni oculari da HSV prevede l'uso di farmaci specifici antivirali per via topica e per via generale. Il farmaco più comunemente usato è l'aciclovir. L'aciclovir, 9-[ (2-idrossietossi)metil]-9H-guanina, è un potente e selettivo inibitore della replicazione dell'HSV-1 e 2, del VZV e dell'EBV. Le sue proprietà antivirali si esplicano solo dopo che ha subito un doppio processo di fosforilazione, assumendo prima la forma di monofosfato e poi quella di derivato trifosfato. La fosforilazione avviene principalmente in cellule che contengono l'enzima timidina chinasi, codificato dall'HSV e non si verifica (o comunque avviene in modo marginale) nelle cellule sane. La fosforilazione è quindi prerogativa delle cellule infettate da HSV e non avviene in modo significativo nelle cellule non infettate, né nelle cellule con HSV che non codificano l'enzima specifico (mutanti resistenti). L'aciclovir trifosfato è un potente inibitore selettivo della DNA polimerasi: esso viene incorporato nel DNA virale al posto della guanosin trifosfato con cui compete, provocando una precoce interruzione della catena. Ciò inibisce la replicazione del DNA virale. Cicli prolungati o ripetuti di aciclovir in pazienti gravemente immunocompromessi possono associarsi alla selezione

di ceppi virali con sensibilità ridotta, che possono non rispondere al trattamento con aciclovir. La maggior parte dei ceppi virali isolati, con ridotta sensibilità, mostrano un deficit relativo di timidina chinasi virale; inoltre si sono osservati anche ceppi con timidina chinasi o DNA polimerasi alterate. L'aciclovir è disponibile in commercio in preparazioni farmaceutiche per via endovenosa, per os e topica.

L'aciclovir topico e/o orale è usato come farmaco di elezione nella cheratite epiteliale e nella cheratite necrotica stromale; in aggiunta alla terapia steroidea, nella cheratite stromale immune, nelle endoteliti e nella prevenzione delle recidive. L'aciclovir raggiunge concentrazioni terapeutiche viricide nell'umor acqueo. Nella cheratite epiteliale è consigliato l'uso di aciclovir topico per 5 volte al giorno fino a riparazione tissutale. A questo punto il dosaggio dovrebbe essere ridotto progressivamente fino a 7 giorni dopo la riparazione.<sup>30</sup>

E' stato dimostrato che la somministrazione di aciclovir orale a lungo termine riduce la percentuale di recidive della cheratite epiteliale e stromale, per cui è indicato nei pazienti ad alto rischio di recidive (soggetti immunodepressi, soggetti con precedenti episodi di cheratite epiteliale o stromale).

Ancora oggi, non c'è accordo su quali pazienti devono essere sottoposti a profilassi antivirale. In generale, i soggetti atopici, gli immunocompromessi, i pazienti con infezione da HIV, caratterizzati da frequenti recidive sono i candidati per la copertura antivirale a lungo termine. Il ruolo della profilassi è meno chiaro per i soggetti con cheratite epiteliale, congiuntivite e blefarite che vanno incontro a risoluzione con farmaci topici a breve termine. Tuttavia, poiché la durata più breve tra le recidive è predittiva di un maggior rischio di recidive, può essere prudente somministrare aciclovir orale a quei soggetti che presentano due o più attacchi di cheratite epiteliale all'anno. La durata e la dose ottimale per prevenire le recidive richiedono ancora ulteriori studi.

Lo studio HEDS ha stabilito il regime di trattamento in modo empirico sulla base di trials di profilassi in patologie non oculari. E' ancora da stabilire se un periodo di trattamento più breve e/o una dose differente possano apportare beneficio.<sup>17</sup>

### *Corticosteroidi*

L'utilizzo del cortisone topico nella malattia oculare causata da HSV prevede una notevole esperienza nella gestione di questi casi da parte dell'oftalmologo curante. Se la somministrazione di cortisone topico non viene supportata da un'adeguata copertura con antivirali sistemici, la malattia erpetica può progredire in maniera fulminante. L'uso del cortisone consente la riduzione dei fenomeni infiammatori, l'inibizione dei meccanismi di infiltrazione cellulare e la riduzione dei fenomeni di opacizzazione e cicatrizzazione corneale causa della riduzione visiva. E' quindi un farmaco essenziale per la prevenzione degli esiti cicatriziali della risposta immunitaria all'infezione erpetica. Il suo uso evidentemente, diventa possibile e risolutore, una volta ottenuto il controllo della replicazione virale con gli antivirali sistemici.

