

SCRIPTA

PERIODICO DI AGGIORNAMENTO PROFESSIONALE

Anno 17 - N. 1/2014

medica

SPECIALE OFTALMOLOGIA



**Gli epiteli
della superficie oculare:
chi sono, cosa fanno
e come trattarli**

TAVOLA ROTONDA

Ocular Surface Expert Group

ROMA, 5-6 APRILE 2013



José M. Benítez-del-Castillo

Professor of Ophthalmology, Faculty of Medicine, University of Complutense, Madrid, Spain.
Director of the Ocular Surface, Cataract and Inflammation Unit at the Hospital Universitario San Carlos de Madrid, Spain.
Editor of Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología.

Maurizio Rolando

Associate Professor of Ophthalmology, Clinica Oculistica, Di.N.O.G.M.I., Azienda Ospedaliera San Martino-IST, Genoa, Italy.
Member of the board of the European-American Study Committee for the Definition of Severe Dry Eye (ODISSEY) and of the European Study Group on the Osmoprotection in Dry Eye Diseases.
Author of more than 400 scientific articles.

Pasquale Aragona

Associate Professor of Ophthalmology and Head of the Excellence Centre for the Ocular Surface Diseases at the University of Messina, Italy.
Member of the board of the European-American Study Committee for the Definition of Severe Dry Eye (ODISSEY) and of the European Study Group on the Osmoprotection in Dry Eye Diseases.
Reviewer for the principal Journals in Ophthalmology.

Stefano Barabino

Adjunct Professor of Ocular Surface and Contact Lenses, Clinica Oculistica, Di.N.O.G.M.I., Azienda Ospedaliera San Martino-IST, Genoa, Italy. Editorial board member of The Ocular Surface and Eye and Contact Lens journals, author of more than 100 scientific articles, and initiator and co-founder of the Young Investigator Network.

Philipp Steven

Specialist in Ophthalmology and PI Ocular Surface Group, University Hospital of Cologne, Germany.
Lecturer, University Hospital of Cologne.
Initiator and Co-Founder: Young Investigator Network: Inflammatory diseases of the ocular surface.
Member of International Ocular Surface Society (IOSS).



Gli epiteli della superficie oculare: chi sono, cosa fanno e come trattarli

Stefano Barabino¹, Pasquale Aragona²,
José M. Benítez-del-Castillo³, Philipp Steven⁴, Maurizio Rolando¹

Il sistema della superficie oculare

Con il termine “Sistema della Superficie Oculare” (SSO) vengono raggruppate tutte le strutture presenti sulla superficie dell'occhio che sono in continuità tra loro dal punto di vista anatomico e funzionale (1).

Fanno parte di questo sistema: il film lacrimale, l'epitelio corneale, l'epitelio congiuntivale, le ghiandole lacrimali, le ghiandole di Meibomio (2) (Figura 1).

Funzioni del SSO sono: fornire e mantenere la qualità ottica refrattiva, proteggere la struttura oculare e interfacciarsi con le condizioni ambientali esterne e interne.

Esso deve infatti:

- garantire la qualità della superficie refrattiva allo scopo di assicurare una visione distinta;
- contrastare l'attacco di agenti esterni (acqua, aria), corpi estranei e batteri;
- essere in grado di reagire prontamente al fine di proteggere le strutture oculari in toto.

Per queste finalità la superficie oculare e i suoi singoli componenti si trovano in uno stato altamente dinamico, caratteristico delle sue straordinarie capacità di adattamento, pronti a reagire simultaneamente nei confronti degli stimoli attraverso accelerazione o rallentamento dei movimenti cellulari ed alla continua attività secretoria da parte di tutte le cellule epiteliali (3).

È proprio questa capacità di adattarsi che consente la sua omeostasi anche in condizioni ambientali difficili.

Il sincronismo tra i costituenti del SSO è ottenuto grazie all'integrazione a questo livello di diversi altri sistemi: nervoso, endocrino, circolatorio e immunitario.

Quest'ultimo, in particolare, comprende la normale flora batterica residente, le barriere anatomiche intrinseche, la secrezione di mucine, alcune sostanze batteriostatiche e batteriolitiche, anticorpi e linfociti T locali.

Spesso l'attivazione di una di queste difese determina il successivo coinvolgimento delle altre con conseguente risposta difensiva efficace (4).

Gli eventi patogenetici estrinseci (stress ambientali, lenti a contatto, chirurgia refrattiva, ecc) e intrinseci (malattie, invecchiamento, alterazioni metaboliche, ecc), che non possono essere controbilanciati da fenomeni adattativi o da appropriate reazioni del SSO, ne alterano l'omeostasi e generano un circolo vizioso che dalla disfunzione conduce

¹ Clinica Oculistica, D.I.N.O.G.M.I., Azienda Ospedaliera San Martino-IST, Genoa, Italy.

² Centro di Eccellenza Regionale per le Malattie della Superficie Oculare, Università degli studi di Messina, Italy.

³ Universidad Complutense de Madrid, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, Spain.

⁴ Department of Ophthalmology, University of Cologne, Germany.

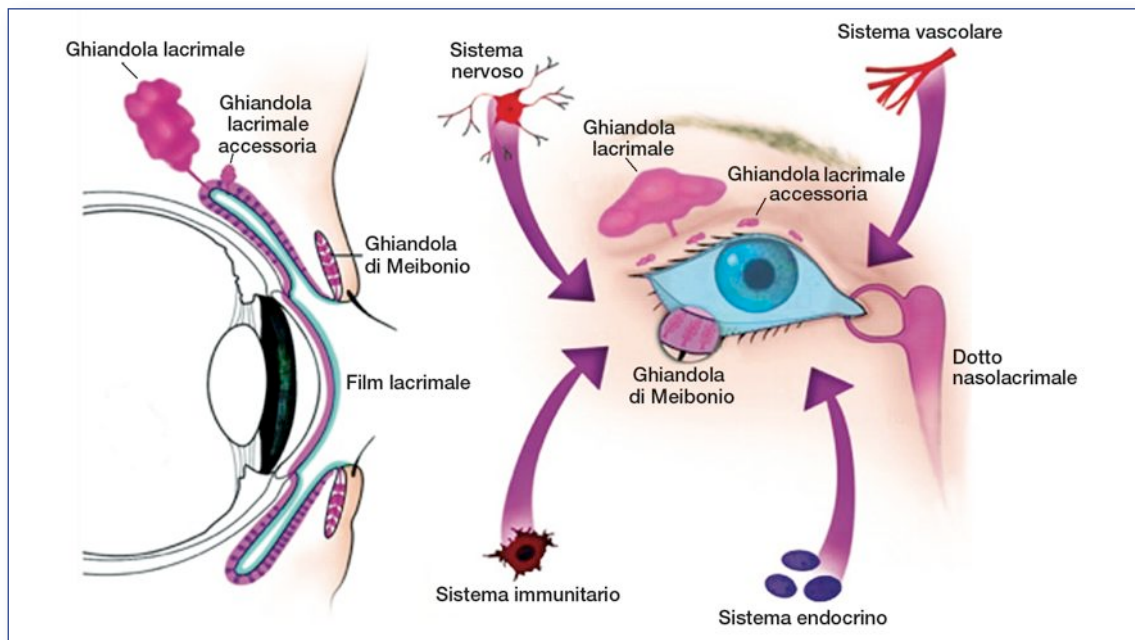


Figura 1.

