



## CROSSLINKING DE COLÁGENO SIN DESEPITELIZACIÓN CORNEAL

M. Fillipello, E. Stagni

### OBJETIVO

El objetivo de este estudio, fue evaluar la eficacia del crosslinking transepitelial (TE-CXL) en pacientes con queratocono progresivo bilateral.

### MÉTODOS

La población del estudio fue de pacientes con historial de queratocono progresivo bilateral. Se trató el peor ojo; el ojo colateral sin tratar sirvió de control. Se realizó el TE-CXL en 6 pasos de irradiación, mediante una fuente láser (CBM X-Linker VEGA®) y la aplicación de Ricrolin TE® (riboflavina al 0,1%, dextrano T500, e intensificadores para facilitar el paso de la solución a través del epitelio corneal) cada 5 minutos durante 2 horas, antes de empapar con Ricrolin TE® el peor ojo.

### RESULTADOS

En los ojos tratados con TE-CXL, se advirtió una mejora gradual en los valores topográficos y aberrométricos, sin haze corneal postoperatorio u otros efectos colaterales. La microscopía confocal demostró que los crosslinks corneales empiezan 5 meses después del tratamiento; todos los índices empeoraron en los ojos de control.

### CONCLUSIÓN

Se encontró que el tratamiento TE-CXL fue eficaz en disminuir la progresión del queratocono, con mejora estadísticamente significativa en los parámetros. Gracias al tratamiento transepitelial y a la ausencia de efectos colaterales, el TE-CXL permite el tratamiento de queratocono en casos de grosores corneales <400 micras; "pacientes complicados < 12 años" (por ej. Síndrome de trisomía 21); pacientes con edades  $\geq$  35 años, o con K media > 55. A diferencia del CXL convencional, el TE-CXL, debido a que salvaguarda el epitelio, asegura la satisfacción del paciente sin dolor o haze, o empeoramiento de la visión. El TE-CXL es un tratamiento innovador que actúa en la tercera parte anterior de la córnea sin efectos colaterales; ya que es sencillo de realizar y puede utilizarse en conjunto con el CXL convencional, que actúa en la tercera parte posterior de la córnea.

Palabras clave: **Colágeno, reagentes de crosslinking, córnea.**

El crosslinking de colágeno corneal (CXL), es un procedimiento quirúrgico que fue desarrollado para disminuir o detener el adelgazamiento corneal progresivo, como ocurre en el queratocono, la degeneración marginal pelúcida (PMD) y la ectasia corneal inducida por Cirugía Refractiva. A finales de los años 90, los primeros estudios aparentemente demostraron que el CXL aumentaba la rigidez estromal en un 300%, incrementando el diámetro de las fibras de colágeno un 12,2%, induciendo la formación de crosslinks en la red de colágeno.<sup>1,3</sup>

El tratamiento implica la exposición del estroma corneal a luz ultravioleta A (UVA) después de saturar el estroma corneal con riboflavina.<sup>4</sup> Pero debido a que la riboflavina hidrosoluble es incapaz de cruzar la barrera epitelial, primeramente es necesario desepitalizar la córnea a una profundidad de, al menos, 8 mm de diámetro, para que la imbibición del estroma sea eficaz.

El periodo postoperatorio prematuro después del CXL con desepitelización, es extremadamente doloroso, al menos tan doloroso como una queratotectomía fotorrefractiva (PRK). En algunos casos, durante los primeros meses después del tratamiento, la repitelización corneal provoca una deterioración aparente de los índices topográficos y la agudeza visual.<sup>6</sup> Los estudios han demostrado que al inicio de aproximadamente 6 meses post-tratamiento, la agudeza visual y los índices topográficos y aberrométricos comienzan a mejorar gradualmente.<sup>7</sup>



Sin embargo, con el uso del CXL transepitelial (TE-CXL) se podría evitar la aparición de un curso postoperatorio doloroso y la deterioración de la visión durante los primeros 2 meses. Adicionalmente, podrían tratarse los pacientes no candidatos al CXL convencional con desepitelización (por ej. con grosor corneal < 400 micras).

Con este estudio prospectivo no aleatorio, queremos determinar la viabilidad de realizar el TE-CXL con el uso de una gota de solución ocular (Ricrolin TE®, Sooft Italia, Montegiorgio [AP], Italia), compuesto de riboflavina al 1%, combinado con intensificadores que podrían facilitar la penetración de la riboflavina dentro del estroma corneal en un epitelio intacto.