La letteratura è ormai concorde che si debba prescrivere in caso di: cheratite stromale, endotelite, uveite anteriore, sclerite o episclerite. Ma il suo utilizzo è da monitorare attentamente se non addirittura controindicato nelle forme di cheratite epiteliale e nelle alterazioni neurotrofiche.<sup>30</sup>

### **Terapia chirurgica**

Il corretto inquadramento diagnostico e terapeutico dell'infezione erpetica con l'uso degli antivirali sistemici supportato dagli steroidi topici dovrebbe ridurre l'incidenza della cheratopatia neurotrofica con la sua grave complicanza verso la colliquazione

corneale (melting) e la perforazione corneale. Tuttavia sono ancora frequenti i casi di ulcere intrattabili che frequentemente possono complicarsi con sovrapposizione infettiva stromale fino al melting. L'immediata terapia con antivirali sistemici supportata da azioni chirurgiche tendenti a facilitare la chiusura dell'ulcera come la tarsorrafia, l'innesto di membrana amniotica, l'uso di cianoacrilato, la chiusura dei punti lacrimali può tuttavia portare alla guarigione, rimandando il recupero della trasparenza corneale ad un secondo momento, ovvero a quando la replicazione virale è sotto controllo e il processo infettivo non più attivo.

La ricostruzione corneale con il ripristino della sua trasparenza e il recupero della capacità visiva è sicuramente un capitolo affascinante della pratica oculistica. La chirurgia del trapianto corneale può essere, in senso temporale, diviso in ante-terapia virale sistemica e post-terapia virale sistemica. Prima che gli effetti positivi della terapia virale sistemica fossero conosciuti molti autori controindicavano qualsiasi tipo di cheratoplastica, considerando l'elevato rischio di recidiva dell'infezione su un lembo donato che sicuramente aveva minore neurotrofismo. Inoltre, in tale periodo, la cheratoplastica più diffusa era sicuramente la cheratoplastica perforante caratterizzata da una reazione immunitaria importante soprattutto in cornee neovascolarizzate come quelle degli esiti della cheratite erpetica. Negli ultimi anni questo approccio è totalmente cambiato consentendo una valida e duratura promessa di riabilitazione per questi pazienti.

### La Cheratoplastica

La cheratoplastica ha lo scopo di sostituire una cornea patologica con un lembo corneale sano, al fine di ripristinare la trasparenza corneale e quindi la funzione visiva. Il

trapianto di cornea può essere a tutto spessore (cheratoplastica perforante) o parziale (cheratoplastica lamellare).

La cheratoplastica perforante consiste nella rimozione di un lembo corneale a tutto spessore, quindi asportazione di epitelio, stroma ed endotelio corneale e nell'innesto di un bottone corneale (graft) di donatore cadavere a tutto spessore che viene suturato al letto corneale ricevente. Questa tecnica chirurgica risale al secolo XIX ed a oggi è una tecnica consolidata e standardizzata. Essa trova tradizionalmente indicazione nelle seguenti patologie corneali:

1. Difetti di curvatura: cheratocono ed ectasie corneali
2. Difetti di trasparenza: distrofie, degenerazioni e leucomi
3. Patologia acuta: perforazioni e traumi.

La cheratoplastica perforante è una tecnica chirurgica intraoculare relativamente semplice, che però è effettuata a bulbo aperto con rischi intrinseci di danno all'iride, all'angolo ed alla lente. L'endoftealmite e l'emorragia espulsiva, seppur rare, sono devastanti ma possibili complicanze. Le cause di fallimento della cheratoplastica perforante sono il rigetto endoteliale, lo scompenso endoteliale del lembo primario e/o secondario a sinechie anteriori e posteriori, l'ipertono, l'occhio secco, il prolasso vitreale ed il deficit staminale. Il rigetto endoteliale è stato identificato come la causa più comune di fallimenti e la vascolarizzazione stromale profonda, con estensione superiore alle tre ore, sembra aumentare notevolmente il rischio di reazione immunologica.

Attualmente la cheratoplastica lamellare profonda (DALK) è la tecnica di scelta per le patologie corneali associate ad un danno endoteliale in assenza di deficit limbare.

Dagli anni 80 del secolo scorso, la cheratoplastica lamellare profonda è stata rivalutata e proposta come passaggio logico nel trattamento chirurgico delle patologie corneali con endotelio integro e funzionante.