I componenti del Sistema della Superficie Oculare. Tutti gli epiteli derivano da un foglietto embrionario comune e sono tra di loro interconnessi attraverso i sistemi: vascolare, endocrino, nervoso ed immune. Questo consente il rapido adattamento all'eventuale cambiamento delle condizioni ambientali interne all'organismo od esterne.

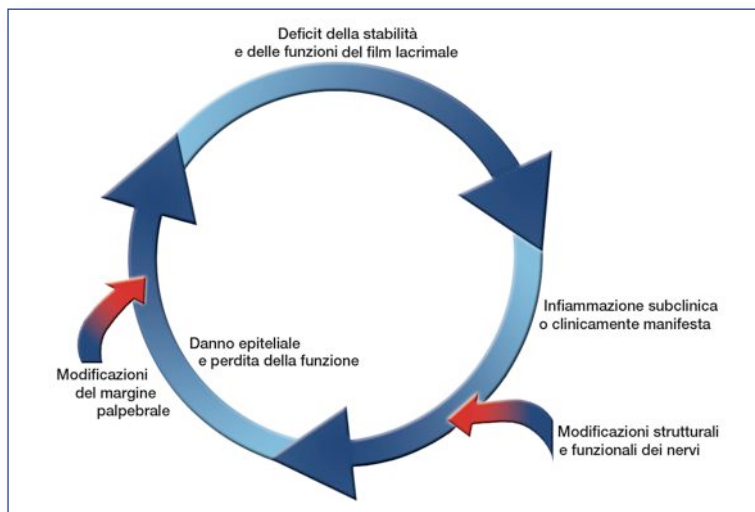


Figura 2.

Schema della patogenesi della disfunzione della superficie oculare. Quando il sistema della superficie oculare non riesce più ad adattarsi alle nuove condizioni ambientali, si sviluppano circoli viziosi auto-mantenentisi di malattia che sono caratterizzati da instabilità lacrimale, infiammazione e danno epiteliale, che se non corretti od aggravati da alterazioni palpebrali o del traffico nervoso, mantengono la malattia ed inducono un peggioramento progressivo della disfunzione della superficie oculare.

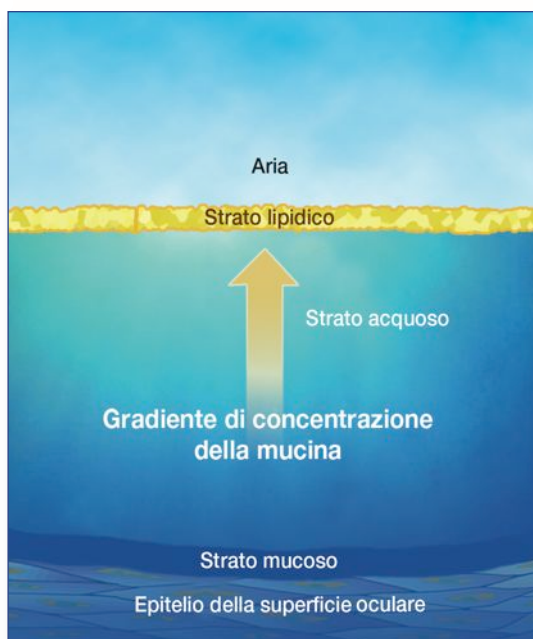
all'insorgenza di una vera e propria malattia della superficie oculare con conseguenti segni e sintomi (Figura 2).

Gli epiteli della cornea e della congiuntiva svolgono un ruolo di primo piano nel SSO, sia in condizioni normali che patologiche, ma spesso non teniamo presente il loro ruolo e c'è molta confusione su come trattarli.

Obiettivo del simposio tenutosi a Roma con esperti europei si pone invece di mettere gli epiteli al centro del SSO, capire come agiscano e si interfaccino con le altre componenti del sistema e fare chiarezza su come trattarli in condizioni patologiche.



Figura 3.
Struttura del film lacrimale.



Film lacrimale ed epitelio

Come precedentemente esposto, il film lacrimale è una delle componenti del sistema della superficie oculare. Esso svolge per gli epiteli della cornea le funzioni che il sangue ottempera negli altri tessuti ed in particolare attraverso fattori di crescita e di regolazione influisce sulla maturazione, la mobilità e le attività epiteliali.

Per comprendere le patologie della superficie oculare è necessario conoscere le componenti delle lacrime e le loro funzioni in condizioni fisiologiche. Le lacrime normali, oltre all'acqua, contengono una miscela complessa di proteine, mucine, vitamine ed elettroliti. Di particolare importanza sono le proteine ad attività antimicrobica (lisozima e lattoferrina), i fattori di crescita come l'*Epidermal Growth Factor* (EGF), i soppressori dell'infiammazione, le mucine solubili e gli elettroliti (5).

Dal punto di vista strutturale il film lacrimale è composto da tre strati che dalla profondità alla superficie sono: lo strato mucoso, lo strato acquoso e lo strato lipidico (Figura 3). Lo strato mucoso, prodotto dagli epiteli della superficie oculare e in gran parte da cellule

specializzate della congiuntiva (cellule caliciformi secernenti MUC-5AC) è a contatto con l'epitelio della superficie oculare (congiuntivale e corneale) ed ha le seguenti funzioni:

- mantenere la superficie oculare bagnabile,
- proteggere l'epitelio dal movimento palpebrale,
- formare una barriera protettiva contro l'aggressione microbica (le IgA secretorie sono localizzate in questo strato),
- prevenire l'adesione batterica,
- neutralizzare piccole particelle (polvere) che vengono a contatto con la superficie oculare.