También desarrollamos un anillo corneal de silicona que obvia la necesidad de un blefarostato y que suministra la solución fotosensibilizante directamente sobre la córnea intacta durante todo el procedimiento. El intensificador se compone de trometamol y EDTA sódico. El trometamol (tris[hidroximetil]aminometano), es un amino alcohol débilmente tóxico biológicamente inerte, utilizado en una gran variedad de productos, incluyendo cosméticos, como buffer industrial y como componente en medicamentos debido a su acción alcalizante. Aunque se utiliza ampliamente, raramente se ha informado sobre la sensitización al producto; solo en un caso relacionando un gel que contenía trometamol asociado con dermatitis periorbital. Su perfil de seguridad está bien establecido.<sup>9</sup> El EDTA rompe las cadenas de célula a célula, facilitando, por tanto, la penetración de diversas sustancias.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### ***Pacientes***

En este estudio se incluyeron 20 ojos de 20 pacientes (14 hombres y 6 mujeres; rango de edad de 12-42 años; media, 27) con queratocono bilateral progresivo. Se trataron 15 ojos derechos y 5 ojos izquierdos; el ojo colateral sin tratar sirvió de control. Todos los pacientes se presentaron con córnea transparente y no utilizaban lentes de contacto durante al menos 4 semanas antes del tratamiento. Se realizó el CXL sobre el ojo con mayor curvatura y con menor grosor corneal.

Todos los pacientes tenían un grosor corneal medio de 412,9 micras (rango, 380-444) y fueron clasificados como etapa II o III de queratocono, tal como lo define la clasificación Amsler-Krumreich. Se definió la progresión de la enfermedad como un incremento en la queratometría apical del queratocono de, al menos, 1 dioptría (D), medida topográficamente dentro de los últimos 6 meses, o como una reducción en el grosor corneal >2% y un aumento en el astigmatismo corneal central de 1 D en los últimos 6 meses.

Se realizó la evaluación antes del tratamiento (base de referencia) a los 7 días, 15 días, 1 mes, 3, 6 y 9 meses después del tratamiento.

### ***Agudeza Visual***

Se midió la agudeza visual bajo condiciones de miosis natural, mediante proyectores de estudio de retinopatía diabética de tratamiento prematuro (logMAR/ETDRS). Los proyectores de optotipos y el procedimiento, se describen con detalle en Ferris et al.<sup>10,11</sup> La agudeza visual sin corregir (UCVA) y la agudeza visual mejor corregida (BCVA) fueron medidas en las visitas de referencia y en la de control, en ambos ojos y a una distancia de 4 metros.

### ***Tests de Diagnóstico***

Se evaluó la córnea en ambos ojos mediante examen con lámpara de hendidura, paquimetría de ultrasonido y óptica, topografía y aberrometría corneal (topógrafo Optikon, software Keratron Scout versión 4,2, produttrice, città).



La progresión del queratocono en el ojo tratado con CXL y el ojo colateral sin tratar, fue supervisada utilizando un mapa topográfico axial, de curvatura y refractivo, y fue evaluado utilizando la localización del cono generada con software e índices de magnitud (CMLI).<sup>12</sup>

Se realizó el análisis aberrométrico de la superficie corneal utilizando un mapa refractivo, de donde se calcularon las aberraciones comáticas, aberraciones esféricas, raíz cuadrada media (RMS) y refracción corneal. Todos los test pre u postoperatorios CXL topográficos y aberrométricos, se realizaron en un diámetro de pupila simulado de 8 mm.

Se realizó la paquimetría utilizando un paquímetro de ultrasonido (biómetro Mizar, Optikon 2000, Roma, Italia) y un tomógrafo de coherencia óptica (OCT) de la córnea (Sistema Spectral SLO™, OPKO, Miami, FL. EE.UU.). El módulo corneal del sistema OCT-SKO fue útil para estudiar las variaciones y el perfil corneal.

Se realizó el conteo de las células endoteliales en la referencia y a los 9 meses de seguimiento, utilizando un microscopio endotelial (CSO, Florencia, Italia).

El estudio se condujo de acuerdo con los principios éticos establecidos en la Declaración de Helsinki 2000. Todos los pacientes emitieron su consentimiento informado para el tratamiento.