La cheratoplastica lamellare è una tecnica chirurgica che prevede la rimozione degli strati più superficiali della cornea (epitelio, membrana di Bowman e stroma), lasciando in situ la membrana di Descemet e l'endotelio, e il successivo innesto di un lembo donatore privato dell'endotelio e della membrana di Descemet. Le possibili complicanze intraoperatorie sono costituite dalle micro o macroperforazioni della membrana di Descemet, le quali possono portare alla formazione di una doppia camera oppure alla conversione dalla tecnica lamellare in perforante. Preservando l'endotelio sano del ricevente il rischio di rigetto endoteliale viene virtualmente eliminato.

Un altro vantaggio della cheratoplastica lamellare è dato dal fatto che essa è una procedura extraoculare che permette quindi di evitare i possibili rischi di una chirurgia intraoculare, inoltre, a causa dell'impossibilità della deiscenza della ferita, permette di anticipare i tempi di rimozione della sutura con recupero più rapido della visione. Tuttavia, nonostante i suddetti vantaggi, la cheratoplastica lamellare è una tecnica chirurgica non ancora standardizzata e di difficile esecuzione, con tempi chirurgici lunghi ed una lunga curva di apprendimento.

## **MATERIALI E METODI**

Nel periodo tra Gennaio 2003 e Gennaio 2007, sono stati valutati tutti i pazienti sottoposti a trapianto di cornea lamellare con tecnica Big Bubble presso il reparto di Oftalmologia dell'Ospedale Misericordia di Grosseto. gli interventi sono stati eseguiti da due chirurghi (V.S. e L.C.). Sono stati arruolati 52 pazienti (32 maschi e 20 femmine) con età media di 46,5 ± 12 anni (range, 35-60 anni).

Il criterio di inclusione principale era la presenza di un deficit visivo causato da una cicatrice corneale con neovascolarizzazione corneale dovuta ad infezione da HSV. L'opacità corneale, coinvolgendo l'asse ottico, era la reale causa del deficit visivo. Tutti i pazienti non dovevano aver avuto episodi di recidiva nell'ultimo anno. Dovevano essere in terapia sistemica con aciclovir (800 mg/die) e in terapia topica a base di collirio corticosteroidico (1-2 gocce/die), mostrando una buona tolleranza a tale terapia, garantendo quindi la prosecuzione della stessa anche nel periodo postoperatorio. Per quanto riguarda la profondità dell'opacità, tutti i casi con coinvolgimento di più di 2/3 dello stroma venivano esclusi, visto che la chirurgia lamellare di superficie non avrebbe trovato una corretta indicazione. Abbiamo inoltre classificato l'estensione e la profondità della neovascolarizzazione in quadranti

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a visita oculistica completa con studio del visus, esame del segmento anteriore con lampada a fessura ed esami diagnostici prima dell'intervento, nell'immediato post-operatorio e dopo 6 e 12 mesi dall'intervento. L'acuità visiva preoperatoria e postoperatoria naturale e con la miglior correzione ottica è stata misurata con ottotipo di Snellen. La conta endoteliale è stata eseguita al follow-up di 6 e 12 mesi in un sottogruppo di pazienti, utilizzando un microscopio confocale, EM-1000, Tomey. La funzionalità renale ed epatica è stata esaminata in tutti i pazienti mediante esami ematici ogni 6 mesi.

Il consenso informato è stato ottenuto da ogni paziente.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a cheratoplastica lamellare con tecnica Big Bubble secondo la metodica descritta da Anwar.<sup>2</sup>

La cornea è stata trapanata con trapano a suzione di Hessburg-Barron, con un diametro di 8 mm sia nel donatore che nel ricevente. La cornea del donatore privata della membrana di Descemet e dell'endotelio è stata suturata nel letto corneale del ricevente e

suturata con 16 punti staccati in nylon 10-0. Nel caso in cui non si riuscisse ad ottenere una buona bolla d'aria e la conseguente esposizione della membrana di Descemet si procedeva alla viscodissezione con materiale viscoelastico Healon. Lo stroma enfisematoso in seguito a iniezione di aria veniva rimosso e il materiale viscoelastico veniva iniettato con una cannula smussa per meglio ottenere la separazione della membrane di Descemet dallo stroma (air-visco bubble technique).

La terapia postoperatoria consisteva in antibiotici e corticosteroidi topici (4 volte/die) e aciclovir (800 mg x tre/die) per un mese. Nel secondo mese di terapia i pazienti utilizzavano corticosteroidi topici, desametasone, tre volte al di e aciclovir 800 mg due volte al di. In seguito la dose di aciclovir veniva ancora ridotta a 1 cpr al di e desametasone coll una goccia dua volte al di.