Il muco presente nelle lacrime è principalmente prodotto dalle *goblet cells* della congiuntiva, tuttavia glicoproteine simili alle mucine delle *goblet cells* sono sintetizzate dalle cellule epiteliali della congiuntiva e della cornea e dalle cellule tubulari delle ghiandole lacrimali. Le mucine della superficie oculare sono di tre tipologie:

- legate alle membrane cellulari (MUC 1, MUC 16, MUC 4 prodotte dalle cellule dell'epitelio di superficie);
- formanti gel (MUC 5AC prodotte dalle *goblet cells* congiuntivali);
- monomeri solubili (MUC 7 prodotte dalle ghiandole lacrimali).

Ad eccezione delle piccole quantità strettamente connesse all'epitelio corneale e congiuntivale, la maggior parte del muco lacrimale si trova in soluzione e agisce come fattore protettivo e reologico. Infatti le glicoproteine presenti garantiscono la viscosità delle lacrime, riducono la tensione superficiale all'interfaccia strato acquoso/strato lipidico e permettono a quest'ultimo di diffondersi uniformemente sulla superficie lacrimale.

Talora una parte del muco in soluzione diventa visibile mentre galleggia nel film lacrimale o nei menischi e appare in forma di granuli o di piccoli filamenti liberi o aderenti all'epitelio. Le cause di questo fenomeno possono essere le mucine nei diversi stadi di degradazione, la perdita di idratazione e la contaminazione o la denaturazione dovuta ad altri componenti del film lacrimale o a inquinanti esterni.

In condizioni normali l'eccessiva evaporazione lacrimale non determina l'occhio secco (sono tuttavia presenti sintomi temporanei di questa sindrome in caso di vento o aria condizionata), ma se le ghiandole lacrimali non riescono a controbilanciare l'evaporazione, l'osmolarità lacrimale aumenta causando un danno diretto alle cellule epiteliali e l'inizio della cascata infiammatoria (Figura 4).

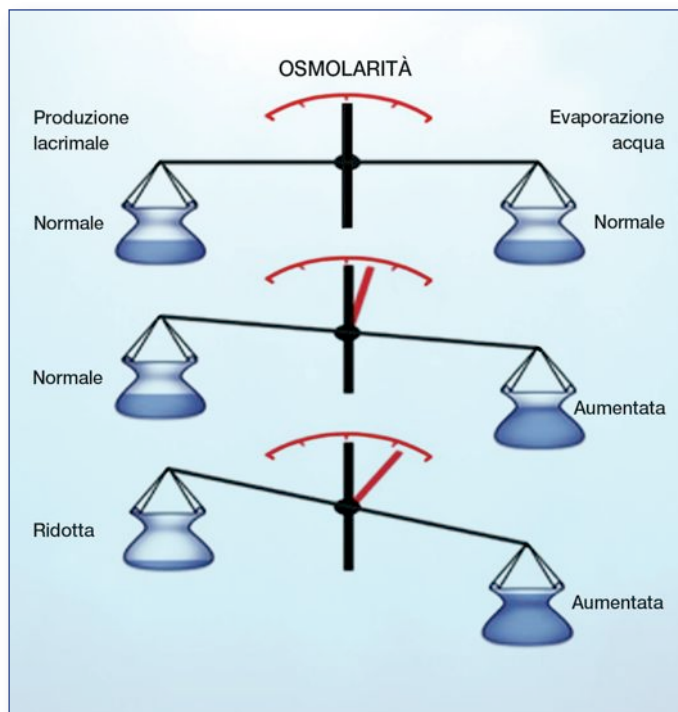
È stato evidenziato che in condizioni fisiologiche il liquido lacrimale ha un'osmolarità di 302 ± 6 (mean $\pm$ SD) mOsm, mentre nei pazienti con occhio secco essa è di 343 ± 32 mOsm (6).

Nell'occhio secco cronico, il liquido lacrimale, oltre all'incremento degli elettroliti (iperosmolarità), mostra una riduzione di molte proteine (proteine antimicrobiche, fattori di crescita), uno squilibrio a favore delle citochine pro-infiammatorie e una riduzione delle mucine solubili (MUC 5AC) con conseguente diminuzione della viscosità.

Nelle forme non particolarmente gravi di occhio secco le lesioni epiteliali sono prevalentemente localizzate nell'area nasale inferiore della congiuntiva bulbare dove il liquido lacrimale è più concentrato e permane più a lungo a causa della riduzione della clearance (Figura 5), suggerendo che la lacrima in questi pazienti possa esser diventata tossica per la superficie oculare.

Per ragioni di dinamiche dei fluidi a livello

Figura 4.
Osmolarità del film lacrimale come risultato del bilanciamento tra produzione ed evaporazione.



della superficie oculare, il luogo in cui questa concentrazione e quindi il rischio tossico è massimo è appunto la porzione nasale inferiore della superficie oculare esposta.

Studi condotti sulla distribuzione delle cellule epiteliali che esprimono il marcatore dell'infiammazione HLA-DR confermano questa ipotesi, dal momento che esse sono più numerose, rispetto ai controlli, nei pazienti con occhio secco lieve e moderato e che la loro densità è maggiore nella regione nasale: ciò significherebbe che nell'occhio secco, l'infiammazione indotta dalle modificazioni qualitative in senso tossico delle lacrime, potrebbe essere la causa primaria del danno della superficie oculare (7).

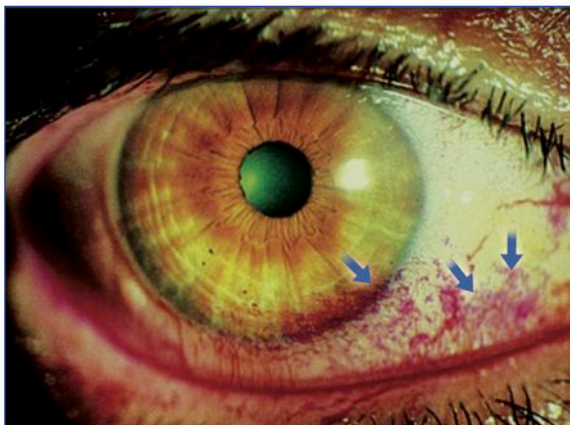


Figura 5.
Cheratocongiuntivite secca: lesioni epiteliali localizzate nell'area nasale inferiore (colorazione Rosa Bengala).



Omeostasi dell'epitelio corneale e meccanismi di guarigione

L'epitelio corneale è un epitelio stratificato non cheratinizzato, dello spessore di 50 µm (aumenta verso il limbus), che appoggia sulla membrana di Bowman.

