**PROTOCOLO DE CROSSLINKING CORNEAL**

1. **FINALIDAD**

Ofrecer, describir y estandarizar en base a la evidencia científica de actualidad, los pasos para realizar el crosslinking corneal.

1. **OBJETIVO**

Estandarizar el procedimiento de crosslinking corneal, estableciendo los pasos detallados, basados en referencias científicas actuales.

1. **ÁMBITO DE APLICACIÓN**

El presente protocolo está dirigido al personal asistencial del Instituto Regional de Oftalmología.

1. **RESPONSABILIDAD**

Será responsabilidad del Departamento Enfermedades Externas y Córnea, el controlar y verificar que el procedimiento se realice según el protocolo establecido.

1. **PROCEDIMIENTO**
   1. **NOMBRE Y CÓDIGO**

Crosslinking corneal

**Lista de abreviaturas**

* CXL: crosslinking
* UVA: ultravioleta A
* EPI OFF: sin epitelio
* EPI ON: con epitelio
* FDA: Food and drug administration
* NE/GR: Nivel de evidencia y grado de recomendación

1. **CONSIDERACIONES GENERALES** 
   1. **DEFINICIÓN**

Procedimiento que consiste en la aplicación de una sustancia fotosensible (riboflavina 0.1%), a ser estimulada por luz ultravioleta tipo A, para generar una reacción de foto-polimerización secundaria a la foto-oxidación y liberación de oxígeno y radicales libres, que generan la formación de nuevos enlaces covalentes en las fibras de colágeno estromal, incrementando la rigidez del tejido corneal, lo que conlleva a cambios en su comportamiento biomecánico y bioelástico.1

* 1. **FUNDAMENTO1-4**

Consiste en la aplicación de una sustancia fotosensibilizadora (riboflavina 0.1% con o sin dextrán al 20%) sobre la córnea desepitelizada para favorecer su penetración, que al ser estimulada por luz ultravioleta tipo A, genera una reacción de foto-polimerización debido a la foto-oxidación y liberación de oxígeno y radicales libres, que generan la formación de nuevos enlaces covalentes en las fibras de colágeno estromal, incrementando la rigidez del tejido corneal, lo que conlleva a cambios en su comportamiento biomecánico y bioelástico.

El CXL afecta dos aspectos de la córnea: la curvatura y el grosor, ya que las fibras de colágeno se unen entre sí y se encogen, dando como resultado un desplazamiento del cono, usualmente hacia la zona central de la córnea, tornándose más regular. También se ha demostrado incremento en el diámetro de las fibras de colágeno, al igual que lo ocurrido en la diabetes mellitus y el envejecimiento corneal, y una mayor resistencia a la digestión causada por las pepsinas, presentes en el queratocono. Los cambios apreciados con el CXL son significativos en los 2/3 anteriores del estroma, hasta donde alcanza el efecto de la radiación UVA del CXL, delimitado por la línea de demarcación visible 10 a 14 días después del CLX (marca hiperreflectiva vista por OCT de segmento anterior).

**Protocolo Estándar**:

También conocido como protocolo tradicional o Dresden, consiste en la remoción del epitelio corneal (8 a 9mm centrales) para favorecer la penetración de la riboflavina isotónica 0.1% más dextrán al 20%, que será instilada con una frecuencia de 1 gota cada 2 minutos durante 30 minutos, y la posterior irradiación con luz UVA 3 mW/cm2 (5.4 J/cm2) durante 30 minutos.5 Se podrá efectuar la irradiación con luz UVA solo si la córnea desepitelizada cuenta con un grosor mayor a 400um, caso contrario, se deberá instilar una gota de riboflavina hipotónica 0.1% cada 15 segundos hasta alcanzar el grosor mínimo de 400um. Durante la radiación se deberá seguir instilando la riboflavina isotónica cada 2 minutos.6

Este procedimiento ha mostrado ser seguro, pues la irradiación UVA que alcanza el endotelio es de 0.15 mW/cm2 (0.27 J/cm2), siendo tóxica para esta estructura una irradiación de 0.65J/cm2 y cataratogénica ante valores de 70J/cm2, siempre y cuando se realice ante un grosor corneal sin epitelio mínimo de 400um, en el punto más fino.7,8