## **RISULTATI**

La neovascolarizzazione corneale è stata classificata, in seguito a esame macroscopico con lampada a fessura in base alla estensione e alla profondità. Quarantotto pazienti (92%) presentavano neovascolarizzazione, in 23 (48%) era coinvolto 1 quadrante, in 12 (25%) 2 quadranti e in 13 (27%) la neovascolarizzazione coinvolgeva 3-4 quadranti. 4 pazienti (8%) non presentavano neovascolarizzazione. In base alla profondità, 34 pazienti (65%) presentavano una neovascolarizzazione superficiale e 14 (27%) una neovascolarizzazione profonda. L'estensione della neovascolarizzazione, nel campione in studio, non ha influenzato negativamente l'esito funzionale dell'intervento.

L'acuità visiva preoperatoria non corretta era (UCVA) 20/70 (range da 20/200 a 20/50). Il risultato visivo post operatorio a 31 mesi di follow-up era 20/40 (range da 20/100 a 20/30). (Tabella 1) Quarantadue pazienti (80 %) presentavano un BSCVA di 20/30 o

meglio; e 27 (52%) presentavano un 20/20 all'ultima visita di follow-up. (Tabella 2)

L'esposizione della membrane di Descemet è stata ottenuta con successo in 45 occhi (86.5%), permettendo una perfetta esecuzione della DALK. In due (3.8%) casi si è sviluppata una microperforazione della membrana di Descemet, l'iniezione di aria in camera anteriore ha comunque permesso al chirurgo di completare l'intervento. In questi casi, l'aria in camera anteriore non è stata rimossa alla fine dell'intervento. Nelle prime 6 ore, in questi pazienti è fondamentale lo stretto controllo clinico per il riconoscimento immediato del blocco pupillare in modo da ottenere la risoluzione con la corretta terapia medica. Nessuno dei pazienti ha sviluppato blocco pupillare o sindrome di Uretz-Zavalia.

La presenza di una opacità corneale centrale ha reso impossibile l'esecuzione della conta endoteliale nel preoperatorio, ciononostante, l'assenza di edema corneale era un sicuro indice di buona funzionalità endoteliale. La conta endoteliale è stata eseguita durante la visita del sesto e dodicesimo mese post intervento in 25 pazienti. La cellularità endoteliale media era  $2458 \pm 330$  cell/mm<sup>2</sup> (range 1750 - 3000 cell/mm<sup>2</sup>). Poiché non era stato possibile eseguire la conta endoteliale nel preoperatorio, è difficile stimare la perdita cellulare residua dall'atto chirurgico. La perdita cellulare tra il sesto e il dodicesimo mese era di 1,3%. Nessuno dei pazienti ha manifestato episodi di rigetto o recidiva di cheratite erpetica al termine del follow-up.

## **DISCUSSIONE**

Nella nostra casistica la DALK si è dimostrata tecnica efficace rendendo possibile l'ottenimento di buoni risultati visivi e funzionali in tutti i pazienti operati. La DALK con tecnica Big Bubble nella casistica riportata si è dimostrata capace di trattare le

opacità corneali causate da cicatrice attribuibile a patologia corneale erpetica. Al follow-up di 12 mesi nessun paziente mostrava segni di rigetto o recidiva.

Con la cheratoplastica lamellare i problemi legati alla immunità sono ridotti poiché l'endotelio corneale non è coinvolto nella chirurgia. Inoltre il rigetto dopo cheratoplastica lamellare è potenzialmente facile da controllare, come già riportato da altri autori.<sup>31,32</sup>

I buoni risultati visivi a 12 mesi sono comparabili a quelli riportati in letteratura ottenuti dopo cheratoplastica perforante.<sup>33,34</sup>

L'80% dei pazienti ha raggiunto un visus corretto di 20/30 nel post operatorio, ed il 52% dei pazienti ha raggiunto un visus di 20/20 a 31 mesi di follow-up. I nostri risultati visivi sono paragonabili ai dati riportati in letteratura in lavori che valutano l'efficacia di DALK nella terapia del cheratocono.<sup>35-37</sup>

Rasik e collaboratori hanno riportato un risultato visivo di 20/40 a sei mesi di follow-up in pazienti sottoposti a DALK con tecnica Big Bubble in occhi con ulcere corneali.<sup>38</sup>