Esso è formato da 5-7 strati di cellule di tre tipi: basali, alate e superficiali (8). Solo le cellule basali possiedono attività mitotica (9). Le cellule corneali sono unite tra loro da differenti complessi giunzionali, variabili a seconda del tipo cellulare, che realizzano una barriera meccanica e funzionale (9).

L'epitelio corneale mantiene l'omeostasi dei fluidi oculari e contribuisce al film lacrimale attraverso una secrezione attiva di acqua: ciò si realizza attraverso la presenza di acquaporine (AQP) e di regolatori transmembrana della conduttanza della fibrosi cistica (CFTR) (10-12) (Figura 6).

In condizioni fisiologiche la struttura dell'epitelio corneale rimane invariata nel tempo. Ciò è stato spiegato con l'ipotesi nota come "ipotesi X, Y, Z del mantenimento dell'epitelio corneale" (13). In questa ipotesi con X viene indicata la proliferazione delle cellule basali, con Y il movimento centripeto delle cellule periferiche del limbus e con Z la perdita di cellule epiteliali dalla superficie corneale. Secondo questa ipotesi il mantenimento dell'epitelio corneale può essere pertanto definito dall'equazione $X+Y=Z$, che più semplicemente indica che fisiologicamente la perdita cellulare deve essere controbilanciata dalla proliferazione e dal reclutamento periferico. Con questa ipotesi è possibile distinguere le malattie corneali e i relativi trattamenti in funzione della componente colpita.

La proliferazione cellulare è identica nel limbus e nel centro della cornea e possiede un ritmo circadiano; la progressione centripeta ha una velocità quotidiana di 17 µm (14).

L'omeostasi corneale è assicurata da cellule staminali (*stem cells* - SC) localizzate in sede basale in prossimità del limbus sclero-corneale (15). Queste ultime hanno sia la capacità di auto-rinnovarsi, sia di dar origine a cellule

progenitrici in rapida proliferazione denominate "Transient Amplifying Cells" (TAC) (16). Le SC limbari sono caratterizzate dalla presenza di alcuni markers (ABCG2, K19, vimentina, KGF-R, metallothionina, e integrina $\alpha 9$) che le differenziano dalle altre cellule basali (16).

Il mantenimento dell'omeostasi corneale necessita di comunicazione tra le cellule corneali, i cheratociti e le cellule nervose. Le citochine principalmente coinvolte nei processi di interazione cellula-cellula sono l'*Epidermal Growth Factor* (EGF), il *Keratocyte Growth Factor* (KGF), l'*Hepatocyte Growth Factor* (HGF) e la sostanza P (17-18).

Quando l'epitelio corneale va incontro a una perdita della sua integrità, inizia una serie di processi riparativi che per comodità viene definita "cascata", ma che in realtà si tratta di eventi che avvengono simultaneamente (9) (Figura 7).

Nel processo di guarigione dell'epitelio corneale (erosione) principalmente interagiscono tre fattori: il film lacrimale, i fattori di crescita epiteliale e il difetto epiteliale (A, B, C). Gli altri fattori illustrati nella figura intervengono nel caso di lesioni stromali (ulcerazioni). L'insulto corneale determina apoptosi e necrosi dei cheratociti (19).

Studi *in vitro* hanno evidenziato che il processo di guarigione inizia dopo 4 ore, inizial-

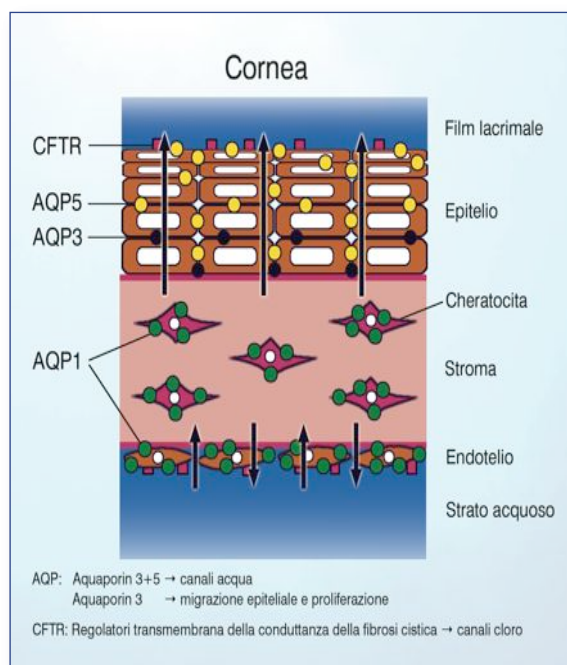
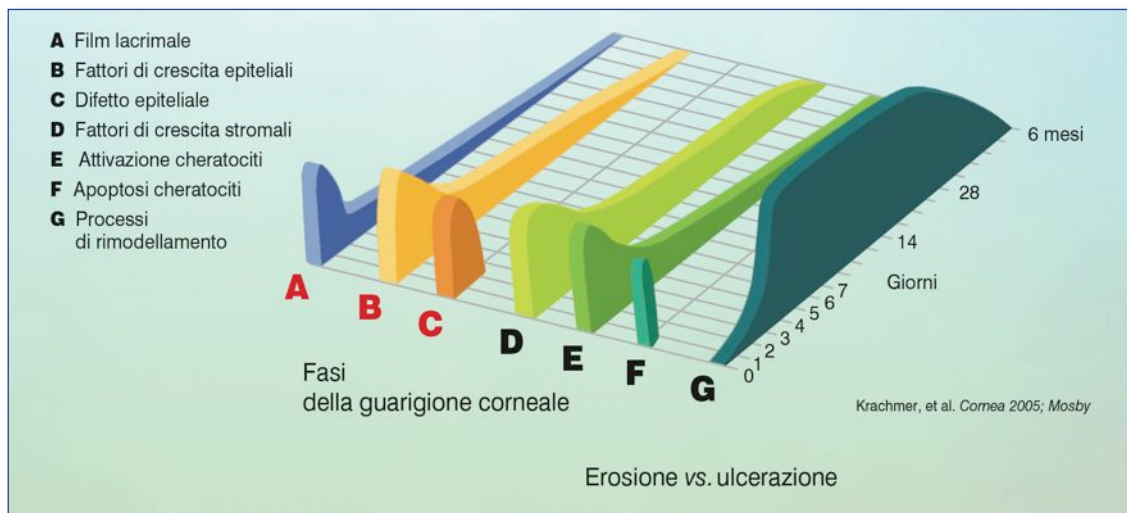


Figura 6.