### **Crosslinking**

Para facilitar el CXL y mejorar la penetración del producto, se desarrolló un anillo corneal de silicona (12 mm de diámetro, 3 mm de altura; pestaña base de 2 mm de amplitud, 0,3 mm de grosor). Cuando se aplica la pestaña sobre el borde del párpado, estabiliza el dispositivo sobre la córnea, obviando, por tanto, la necesidad de un blefarostato. El dispositivo es elástico y lo suficientemente rígido para resistir la presión del párpado, permitiendo, al mismo tiempo, el movimiento de la pestaña. El borde externo del anillo corneal y la pestaña base, protegen el limbo de la córnea de la irradiación UV inadvertida, protegiendo, por tanto, las células madre del limbo (**Figuras 1, 2**). La fuente de luz UVA consistió en un emisor con un solo LED para el tratamiento de queratocono (UV-A Vega, CSO, Florencia).



**Figura 1.-** Anillo Corneal de Silicona



**Figura 2.-** Anillo Corneal posicionado sobre la córnea y mantenido en su sitio mediante la pestaña del anillo (flecha), insertado bajo el borde del párpado

### **Técnica Quirúrgica**

3 días antes de la cirugía se administró norfloxacin (Naflox, Farmigea, Pisa, Italia) en una dosis de 1 gota, cuatro veces al día. Se aplicó Ricrolin TE® (1 gota cada 10 minutos) 2 horas antes del tratamiento. 20 minutos antes del inicio del tratamiento, se anestesió la córnea utilizando un lavajoso anestésico (clorhidrato de oxibuprocaina) al 0,2% en una dosis de 1 gota cada 5 minutos, 4 veces. Para reducir el riesgo de exposición UV en las estructuras oculares detrás



del iris, se indujo miosis serata con pilocarpina al 1% (Allergan, Roma, Italia) 30 minutos antes del tratamiento.

Se encendió el emisor de luz UVA 2 horas antes de iniciar el tratamiento. Se realizaron todos los tratamientos a una potencia de  $2.9-3 \text{ mW/cm}^2$ , según la medición del medidor de UV incorporado a la máquina. Se irradió la córnea en un punto de 8 mm de diámetro.

Se realizó el tratamiento en una clínica ocular. Se sentó al paciente en una silla reclinable y se desinfectó la piel periocular con iodopovidona al 10% (solución oftálmica de betadine, Med Pharma, Milán, Italia). No se utilizaron paños quirúrgicos.

Se colocó el anillo corneal sobre la córnea, se mantuvo en su sitio mediante presión del párpado sobre la pestaña base y se llenó con 2 gotas de Ricrolin TE® directamente en contacto con el epitelio corneal, hasta cubrir todo el ápice corneal. Si el parpadeo del ojo causaba el derrame del producto, éste se volvía a administrar para asegurar que el epitelio corneal estuviese cubierto uniformemente con riboflavina.

Para asegurar una buena saturación del estroma corneal a través de la córnea intacta, se dejó el anillo corneal en contacto directo con la córnea durante 15 minutos.

Después de estas preparaciones, se realizó el CXL con irradiación durante 30 minutos, de acuerdo con el protocolo del tratamiento diseñado por el Prof. Caporossi et al.<sup>13</sup> Durante la irradiación, se mantuvo uniforme el nivel de Ricrolin TE®, añadiendo una gota cada 3-5 minutos en promedio (**Figuras 1-3**). Se aplicó un vendaje adhesivo estéril simple a lo largo del ojo, para absorber el Ricrolin TE® que se derramaba durante el tratamiento.

Al final del procedimiento, se extrajo el dispositivo de silicona y se irrigó el ojo con BSS para aclarar cualquier residuo de Ricrolin TE®.

Después se trató el ojo con 1 gota de norfloxacin (Ácido de hialuronato al 0,15% más aminoácidos [BLUyal A, Sooft Italia, Montegiorgio [AP], Italia]). El paciente solo percibía una sensación de cuerpo extraño media, que se curaba fácilmente con gotas oculares.



**Figura 3.-** Tratamiento con Ricrolin TE®

Se realizó la evaluación mediante examen con lámpara de hendidura para evaluar la integridad epitelial (**Figuras 4, 5**) y se prescribió al paciente una terapia de norfloxacin (1 gota/ 3 veces diarias), hialuronato sódico al 0,15% más aminoácidos (1 gota 3 veces al día, durante 20 días) y un spray basado en liposomas con vitaminas A y C (spray Lacrisek, Bioos Italia, Montegiorgio [AP], Italia), 1 aplicación con los ojos cerrados 3 veces al día, durante 20 días.