Il rischio di macroperforazione è notevolmente ridotto nella DALK con tecnica Big Bubble rispetto ad altre tecniche di chirurgia lamellare. Nel caso in cui si abbia una microperforazione questo non implica l'obbligo di convertire l'intervento in perforante, poiché è sempre possibile eseguire una cheratoplastica lamellare predescemetica profonda abbastanza da lasciare una trasparente interfaccia tra tessuto del donatore e cornea del ricevente. Se dovesse verificarsi una perforazione è opportuno iniettare aria in camera anteriore e monitorare il paziente nelle prime ore immediatamente dopo l'intervento, per intervenire prontamente nel caso in cui si verificasse il blocco pupillare. Rispetto alla cheratoplastica perforante, la cheratoplastica lamellare offre numerosi vantaggi, tra cui: il mantenimento dell'integrità del bulbo oculare, la possibilità di utilizzare materiale corneale da donatore più anziano, un minor utilizzo di

corticosteroidi nel postoperatorio, una quasi completa assenza di rigetto e una minor perdita di cellule corneali. Studi clinici hanno dimostrato l'alta incidenza di rigetto in pazienti sottoposti a cheratoplastica perforante per patologia erpetica.<sup>39-41</sup>

Le cause del fallimento sono multifattoriali e ancora non completamente chiarite. I segni di rigetto nel paziente erpetico raramente si manifestano palesemente, rendendo difficile la diagnosi e quindi ritardando l'inizio della terapia. Le lesioni attribuite a HSV in seguito a trapianto corneale frequentemente si presentano ai margini del trapianto, ed in molti casi non hanno la caratteristica forma dendritica. Inoltre, alcuni segni dell'infezione da HSV, come l'edema e l'opacità corneale, mimano i segni del rigetto immunitario, e pertanto spesso la vera causa del fallimento non è di facile identificazione. L'elevata incidenza di fallimenti del trapianto in occhi affetti da cheratite erpetica è imputabile alla reazione immunologica causata da fattori HSV specifici o alla reazione infiammatoria, evidenziata dalla vascolarizzazione e dalla infiltrazione leucocitaria; l'infiammazione attiva di qualunque natura essa sia, compromette la sopravvivenza del trapianto. La risposta al rigetto potrebbe di per sé anche indurre la riattivazione e provocare una recidiva di malattia creando un ambiente favorevole alla replicazione virale nella cornea.<sup>42</sup>

Nel passato il trapianto di cornea per la patologia erpetica era gravato da numerosi rigetti per le scarse conoscenze dei meccanismi implicati. L'avvento dei farmaci antivirali sistemici come l'aciclovir, ha permesso di poter considerare la cheratoplastica una tecnica chirurgica possibile nei casi di cicatrici stromali post cheratite erpetica. La patologia erpetica ha alte percentuali di recidiva ed è stimato che il rischio di recidiva sia del 25% durante il primo anno dopo cheratoplastica perforante. L'incidenza di recidiva e di rigetto della cheratite erpetica è stato lungamente studiato negli anni.<sup>43-47</sup>

La recidiva di HSV in occhi sottoposti a cheratoplastica perforante in alcuni casi porta inevitabilmente a dover eseguire un nuovo trapianto, con successivo aumento della possibilità di un ennesimo rigetto.<sup>48</sup>

L'uso profilattico di antivirali dopo cheratoplastica perforante è stato provato per minimizzare la possibilità di recidiva di cheratite da herpes simplex. I farmaci antivirali topici nel postoperatorio sono stati usati nella profilassi delle recidive ma risultavano in una vascolarizzazione del trapianto e in una persistenza di deficit epiteliale.

Ficker nel suo studio ha dimostrato che il 23% dei casi di recidiva post trapianto per cheratite erpetica andava incontro a segni clinici di rigetto.<sup>49</sup>

Choen nel suo lavoro riporta una percentuale di recidiva di cheratite dendritica dopo trapianto corneale nel 19% dei casi.<sup>50</sup>

Cobo e collaboratori hanno riportato che la sospensione di farmaci antivirali nel periodo postoperatorio non era associato ad un incremento del tasso di recidiva.<sup>51</sup> La terapia sistemica con aciclovir è stata studiata nel postoperatorio di cheratoplastica perforante in pazienti con HSV. Barney e Foster riportano l'assenza di recidiva di HSV dopo cheratoplastica perforante in un piccolo gruppo di 14 pazienti che hanno ricevuto aciclovir orale confrontati ad un gruppo di 9 non trattati. Il fallimento del trapianto è stato visibile in 2 (14%) dei 14 pazienti trattati con aciclovir ed in 5 (56%) dei 9 non trattati.<sup>52</sup> Aciclovir per via orale in un dosaggio di 400 mg cinque volte al giorno porta a una concentrazione di aciclovir molto al di sotto della minima concentrazione capace di inibire HSV nelle lacrime e nell'umor acqueo nell'uomo, mentre l'utilizzo cronico di 800 mg al giorno ha dimostrato di essere efficace nel ridurre le recidive di herpes simplex genitale e orale<sup>53,54</sup>