**Protocolo Acelerado (10min):**

Este protocolo deriva de la ley de Bunson-Roscoe, que establece que el efecto fotoquímico de la luz ultravioleta es proporcional a la cantidad total de energía suministrada, independientemente del tiempo de irradiación relativo y de la intensidad para cada protocolo9:

**The Bunson–Roscoe law: 1 joule (J) = 1 watt (W) × second (s)**

3-minute at 30 mW/cm2 (180 s × 0.03 W = 5.4 J)

10 minutes a 9.0 mW/cm2 (600 s × 0.009 W = 5.4 J)

De tal forma que se sustenta la realización de un procedimiento usando mayor energía en un menor tiempo de irradiación, alcanzando la misma potencia de irradiación. Estudios previos ha mostrado similar efectividad y seguridad de los protocolos acelerados comparados con el protocolo tradicional en la estabilización del queratocono a 1 año de seguimiento (resultados visuales, refractivos y tomográficos)6, 9-14

Actualmente en los protocolos acelerados está indicado el uso de riboflavina con hidroxi-propil-metilcelulosa, ya que reduce la deshidratación estromal durante el procedimiento.15,16 Se describe el uso de solución de riboflavina hipo-osmolar para incrementar el grosor hasta valores superiores a 400µm, para luego realizar el crosslinking convencional. Esto ha demostrado ser útil en córneas de hasta 320um de espesor sin epitelio, requiriendo la medición paquimétrica intraoperatoria para confirmar el grosor corneal adecuado previo al inicio de la irradiación.17,18

Los 3 a 4 primeros meses luego del crosslinking se observa un incremento en las lecturas queratométricas, así como en el componente esférico negativo del defecto refractivo de hasta 2.50 D; y un adelgazamiento del grosor corneal de 30 a 50µm por deshidratación de las fibras luego de la exposición intensa a la luz UVA, proceso de compactación de las lamelas estromales y remodelación epitelial.19 Estudios de microscopía confocal han demostrado cambios microestructurales tras el crosslinking en queratocono, mostrando ausencia de queratocitos al mes del procedimiento, y edema estromal anterior, citoplasmas hiperreflectivos y lagunas extracelulares con apariencia de panal de abejas, que persisten a los 3 meses, cambios más evidentes con los protocolos acelerados.20, 21 Estos cambios son temporales, mostrando posteriormente una reducción de las lecturas de Kmáx y un retorno al grosor corneal previo, al año del procedimiento.6

**Protocolo Epi On o CXL transepitelial:**

Indicado para CXL en córneas finas y con mayor confort asociado a menor dolor postoperatorio, se caracteriza por una menor penetración de riboﬂavina en el estroma corneal por la presencia del epitelio intacto, lo cual reduciría su efectividad, esto demostrado mediante estudios de tomografía corneal que muestran una línea de demarcación más superficial (100µm debajo del epitelio) en comparación con los tratamientos sin epitelio, denominados epi off (320-340µm).22,23 Se emplean soluciones de riboflavina asociadas a agentes epitelio tóxicos que favorecen la penetración epitelial como el cloruro de benzalconio.

* 1. **INDICACION2,6**
* Queratocono con progresión documentada mediante tomografía corneal:
* Incremento en la K máx mayor o igual a 1D, en el lapso de un año de seguimiento.
* Adelgazamiento corneal mayor o igual al 5% del grosor más fino en un año de seguimiento.
* Incremento en el cilindro mayor a 1D o en el equivalente esférico mayor a 0.5D, en un lapso de al menos 6 meses de seguimiento.
* Degeneración marginal pelúcida severa
* Ectasias secundarias a cirugía refractiva
* Deformaciones corneales después de queratotomías radiales

Está indicado en algunos casos de formas frustas de queratocono que serán sometidos a queratectomía fotorefractiva, algunas queratitis infecciosas bacterianas o micóticas, o como manejo del dolor en la queratopatía bullosa.