L'epitelio corneale contribuisce al film lacrimale attraverso la secrezione attiva di acqua.

Figura 7.

*I processi riparativi dell'epitelio corneale.
Nell'erosione sono coinvolti solo quelli indicati dalle lettere A, B, C.*

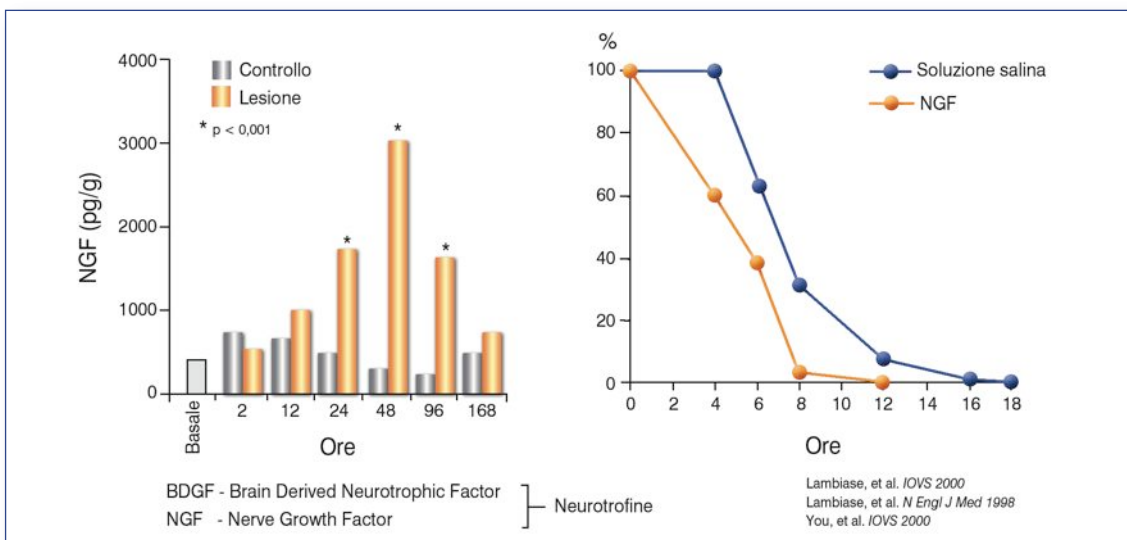


mente procede a una velocità di 30 $\mu\text{m}/\text{ora}$ e successivamente a 60 $\mu\text{m}/\text{ora}$, e si conclude in 32 ore con la riepitelizzazione dell'erosione che si realizza grazie alla migrazione in ampie lamine delle cellule basali e delle cellule alate, con un'immagine microscopica che ricorda le "mandrie bovine" (20). Numerose sono le citochine coinvolte nel

processo riparativo: IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, TNF α (MCAF, G-CSF, etc.); altrettanto importanti sono: le interazioni epitelio-stroma-sistema immunitario, la liberazione di fattori neurotrofici come il *Brain Derived Neurotrophic Factor* (BDGF) e il *Nerve Growth Factor* (NGF) (Figura 8), la presenza di alcuni peptidi lacrimali (19, 21, 22).

Figura 8.

Livelli corneali di NGF dopo una lesione.





Lesioni della superficie oculare e modificazioni della componente nervosa

La cornea possiede la più ricca innervazione sensitiva del corpo: la sua densità nervosa è 40 volte maggiore di quella della polpa dentale e 600 volte superiore di quella cutanea (23).

Oltre alle fibre sensitive, la cornea riceve, in misura minore, fibre nervose autonome: quelle appartenenti al sistema simpatico provengono dal ganglio cervicale superiore, mentre le rare fibre simpatiche originano dal ganglio ciliare (24).

Gli assoni sensitivi appartengono al trigemino e provengono dal ganglio di Gasser (1-5% dei neuroni).

Le fibre nervose entrano nella cornea dalla periferia, radialmente, con direzione parallela alla superficie oculare, sono localizzate nella profondità dello stroma anteriore e perdono la loro guaina mielinica a 1 mm dal limbus (23, 25).

Nello stroma queste fibre si dividono e ruotano di 90° diventando perpendicolari alla superficie oculare e penetrano la lamina di Bowman (23, 25).

Successivamente, ruotano nuovamente di 90° diventando parallele alla superficie corneale tra la lamina di Bowman e lo strato epiteliale basale, dividendosi ulteriormente e formando un plesso sub-basale da cui raggiungono gli strati più superficiali dell'epitelio corneale (23, 25) (Figura 9).

Le singole fibre sub-basali seguono traiettorie dritte o curvilinee e convergono in un centro immaginario (*vortex*) localizzato approssimativamente a 2,5 mm dall'apice corneale, in posizione infero-nasale (25).

Le terminazioni di questi assoni sono denominate nocicettori. I nervi sensitivi della cornea umana contengono neuropeptidi e, in particolare, la sostanza P (20%) e il *Calcitonin Gene Related Peptide* (CGRP) (60%) (24).

Questi neuropeptidi esercitano influenze sull'epitelio corneale.

Studi *in vitro* hanno evidenziato che la presenza di neuroni trigeminali in col-

ture di cellule epiteliali stimola la loro attività mitotica: la sostanza P è responsabile del picco proliferativo iniziale, mentre il CGRP della differenziazione (26).

A livello dell'epitelio corneale la sostanza P aumenta l'*Epidermal Growth Factor* (EGF) e agisce in modo sinergico con l'*Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1) nel stimolare la migrazione e l'adesione cellulare (27, 28).

Il criterio più valido per classificare funzionalmente i neuroni sensoriali oculari è quello di valutare lo stimolo di attivazione dei nocicettori: quest'ultimi per il 15% sono meccano-nocicettori (fibre A-delta), per il 70% sono polimodali (fibre C), attivati cioè da stimoli meccanici, chimici e dal calore, e per il 15% freddo-nocicettori (fibre A-delta e C) (29).

La stimolazione meccanica attiva principalmente i meccano-nocicettori e debolmente i polimodali, ma quando lo stimolo persiste, e soprattutto se arreca danni tessutali, la scarica dei nocicettori polimodali diventa sempre più pronunciata.

Una delle caratteristiche più importanti dei nocicettori polimodali è la loro sensibilizzazione: cioè, la loro soglia di attivazione si abbassa e la frequenza di scarica aumenta. Le citochine, le prostaglandine e i fattori di crescita che si liberano in corso dei processi infiammatori producono sensibilizzazione.