**Figura 4.-** Epitelio corneal al completarse el tratamiento. Advierta las ligeras fisuras epiteliales sin signos de abrasión corneal



**Figura 5.-** El mismo paciente en el 2º día postoperatorio. Advierta el epitelio perfectamente transparente y la completa ausencia de daño corneal

### **Análisis Estadístico**

Se realizó el análisis estadístico utilizando el paquete de software Statistica, version 8 (Statsoft Inc, Tulsa, OK, EE.UU). Se analizaron los datos como la desviación media y estándar en los ojos tratados y no tratados. Se estableció la significancia estadística en  $P < 0,05$ .

## **RESULTADOS**

### **Agudeza Visual**

La **Tabla 1** informa los valores pre y post-tratamiento para la agudeza visual, hasta el seguimiento a los 9 meses (incluido). Los valores postoperatorios de la UCVA y la BCVA comenzaron a mejorar desde el post-tratamiento a 1 mes, hasta el mes 6. La BCVA continuó mejorando hasta los 9 meses. En el ojo no tratado, se observó una deterioración progresiva tanto en la UCVA como en la BCVA, especialmente después de 6º mes, que marcó un signo en la progresión de la enfermedad. Aparentemente, la UCVA empeoró significativamente menos que la BCVA ( $P < 0,05$ ).

TABLE I.— *Uncorrected visual acuity and best-corrected visual acuity.*

	Pre CXL		1 month		3 months		6 months		9 months	
	CXL	Controls	CXL	Controls	CXL	Controls	CXL	Controls	CXL	Controls
UCVA	0.71±0.12	0.84±0.23	0.49±0.12	0.81±0.18	0.40±0.15	0.80±0.09	0.36±0.19	0.85±0.10	0.36±0.07	0.88±0.13
BCVA	0.35±0.23	0.46±0.21	0.26±0.10	0.48±0.29	0.22±0.08	0.50±0.06	0.18±0.16	0.62±0.08	0.16±0.10	0.66±0.11

PRE CXL denotes visual acuity before TE CXL treatment; UCVA uncorrected visual acuity; BCVA best-corrected visual acuity; LogMar logarithm of minimum angle of resolution;  $P > 0,05$ .



La **Tabla II** informa los datos queratométricos a 3 mm, medidos con topografía (queratometría simulada) en la base de referencia y a los meses 1, 3 y 6 postoperatorios. También se informa la queratometría simulada (simKS, simKF) y el astigmatismo corneal (sim k cyl). Los datos fueron calculados mediante el topógrafo en un área central de 3 mm.

TABLE II.—*Changes in central keratometric values (3 mm).*

	Pre CXL		1 month		3 months		6 months		9 months	
	CXL	Controls	CXL	Controls	CXL	Controls	CXL	Controls	CXL	Controls
Sim kS	51,02±1.10	51,12±1.02	49,05±0.92	51,10±1.04	48,65±0.89	51,42±0.96	47,82±0.78	51,40±0.92	47,85±0.71	51,32±1.13
Sim kF	45,13±0.97	46,12±0.99	44,46±1.03	46,12±0.65	44,13±0.89	46,52±0.91	44,57±1,11	46,74±0.71	47,85±0.84	46,23±0.50

SimkS denotes steeper meridian keratometry; SimkF flatter meridian keratometry; Sim cyl corneal cylinder (K1 – K2); P<0.05.

La **Tabla III** informa los cambios en la queratometría apical del queratocono (KcAK) y los datos CMLI generados por el software para el estudio de la progresión de queratocono.

TABLE III.—*Keratoconus apical keratometry (KcAK) and CLMI (Ma, Mc).*

	Pre CXL		1 month		3 months		6 months		9 months	
	CXL	Controls	CXL	Controls	CXL	Controls	CXL	Controls	CXL	Controls
Kcak	59,12±1.10	58,89±2.02	58,01±0.92	58,92±2.34	57,42±0.89	59,43±1.87	57,31±0.78	59,86±2.45	57,56±1.21	60,06±1.13
Mc	56,46±0.97	56,31±1.93	55,73±1.41	56,29±2.18	55,52±0.89	57,02±0.91	55,49±1,11	57,59±2.02	55,51±1.23	58,18±0.93
Ma	23,89±0.75	21,91±2.05	20,07±2.42	21,98±1.67*	20,09±2.50	23,06±1.4	20,01±2.02	23,21±0.67	20,12±1.22	23,81±0.88

KcAK denotes keratoconus apical keratometry; CLMI cone location and magnitude indices; Ma axial magnitude; Mc apical magnitude; P<0.05, \*P>0.05.