* 1. **CONTRAINDICACIONES2**
* Grosor corneal sin epitelio menor a 320 micras en el punto más fino, determinada por tomografía córneal.
* Densidad corneal endotelial central menor a 2000cel/mm2, determinada por microscopía especular.
* Queratocono con Kmáx superior a 60D (relativo)
* Gestación o lactancia
* Defectos corneales persistentes
* Antecedente de queratitis viral herpética (relativo)
* Antecedente de colagenopatías sistémicas y compromiso corneal asociado
* Cicatrices corneales
  1. **RECURSOS:** 
     1. **Personal**
* Médico, médico residente, personal de enfermería
  + 1. **Equipo:**
* KXL, Avedro (Inc., Waltham, Massachusetts, MA, USA)
* Microscopio quirúrgico
  + 1. **Insumos**
* Solución de proparacaína para uso tópico
* Microesponjas
* Guantes estériles
* Jeringa de 10cc
* Solución salina balanceada
* Lente contacto terapeútico
* Solución de riboflavina:
* Para CXL epi off: solución de riboflavina monofosfato 0.1%/ HPMC (VibeX Rapid, Avedro) - Solución hipo osmolar de riboflavina 0.1% libre de dextrán.
* Para CXL epi on: solución de riboflavina monofosfato 0.25%/ HPMC/ Cloruro benzalconio (Paracel 1) y riboflavina monofosfato 0.25%/ solución salina (Paracel 2)

**5.5.4 Instrumental:**

* Espátula de borde romo
* Blefaróstato
* Trepano marcador de 8, 8.5 o 9mm
* Vaso estéril
* Cánula de irrigación

**5.5.5. Ambiente**

* Sala de operaciones

1. **CONSIDERACIONES ESPECÍFICAS**
   1. **DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO (NE III-A)**
      1. **Actividades de Valoración**.

* Contar con tomografía corneal pentacam y microscopía especular actualizadas,
* Corroborar ojo a ser intervenido y realizar el marcado preoperatorio del mismo.
* Colocar Ketorolaco 60mg – 1ampolla IM 30 minutos antes del procedimiento. En caso de alergia a los aines, indicar paracetamol oral 500mg.
* Administrar Clonazepan o alprazolam de 0.5mg VO 1 hora antes del procedimiento.
* Asepsia y antisepsia de zona operatoria
  + 1. **Ejecución:**

**Crosslinking Acelerado6 (9Mw/cm en 10min):**

* Se instilará anestésico tópico y se colocará el blefaróstato
* Se realizará el marcado de los 8 a 9mm centrales corneales con el trépano
* Se procederá a desepitelizar dicha zona con una espátula de borde romo
* Se iniciará la instilación de una gota de riboflavina 0.1%/ HPMC cada 2 minutos durante 10 minutos.
* Se lavará la córnea con solución salina balanceada y se procederá a iniciar la irradiación con luz UVA (9mW/cm - sistema Avedro) durante 10 minutos, mientras los cuales se continuará instilando una gota de riboflavina cada 2 minutos
* Culminada la irradiación, se colocará anestésico tópico y se procederá a lavar la superficie ocular con al menos 30ml de solución salina balanceada.
* Se colocará antibiótico tópico (moxifloxacino) y lente de contacto blando.

En caso de córneas delgadas, menores de 400um sin epitelio, pero mayores a 320um, se deberá previamente aplicar una solución de riboflavina hipo osmolar libre de dextran, 1 gota cada 2 minutos durante 20 minutos, e ir realizando la medición paquimétrica. Una vez alcanzado el grosor de 400um, proceder con el protocolo acelerado.

**Crosslinking Transepitelial23:**

* Se instilará anestésico tópico y se colocará el blefaróstato
* Se iniciará la instilación de una gota de solución de riboflavina 0.25% con HPMC y cloruro de benzalconio cada 90 minutos por 4 minutos, tras lo cual se aplicará una gota de solución de riboflavina 0.25% en solución salina cada 90 segundos por 6 minutos.
* Se procederá a iniciar la irradiación con luz UVA (9mW/cm - sistema Avedro) durante 10 minutos, mientras los cuales se continuará instilando una gota de riboflavina 0.25% en solución salina cada 2 minutos
* Culminada la irradiación, se colocará anestésico tópico y se procederá a lavar la superficie ocular con al menos 30ml de solución salina balanceada.
* Se colocará antibiótico tópico (moxifloxacino).