Nella Figura 10 sono riassunti gli effetti della stimolazione dei nocicettori polimodali.

La sensibilità corneale è maggiore nelle don-

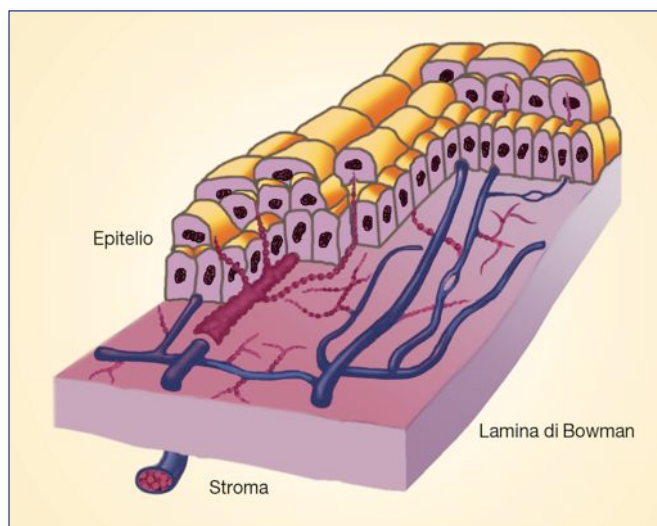
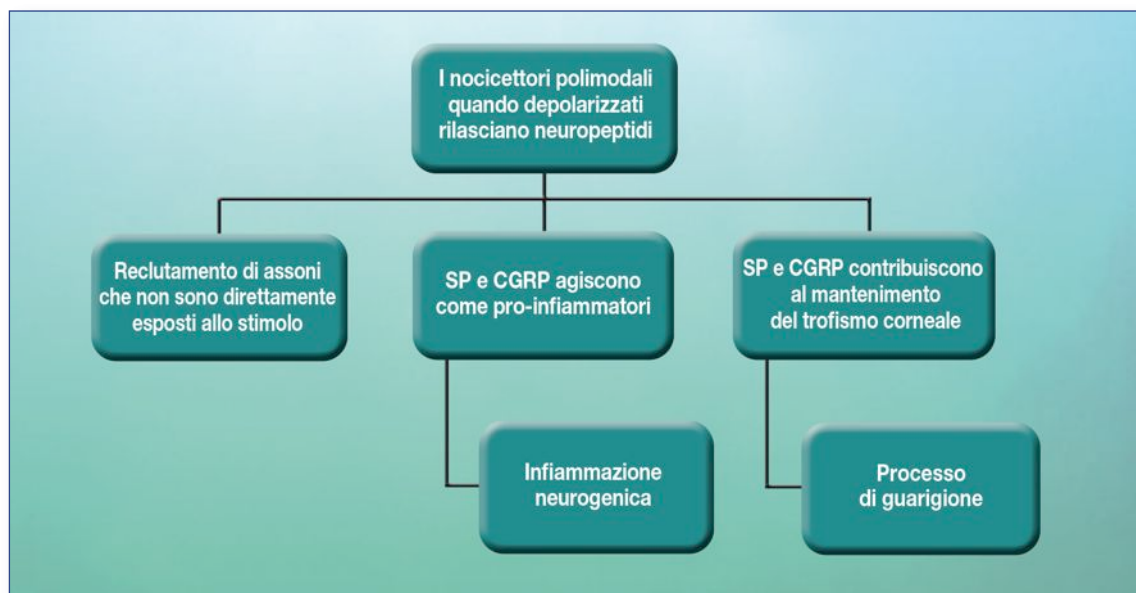


Figura 9.
Innervazione della cornea.

Figura 10.

Conseguenze delle stimolazione dei recettori polimodali ed effetti opposti della sostanza P e del CGRP sull'epitelio corneale.



ne, si riduce in gravidanza e varia nel corso del ciclo mestruale (30-33). La densità e sensibilità nervosa corneale diminuiscono con l'età per un decremento dei nocicettori polimodali.

Cheratopatia neurotrofica

Quando le fibre nervose corneali vengono tagliate, come avviene nella chirurgia refrattiva, si realizza dapprima una ipoestesia, ma successivamente gli assoni lesi iniziano a rigenerare e si formano microneuromi accompagnati da iperemia congiuntivale ed iperalgesia. In questi casi le fibre nervose non trasducono più in modo corretto lo stimolo esterno, ma generano dolore (34).

La sensazione di secchezza oculare che accompagna questi casi non è dovuta a un difetto di secrezione lacrimale, ma probabilmente alla liberazione di citochine infiammatorie che distorcono l'informazione sensitiva a livello cerebrale.

Occhio secco

L'occhio secco può essere causato da una ridotta produzione lacrimale o da un'aumentata evaporazione (35). In quest'ultimo caso la riduzione della temperatura determina un'aumento delle scariche dei nocicettori per il fred-

do con incremento dello scorrimento palpebrale su una superficie oculare abnormemente secca e conseguente stimolazione dei mecano-nocicettori e dei nocicettori polimodali.

L'occhio secco è stato messo in relazione al diabete mellito, all'uso delle lenti a contatto e alla tecnica LASIK (*LASeR In situ Keratomileusis*). In tutte queste condizioni è stata descritta un'alterazione della sensibilità corneale; anche nella sindrome di Sjögren si possono verificare neuropatie, in particolare del V nervo cranico.

Studi della struttura nervosa e della funzione corneale

I primi studi dell'organizzazione nervosa della cornea sono stati compiuti con l'impiego del microscopio ottico e del microscopio elettronico (24).

Il principale problema di queste indagini è legato al fatto che la struttura nervosa dopo 13 ore dalla morte va incontro a fenomeni degenerativi. Oggi mediante l'impiego del microscopio confocale è possibile studiare la cornea *in vivo*.

La sensibilità corneale viene in genere testata mediante l'estesimetro di Cochet-Bonnet, tuttavia questo strumento ha scarsa accuratezza e misura solo la sensibilità meccanica.



Recentemente è stato sviluppato un nuovo estesiometro a gas che tramite l'aria è in grado, senza alcun contatto con la cornea, di misurare la sensibilità meccanica, chimica e termica (36). Con questo strumento si applica al centro della cornea un getto d'aria variabile nella frequenza, nella composizione e nella temperatura (Figura 11).