La **Tabla IV** informa los cambios en la aberración corneal. La raíz cuadrada media (RMS), junto con las aberraciones corneal y esférica, mejoraron gradualmente a partir del mes 1 y hasta el 6º mes. En los ojos sin tratar, los valores aberrométricos continuaron deteriorándose durante todo el período de seguimiento.

TABLE IV.—*Changes in corneal aberrations, RMS, comatic and spherical aberrations.*

	Pre CXL		1 month		3 months		6 months		9 months	
	CXL	Controls	CXL	Controls	CXL	Controls	CXL	Controls	CXL	Controls
Rms	4,68±0.27	4,43±0.75	4,21±0.66	4,12±0.83	3,75±0.59	4,39±1.47	3,01±0.38	4,56±2.45	3,21±0.45	4,71±1.02
Coma	2,21±0.97	2,28±1.93	2,19±1.04	2,10±1.74	1,72±0.32	2,23±1.05	1,65±1.01	2,41±1.88	1,59±1.23	2,39±0.93
S.A.	0,98±0.15	1,12±0.52	0,77±0.42	1,08±0.67	0,45±0.59	1,26±0.72	0,45±0.39	1,26±0.47	0,35±0.64	1,31±0.98

RMS denotes root mean square; SA spherical aberration; P<0.05.

### OCT Corneal

La comparación de los valores de OCT corneales antes y después del tratamiento, mostraron un engrosamiento lineal del estroma de aproximadamente 100 micras desde el epitelio corneal (**Figura 6**).

Esta alteración en la estructura corneal después del tratamiento TE-CXL, fue visible en aproximadamente 1 mes post-tratamiento. El engrosamiento se observó justo debajo de la membrana de Bowman (**Figura 7**).



Figura 6.- Imagen OCT SLO de la córnea después del tratamiento



Figura 7.- Imagen OCT SLO de la córnea después del tratamiento

### ***Paquimetría***

El grosor corneal de referencia medio mínimo del ojo tratado, fue de  $412,9 \pm 21,5$  mm y de  $423,3 \pm 12,2$  mm en el ojo sin tratar. Al final del seguimiento, el grosor corneal mínimo fue de  $410,3 \pm 15,3$  mm en el ojo tratado y de  $409 \pm 16,5$  mm en el ojo sin tratar. La diferencia no fue estadísticamente significativa ( $P < 0,5$ ).

### ***Conteo de Células Endoteliales***

El conteo de células endoteliales de referencia medio fue de  $2427 \pm 236,4$  células/mm<sup>2</sup> en el peor ojo y de  $2523 \pm 198,2$  células/mm<sup>2</sup> en el ojo lateral; la diferencia no fue estadísticamente significativa ( $P < 0,5$ ).

### ***Transparencia Corneal***

La córnea permaneció perfectamente transparente durante todo el período de seguimiento; no se mostraron signos de haze o sub-edema típico post-tratamiento, después de la desepitelización.

### ***Efectos Secundarios Postoperatorios***

En las primeras 24 horas post-tratamiento, 8 paciente informaron de hiperemia conjuntival y de sensación de cuerpo extraño, que se resolvió con gotas de lágrimas artificiales. De estos 8 pacientes, otros 2 también experimentaron una ligera fotofobia, que se resolvió espontáneamente 4 días después.

### ***Complicaciones Postoperatorias***

No se observaron complicaciones relacionadas con el tratamiento durante todo el período de seguimiento.



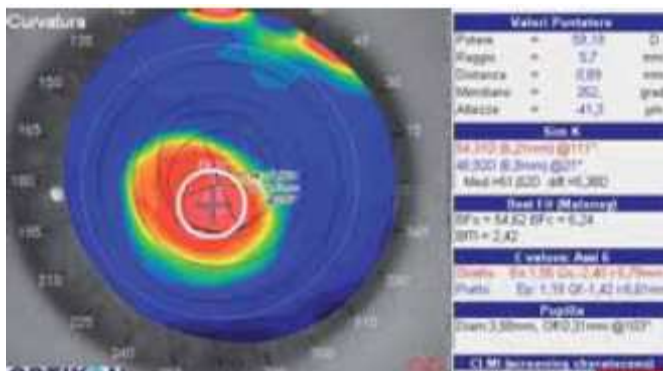
## CONCLUSIONES

Dentro de las limitaciones de una pequeña muestra de pacientes, se puede afirmar que el TE-CXL con Ricrolin TE®, demostró eficacia en la disminución de la progresión del queratocono en el mediano plazo. No ocurrieron efectos secundarios durante la intervención, o en el período de seguimiento.