Existe la opción con el equipo de KXL de Avedro de ejecutar un crosslinking acelerado con irradiación UVA durante 3minutos (30Mw/CM)

* + 1. **Precauciones**
* Corroborar la paquimetría con grosor superior a 320um sin epitelio.
* Contar con paquímetro en sala para tomas intraoperatorias ante córneas finas.
  1. **INDICACIONES POSTERIORES AL PROCEDIMIENTO**
* Colocación de compresas heladas sobre párpados.
* Moxifloxacino 0.5%: 1 gota cada 4 horas
* Prednisolona 1%: 1 gota cada 4h
* Hialuronato de sodio: 1 gota cada 3h
* Ketorolaco 10mg VO o paracetamol 1g condicional a dolor
  1. **EFECTOS ADVERSOS O COLATERALES DEL PROCEDIMIENTO**
* Reactivación de una queratitis viral en caso de paciente portador.
  1. **SIGNOS DE ALARMA POSTERIORES AL PROCEDIMIENTO**

- Persistencia de ojo rojo y dolor

- Disminución marcada de agudeza visual

- Secreción mucopurulenta

- Infiltrado en córnea

* 1. **COMPLICACIONES10**
* Infiltrados corneales estériles
* Queratitis infecciosa
* Cicatrización corneal (haze)
* Defecto epitelial persistente
* Edema corneal persistente por daño endotelial
* Atrofia de iris y dispersión pigmentaria

1. **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**
2. Seiler T, Spörl E, Huhle M, Kamouna A. Conservative therapy of keratoconus by enhancement of collagen cross-links. Association for Research in Vision and Ophthalmology 1996 annual meeting. Fort Lauderdale, Florida, April 21–26, 1996. Abstracts. Invest Ophthalmol Vis Sci 1996 Feb 15;37(3):S1-1154
3. Sinjab M. *Quick Guide to the Management of Keratoconus*.; 2012. doi: 10.1007/978-3-642-21840-8
4. Wollensak G, Wilsch M, Spoerl E, Seiler T. Collagen fiber diameter in the rabbit cornea after collagen crosslinking by riboflavin/UVA. Cornea. 2004 Jul;23(5):503-7. doi: 10.1097/01.ico.0000105827.85025.7f. PMID: 15220736.
5. Spoerl E, Wollensak G, Seiler T. Increased resistance of crosslinked cornea against enzymatic digestion. Curr Eye Res. 2004 Jul;29(1):35-40. doi: 10.1080/02713680490513182. PMID: 15370365.
6. Hayes S, O’Brart DP, Lamdin LS, Doutch J, Samaras K, Marshall J, Meek KM. Effect of complete epithelial debridement before riboflavin-ultraviolet—a corneal collagen cross-linking therapy. J Cataract Refract Surg 2008 Apr;34(4):657-661.
7. Woo JH, Iyer JV, Lim L, Hla MH, Mehta JS, Chan CM, Tan DT. Conventional Versus Accelerated Collagen Cross-Linking for Keratoconus: A Comparison of Visual, Refractive, Topographic and Biomechanical Outcomes. Open Ophthalmol J. 2017 Aug 29;11:262-272. doi: 10.2174/1874364101711010262. PMID: 29081866; PMCID: PMC5633701
8. Michael R. Development and repair of cataract induced by ultraviolet radiation. Ophthalmic Res 2000;32(S1):1–44.
9. Wollensak G, Spoerl E, Wilsch M, Seiler T. Endothelial cell damage after riboflavin-ultraviolet-A treatment in the rabbit. J Cataract Refract Surg. 2003 Sep;29(9):1786-90. doi: 10.1016/s0886-3350(03)00343-2. PMID: 14522302.
10. Hammer A, Richoz O, Arba Mosquera S, Tabibian D, Hoogewoud F, Hafezi F. Corneal biomechanical properties at different corneal crosslinking (CXL) irradiances. Invest Ophthalmol Vis Sci 2014; 55(5): 2881-4. [http://dx.doi.org/10.1167/iovs.13-13748]

[PMID: 24677109]