Utilizzando questa apparecchiatura è stata studiata la struttura nervosa e funzionale della cornea in individui sani, divisi per età, inferiore e superiore a 60 anni, e in pazienti con occhio secco associato sia a sindrome di Sjögren sia indipendente da quest'ultima (33, 37).

Nell'occhio secco sono state evidenziate le seguenti alterazioni morfologiche quantitative:

- riduzione della densità della parte superficiale dell'epitelio corneale con aree di metaplasia;
- aumento (solo nella sindrome di Sjögren) della densità della componente basale dell'epitelio corneale;
- aumento della densità dei cheratociti e della loro attivazione;
- aumento della tortuosità delle terminazioni nervose sub-basali (33, 37).

A proposito di queste, negli individui sani non sono state descritte anomalie qualitative

Figura 11.

Estesiometro a gas di Belmonte.



correlate all'età, mentre nel 54,5% dei pazienti con occhio secco da sindrome di Sjögren e nel 30% di quelli con occhio secco indipendente da questa è risultato aumentato lo *sprouting* delle fibre nervose (processi rigenerativi) (33, 37).

I pazienti con occhio secco possiedono una soglia più elevata (ipoestesia) nei confronti degli stimoli meccanici, chimici e termici (freddo) (Figura 12) e ciò è in relazione al numero delle fibre sub-basali che appaiono ridotte (33, 37).

Queste osservazioni permettono di concludere che:

- i pazienti con occhio secco, indipendentemente dal fatto che esso sia dovuto alla sindrome di Sjögren, mostrano un'alterazione dell'innervazione corneale;
- non è possibile stabilire se le modificazioni della struttura nervosa della cornea siano primarie o secondarie rispetto alle alterazioni epiteliali.

Attivazione dell'epitelio della superficie oculare e infiammazione

Nel sistema superficie oculare, la congiuntiva rappresenta una struttura complessa formata dall'epitelio, dalle cellule mucosecernelle (*goblet cells*), dai linfociti intraepiteliali (in cui i CD8⁺ sono prevalenti), dalle cellule di Langherans e dalla membrana basale. Le *goblet cells* producono diversi tipi di mucine e la principale è rappresentata dalla MUC 5AC.

Le mucine e i loro O-glicani presenti sulla superficie oculare formano una barriera protettiva sulla superficie oculare, la mantengono idratata e lubrificata, e svolgono un importante ruolo di clearance nei confronti dei corpi estranei e dei batteri.

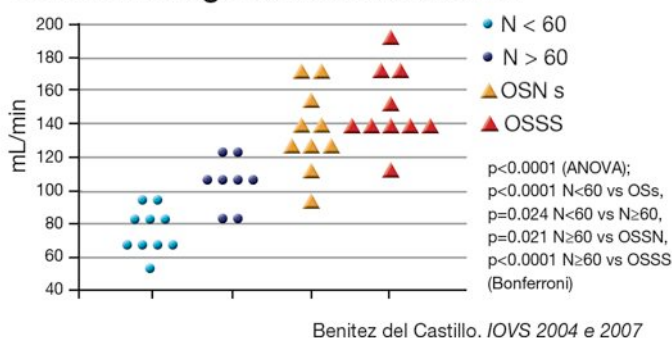
Le *goblet cells* sono importanti anche dal punto di vista immunologico in quanto secernono sostanze antinfiammatorie come il TGF- β 2 che mantengono la stabilità del sistema.

Occhio secco

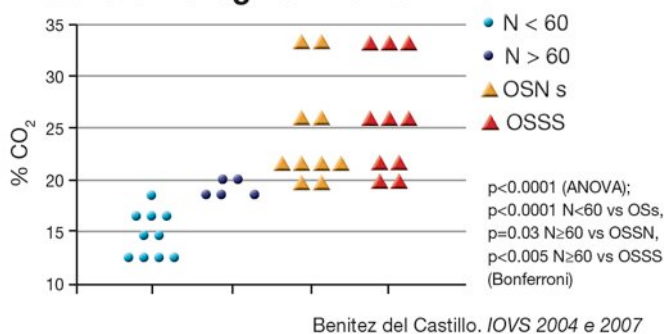
Nell'occhio secco la superficie oculare perde la sua immuno-omeostasi e mostra gradi variabili di infiammazione.

Innanzitutto occorre sottolineare che nella superficie oculare i processi infiammatori

Sensibilità agli stimoli meccanici



Sensibilità agli stimoli chimici



Sensibilità agli stimoli termici

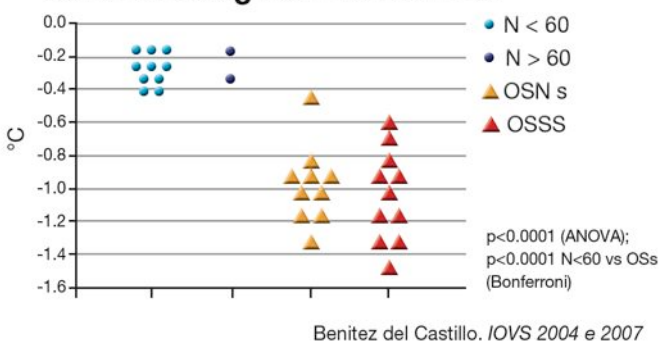


Figura 12.

Occhio secco: ipoestesia agli stimoli meccanici, chimici e termici.

Dal punto di vista immunologico, utilizzando la citometria a flusso su campioni di cellule della congiuntiva bulbare ottenuti mediante citologia ad impressione (Figura 13), nell'occhio secco sono state rilevate le seguenti modificazioni:

- aumento dell'espressione del *Toll-like receptor 9* (immunità innata) nella congiuntiva e nella cornea (41);
- aumento dell'espressione di ICAM 1 (che contribuisce all'infiltrazione T linfocitaria) (42, 43);
- aumento dell'espressione del recettore CCR5 per le chemochine nell'epitelio congiuntivale (44) e del suo ligando CCL5 (45);
- aumento nella congiuntiva di citochine proinfiammatorie (MMP-9, TNF- α , IL-1 β , IL-6, TGF- β 2, IL-23, IL-17, e IFN- γ) (46);
- aumento del rapporto CD4/CD8 e delle cellule CD14⁺ (47);
- aumento delle cellule epiteliali HLA-DR⁺ che sono cellule presentanti l'antigene e quindi in grado di indurre una risposta infiammatoria (47, 48) (Figura 14).

non sempre sono accompagnati da iperemia. Nell'occhio secco è stato osservato che le *goblet cells* diminuiscono di numero e che l'applicazione sulla superficie oculare di una soluzione ipotonica di ialuronato di sodio (38) o l'uso topico della ciclosporina (39) le ripristina quantitativamente.