Lo svantaggio di una terapia profilattica con compresse giornaliere è la possibile scarsa compliance dei pazienti nel tempo.<sup>55</sup> Gli effetti collaterali di una lunga terapia a base di

antivirali possono essere un danno reversibile ai reni causato da depositi di cristalli nei tubuli renali, un danno tossico reversibile del midollo osseo, diarrea.<sup>16,17</sup>

Il trattamento profilattico con antivirali e con corticosteroidi topici è probabilmente stata la chiave di successo dello studio visto che non si sono verificati episodi di rigetto o di recidiva di cheratite erpetica nel periodo in studio.

## **CONCLUSIONI**

1. DALK con tecnica Big Bubble è una possibile alternativa nella chirurgia del leucoma corneale e della cheratite erpetica, poiché offre dei soddisfacenti risultati e una buona stabilità nel tempo riducendo a zero il rischio di rigetto endoteliale.

2. L'estensione della neovascolarizzazione non influisce negativamente sull'esito chirurgico e funzionale della cheratoplastica lamellare

3. Nella nostra casistica la DALK si è dimostrata tecnica efficace rendendo possibile l'ottenimento di buoni risultati visivi e funzionali in tutti i pazienti operati. Quarantadue pazienti (80 %) presentavano un BSCVA di 20/30 o meglio; e 27 (52%) presentavano un 20/20 all'ultima visita di follow-up.

4. L'utilizzo profilattico di terapia antivirale (aciclovir 800 mg tre volte al die per un mese. aciclovir 800 mg due volte al di nel secondo mese. aciclovir 1 cpr al di per il periodo di follow up) è realmente efficace nel prevenire le recidive di cheratite erpetica dopo trapianto corneale.

5. Nel nostro studio abbiamo inoltre valutato la potenziale nefrotossicità di una terapia in cronico con aciclovir e nessuno dei nostri pazienti ha mostrato segni di insufficienza renale nel periodo in studio.

## BIBLIOGRAFIA

1. Kaufman HE, Rayfield MA. Viral conjunctivitis an keratitis, Herpes Simplex virus. The Cornea, Churchill Livingstone. 1988:299-321.
2. Anwar M, Teichmann KD. Deep lamellar keratoplasty. Surgical techniques for anterior lamellar keratoplasty with and without baring of Descemet's membrane. Cornea 2002;21:374-383.
3. Sun B, He Y, Ding X. Full thickness lamellar keratoplasty with viscodelamination of cornea for treatment of bullous keratopathy. Zhonghua Yan Ke Za Zhi. 1995;31(2):142-4.
4. Sugita J, Kondo J. Deep lamellar keratoplasty with complete removal of pathological stroma for vision improvement. Br J of Ophthalmology 1997;81:184-188.
5. Tsubota K, Kaido M, Moden Y, et al. A new surgical technique for deep lamellar keratoplasty with single running suture adjustment. Am F Ophthalmol 1998;126:1-8).
6. Melles GRJ, Remeijer L, Geerards AJM et al. The future of lamellar keratoplasty. Current Opinion in Ophthalmology 1999;10:253-259.
7. Melles GRJ, Lander F, Rietveld FJR et al. A new surgical technique for deep stromal, anterior lamellar keratoplasty. Br J Ophthalmol 1999;83:327-33
8. Melles GRJ, Remeijer L, Geerards AJM et al : A quick surgical technique for deep, anterior lamellar keratoplasty using visco-dissection. Cornea 2000;19:427-32.
9. Anwar M. and K.D. Teichmann, Big-bubble technique to bare Descemet's membrane in anterior lamellar keratoplasty, J Cataract Refract Surg 28 (2002), pp. 398-403.
10. Farid M, Steinert RF. Deep anterior lamellar keratoplasty performed with the femtosecond laser zigzag incision for the treatment of stromal corneal pathology and ectatic disease. J Cataract Refract Surg. 2009;35:809-13
11. Darougar S, Wishart MS, Viswalingam ND. Epidemiological and clinical features of primary herpes simplex virus ocular infection. Br J Ophthalmol 1985; 69:2-
12. Shimomura Y, Ohashi Y, Maeda N, et al. Herpetic keratitis therapy to reduce recurrence. Curr Eye Res 1987;6:105-110
13. Wilhelmus KR, Gee L, Hauck WW, et al. Herpetic Eye Disease Study. A controlled trial of topical corticosteroids for herpes simplex stromal keratitis. Ophthalmology 1994;101:1883-1896.