El tratamiento sin desepitelización y con el uso de un anillo corneal de silicona, fue extremadamente simple de realizar, ofreciendo distintas ventajas tanto para el paciente, como para el cirujano, tales como:

- El cross-linking con Ricrolin TE® no precisa de sala de operaciones.
- Se pueden tratar los casos de queratocono con un grosor corneal mínimo de 380 micras, e incluso menor. Se mantiene la agudeza visual preoperatoria. Pueden tratarse pacientes menores a 10 años.
- No hay dolor durante el período postoperatorio. No existen complicaciones relacionadas con la desepitelización.
- El anillo corneal de silicona obvia la necesidad de un blefarostato y mejora la comodidad del paciente con un parpadeo mínimo.
- El anillo corneal mantiene el Ricrolin TE® e incrementa el tiempo de contacto con el epitelio corneal. El anillo corneal protege el limbo corneal y las células madre contra la exposición de la radiación UVA.
- Conformidad óptima del paciente. El tratamiento con epitelio intacto evita el dolor postoperatorio debido a la repitelización.

Nuestros pacientes fueron capaces de volver al trabajo o a la escuela el mismo día, varias horas después del procedimiento. El análisis de los resultados a un mes de seguimiento, mostró una mejora en los índices topográficos, que fue estadísticamente significativa con respecto a los ojos de control. La mejora continuó de los 3 a los 6 meses. Se observó una reducción en la queratometría apical del queratocono (KcAK) y una mejora general en los otros índices topográficos, particularmente en los índices CMLI (**Figuras 8 y 9**).



**Figura 8.**- Topografía corneal antes del tratamiento TE-CXL







---

## REFERENCIAS

1. Spoerl E, Huhle M, Seiler T. Induction of cross-links in corneal tissue. *Exp Eye Res* 1998;66:97-103.
2. Spörl E, Huhle M, Kasper M, Seiler T. Increased rigidity of the cornea caused by intrastromal cross-linking. *Ophthalmologe* 1997;94:902-6.
3. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Stress-strain measurements of human and porcine corneas after riboflavin-ultraviolet-A induced cross-linking. *J Cataract Refract Surg* 2003;29:1780-5.
4. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-A induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol* 2003;135:620-7.
5. Baiocchi S, Mazzotta C, Cerretani D, Caporossi T, Caporossi A. Corneal crosslinking: riboflavin concentration in corneal stroma exposed with and without epithelium. *J Cataract Refract Surg* 2009;35:893-9.
6. Mazzotta C, Balestrazzi A, Baiocchi S, Traversi C, Caporossi A. Stromal haze after combined riboflavin-UVA corneal collagen cross-linking in keratoconus: in vivo confocal microscopic evaluation. *Clin Experiment Ophthalmol* 2007;35:580-2.
7. Vinciguerra P, Albè E, Trazza S, Rosetta P, Vinciguerra R, Seiler T *et al.* Refractive, topographic, tomographic, and aberrometric analysis of keratoconic eyes undergoing corneal cross-linking. *Ophthalmology* 2009;116: 369-78.
8. Caporossi A, Baiocchi S, Mazzotta C, Traversi C, Caporossi T. Parasurgical therapy for keratoconus by riboflavin-ultraviolet type A induced cross-linking of corneal collagen: preliminary refractive results in an Italian study. *J Cataract Refract Surg* 2006;32:837-45.
9. Nahas G G, Sutin K M, Fermon C, Streat S, Wiklund L, Wahlander S *et al.* Guidelines for the treatment of acidaemia with THAM. *Drugs* 1998;55:191-224.
10. Bailey I, Lovie J. New design principles for visual acuity letter charts. *Am J Optom Physiol Opt* 1976;53:740-5.
11. Ferris FL III, Kassoff A, Bresnick GH, Bailey I. New visual acuity charts for clinical research. *Am J Ophthalmol* 1982;94:91-6.
12. Mahmoud AM, Roberts CJ, Lembach RG, Twa MD, Herderick EE, McMahon TT. CLMI: the cone location and magnitude index. *CLEK Study Group. Cornea* 2008;27:480-7.
13. Mazzotta C, Traversi C, Baiocchi S, Sergio P, Caporossi T, Caporossi A. Conservative treatment of keratoconus by riboflavin-uva-induced cross-linking of corneal collagen: qualitative investigation. *Eur J Ophthalmol* 2006;16:530-5.