1. Cinar Y, Cingü AK, Türkcü FM, *et al.* Comparison of accelerated and conventional corneal collagen cross-linking for progressive keratoconus. Cutan Ocul Toxicol 2014; 33(3): 218-22. [http://dx.doi.org/10.3109/15569527.2013.834497] [PMID: 24147938]
2. Shetty R, Pahuja NK, Nuijts RM, *et al.* Current protocols of corneal collagen cross-linking: Visual, refractive, and tomographic outcomes. Am J Ophthalmol 2015; 160(2): 243-9. [http://dx.doi.org/10.1016/j.ajo.2015.05.019] [PMID: 26008626]
3. Ng AL, Chan TC, Cheng AC. Conventional versus accelerated corneal collagen cross-linking in the treatment of keratoconus. Clin Experiment Ophthalmol 2016; 44(1): 8-14. [http://dx.doi.org/10.1111/ceo.12571] [PMID: 26140309]
4. Tomita M, Mita M, Huseynova T. Accelerated versus conventional corneal collagen crosslinking. J Cataract Refract Surg 2014; 40(6): 1013-20. [http://dx.doi.org/10.1016/j.jcrs.2013.12.012] [PMID: 24857442]
5. Brittingham S, Tappeiner C, Frueh BE. Corneal cross-linking in keratoconus using the standard and rapid treatment protocol: differences in demarcation line and 12-month outcomes. Invest Ophthalmol Vis Sci 2014; 55(12): 8371-6. [http://dx.doi.org/10.1167/iovs.14-15444] [PMID: 25468892]
6. Alió JL, Vega-Estrada A, Sanz-Díez P, Peña-García P, Durán-García ML, Maldonado M. Keratoconus management guidelines. Intern J Keratoconus Ectatic Corneal Dis. 2015;4(1):1
7. Schumacher S, Oeftiger L, Mrochen M. Equivalence of biomechanical changes induced by rapid and standard corneal crosslinking, using riboflavin and ultraviolet radiation. Invest Ophthalmol Vis Sci 2011 Nov 5;52(12):9048-9052.
8. Hafezi F, Mrochen M, Iseli HP, Seiler T. Collagen cross-linking with ultraviolet-A and hypo-osmolar riboflavin solution in thin corneas. J Cataract Refract Surg 2009 Apr;35(4):621-624.
9. Hafezi F. Limitation of collagen cross-linking with hypo-osmolar riboflavin solution: failure in an extremely thin cornea. Cornea 2011 Aug;30(8):917-919.
10. Antonios R, Fattah MA, Maalouf F, Abiad B, Awwad ST. Central corneal thickness after cross-linking using high-definition optical coherence tomography, ultrasound, and dual scheimpflug tomography: A comparative study over one year. Am J Ophthalmol 2016; 167: 38-47. [http://dx.doi.org/10.1016/j.ajo.2016.04.004] [PMID: 27084001]
11. Touboul D, Efron N, Smadja D, Praud D, Malet F, Colin J. Corneal confocal microscopy following conventional, transepithelial, and accelerated corneal collagen cross-linking procedures for keratoconus. J Refract Surg 2012; 28(11): 769-76. [http://dx.doi.org/10.3928/1081597X-20121016-01] [PMID: 23347370]
12. Jordan C, Patel DV, Abeysekera N, McGhee CN. *In vivo* confocal microscopy analyses of corneal microstructural changes in a prospective study of collagen cross-linking in keratoconus. Ophthalmology 2014; 121(2): 469-74. [http://dx.doi.org/10.1016/j.ophtha.2013.09.014] [PMID: 24183340]
13. Gore DM, O'Brart D, French P, Dunsby C, Allan BD. Transepithelial Riboflavin Absorption in an Ex Vivo Rabbit Corneal Model. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2015 Jul;56(8):5006-11. doi: 10.1167/iovs.15-16903. PMID: 26230765.
14. Filippello M, Stagni E, O'Brart D. Transepithelial corneal collagen crosslinking: bilateral study. J Cataract Refract Surg. 2012 Feb;38(2):283-91. doi: 10.1016/j.jcrs.2011.08.030. Epub 2011 Nov 21. Erratum in: J Cataract Refract Surg. 2012 Aug;38(8):1515. PMID: 22104644.