14. Barron BA, Gee L, Hauck WW, et al. Herpetic Eye Disease Study. A controlled trial of oral acyclovir for herpes simplex stromal keratitis. *Ophthalmology* 1994;101:1871-1882.
15. Porter SM, Patterson A, Kho P. A comparison of local and systemic acyclovir in the management of herpetic disciform keratitis. *Br J Ophthalmol* 1990;74:283-285.
16. Herpetic Eye Disease Study Group. A controlled trial of oral acyclovir for the prevention of stromal keratitis or iritis in patients with herpes simplex virus epithelial keratitis [published correction appears in *Arch Ophthalmol*. 1997;115:1196]. *Arch Ophthalmol*. 1997;115:703-712.
17. Herpetic Eye Disease Study Group. Acyclovir for the prevention of recurrent herpes simplex virus eye disease. *N Engl J Med*. 1998;339:300-306.
18. Thoft RA, Friend J. Biochemical transformation of regenerating ocular surface epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1977; 16 (1): 14-20.
19. Gipson IL. Anatomy of the conjunctiva, cornea, and limbus. In: Smolin G, Thoft RA ed. *The cornea*. Boston: Little, Brown and Company publisher; 1994, terza ed: 3-22.
20. Courville CB et al. Contribution of the ocular surface to visual optics. *Exp Eye Res* 2004; 78: 417–425.
21. Kinoshita S et al. Characteristics of the human ocular surface epithelium. *Progress in Retinal and Eye Research* 2001; 20 (5): 639-673.
22. Robert Montes-Mico R et al. Dynamic changes in the tear film in dry eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005; 46:1615–1619
23. Liesegang TJ. Epidemiology of ocular herpes simplex. Incidence in Rochester, Minn, 1950 through 1982. *Arch Ophthalmol* 1989;107:1160-1165.
24. Liesegang TJ. Herpes simplex virus epidemiology and ocular importance. *Cornea* 2001;20(1):1-13.).
25. Whitley, R. J. (2001). Herpes simplex viruses. In *Fields Virology*, 4th edition, pp. 2461–2509. Edited by D. K. P. Howley. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
26. Holland, E. J. & Schwartz, G. S. (1999). Classification of herpes simplex virus keratitis. *Cornea* 18, 144–154.[CrossRef][Medline]
27. Deshpande, S., Banerjee, K., Biswas, P. S. & Rouse, B. T. (2004). Herpetic eye disease: immunopathogenesis and therapeutic measures. *Expert Rev Mol Med* 2004, 1–14.[Medline]

28. Deshpande, S. P., Zheng, M., Lee, S. & Rouse, B. T. (2002). Mechanisms of pathogenesis in herpetic immunoinflammatory ocular lesions. *Vet Microbiol* 86, 17–26.
29. Streilein, J. W., Dana, M. R. & Ksander, B. R. (1997). Immunity causing blindness: five different paths to herpes stromal keratitis. *Immunol Today* 18, 443–449.
30. Tullio A Pathogenesis and management of herpes simplex virus keratitis.. *Eye*. 2003 Nov;17(8):919-22. Review.
31. Alldredge O. C., Krachmer J. H. Clinical types of corneal transplant rejection. Their manifestations, frequency, preoperative correlates, and treatment. *Arch Ophthalmol* 1981; 99: 599-604.
32. Al-Torbak, Abdullah MD, FRCS; Malak, Mohammad MD et al. Presumed Stromal Graft Rejection After Deep Anterior Lamellar Keratoplasty. *Cornea*. 24(2):241-243, March 2005.
33. Ing JJ, Ing HH, Nelson JR, Hodge DO, Bourne WM. Ten-year postoperative results of penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 1998;105:1855-65.
34. Shimazaki J, Shimmura S, Ishioka M, Tsubota K. Randomized clinical trial of deep lamellar keratoplasty Vs penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 2002;134:159-65.
35. Rajesh Fogla and Prema Padmanabhan MS. Results of Deep Lamellar Keratoplasty Using the Big-bubble Technique in Patients with Keratoconus, *Am Journal of Ophthalmology* 2006; 141 (2): 254-259.
36. Stephanie L Watson , Andrew Ramsay , John K G Dart , Catey Bunce , Ewan Craig. Comparison of deep lamellar keratoplasty and penetrating keratoplasty in patients with keratoconus, *Ophthalmology* 2004; 111(9): 1676-82.
37. Sarnicola V, Toro P, Conti L, Gentile D, Hannush S. B. Descemetic DALK (dDALK) and Predescemetic DALK (pdDALK): Outcomes in 236 cases of keratoconus. Under publication in *Cornea*, July 2008.
38. Rasik B. Vajpayee, Jaideep Tyagi, Namrata Sharma, Navneet Kumar, Vishal Jhanji and Jeewan S. Titiyal. Deep Anterior Lamellar Keratoplasty by Big-Bubble Technique for Treatment Corneal Stromal Opacities, *Am Journal of Ophthalmology*. 2007 Jun;143(6):954-957.)
39. Epstein RJ, Seedor JA, Dreizen NG, et al. Penetrating keratoplasty for herpes simplex keratitis and keratoconus: Allograft rejection and survival. *Ophthalmology*. 1987;94:935-944.
40. Ficker LA, Kirkness CM, Rice NSC, McG Steele AD. Longterm prognosis for corneal grafting in herpes simplex keratitis. *Eye*. 1988; 2:400-408.

41. Lomholt JA, Baggesen K, Ehlers N. Recurrence and rejection rates following corneal transplantation for herpes simplex keratitis. *Acta Ophthalmol Scand* 1995; 73: 29–32.
42. Susan M. Nicholls, Carolyn Shimeld, David L. Easty, and Terry J. Hill%. Recurrent Herpes Simplex After Corneal Transplantation in Rats. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, February 1996, Vol. 37, No. 2, 425-435.
43. Mannis MJ, Plotnik RD, Schwab IR, Newton RD. Herpes simplex dendritic keratitis after keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 1991; 111: 140–484.
44. Biswas S, Suresh P, Bonshek RE, Corbitt G, Tullo AB, Ridgway AEA. Graft failure in human donor corneas due to transmission of herpes simplex virus. *Br J Ophthalmol* 2000; 84: 701–705.
45. Cockerham GC, Krafft AE, McLean IW. Herpes simplex primary in graft failure. *Arch Ophthalmol* 1997; 115: 586–589.
46. De Kessel RJ, Koppen C, Ieven M, Zeyen T. Primary graft failure caused by herpes simplex virus type 1. *Cornea* 2001; 20: 187–190.
47. Remeijer L, Maertzdorf J, Doornebal P, Verjans GMGM, Osterhaus ADME. Herpes simplex virus 1 transmission through corneal transplantation. *Lancet* 2001; 357: 442.
48. Thompson RW Jr, Price MO, Bowers PJ, Price FW Jr. Long-term graft survival after penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 2003; 110: 1396-402.
49. Ficker La, Kirkness CM, Rice NSC, Steele ADMcG. The changing management and improved prognosis for corneal grafting in herpes simplex keratitis. *Ophthalmology* 1989; 96: 1587-96
50. Cohen EJ, Laibson PR, Arentsen JJ. Corneal transplantation for herpes simplex keratitis. *Am J Ophthalmol* 1983; 95: 645-50.
51. Cobo LM, Coster DJ, Rice NSC, Jones BR. Prognosis and management of corneal transplantation for herpetic keratitis. *Arch Ophthalmol* 1980; 98: 1755-9.
52. Barney N, Foster CS. A prospective randomized trial of oral acyclovir after penetrating keratoplasty for herpes simplex keratitis. *Cornea*. 1994;13:232-236.
53. Spruance SL, Stewart JC, Rowe NH, McKeough mB, et al. Treatment of recurrent herpes simplex labialis with oral acyclovir. *J Infect Dis* 1990; 161: 185.
54. Kaplowitz LG, Baker D, Gelb L. Prolonged continuous acyclovir treatment of normal adults with frequently recurring genital herpes simplex virus infection. *JAMA* 1991; 265: 747

55. Hung SO, Patterson A, Rees PJ. Oral acyclovir in the management of dendritic herpetic corneal ulceration. *Br J Ophthalmol* 1984; 68: 398.

## **TABELLE**

Tabella 1.- Miglior acuità visiva non corretta (UCVA) pre e post chirurgica

UCVA	Pre intervento Numero di pazienti	Post intervento Numero di pazienti
20/20	0	0
20/25-20/30	0	8
20/40	0	18
20/50	11	7
20/60	6	6
20/70	19	8
20/80	9	2
20/100 o peggio	8	3

Tabella 2.- Miglior acuità visiva corretta (BCVA) post intervento (follow-up medio:31 mesi).

BCVA	% post intervento
20/20	27 (52%)
20/25	6 (11%)
20/30	9 (17%)
20/40	5 (10%)
20/50	2 (4%)
20/60	2 (4%)
20/70	1 (2%)
20/80	0
20/100	0