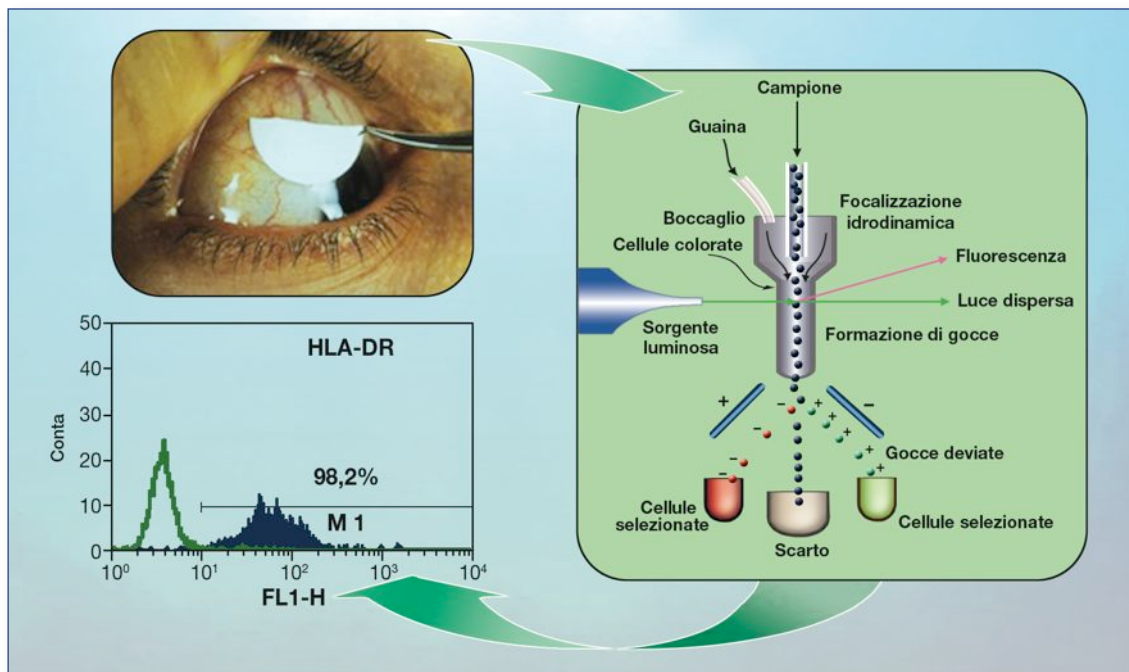
In tale condizione patologica, oltre alla riduzione delle *goblet cells*, sono state descritte alterazioni della glicosilazione delle mucine e della distribuzione dei loro O-glicani (40).

Nell'occhio secco, per quanto riguarda l'epitelio congiuntivale, si osservano alterazioni della cromatina (49) e un aumento dei markers correlati all'apoptosi (50).

Recentemente è stato segnalato che nella genesi della metaplasia squamosa cheratinizzate che si verifica nella mucosa oculare in corso di sindrome di Sjögren i recettori per IL-1 svolgono un'azione mediatrice tra i linfociti CD4⁺ e le cellule residenti (51).



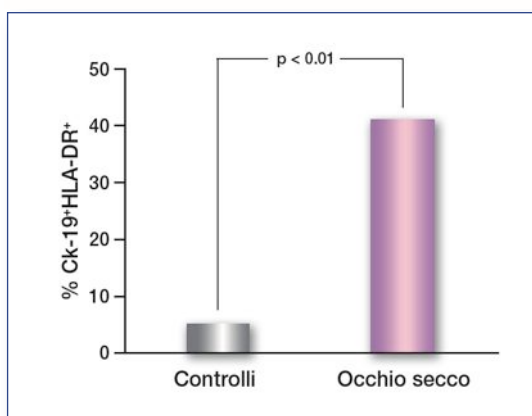
Figura 13.
Citoflussometria delle cellule congiuntivali.



La comprensione dei meccanismi patogenetici dell'occhio secco ha determinato significative modificazioni nel trattamento di questa affezione.
Il tradizionale approccio basato sull'impiego

di sostituti delle lacrime ha evidenziato alcuni limiti. Il ripristino delle lacrime è certamente importante, ma nelle forme più gravi deve essere accompagnato dalla somministrazione di una terapia antinfiammatoria che ha lo scopo di interrompere il circolo vizioso infiammazione – alterazione qualitativa del film lacrimale – danno degli epiteliali della superficie che è la causa dei segni e dei sintomi di questa patologia oculare (Figura 15).

Figura 14.
Nell'occhio secco le cellule epiteliali HLA-DR+ (presentanti l'antigene) sono significativamente aumentate di numero (immunoattivazione).

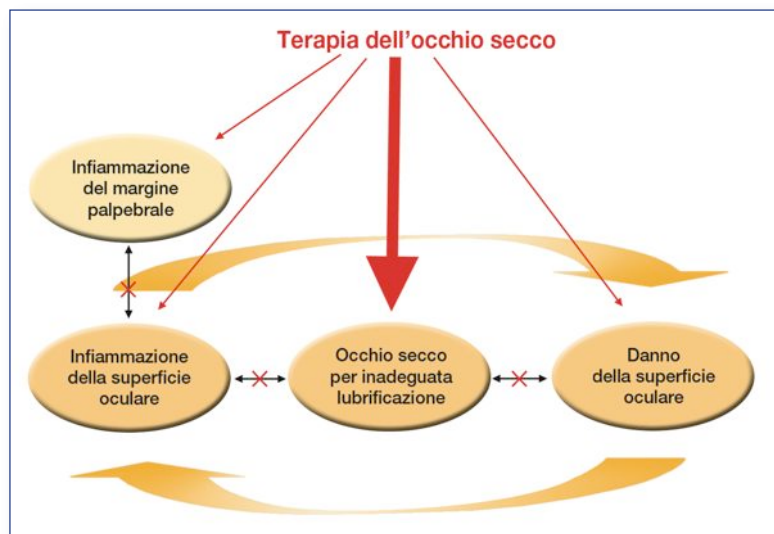


Attuali e nuove terapie per la modulazione del danno epiteliale

Il trattamento del danno epiteliale della superficie oculare nell'occhio secco deve tener conto di tre aspetti: l'infiammazione, l'instabilità del film lacrimale e la protezione dell'epitelio.

Infiammazione

Per il trattamento dell'infiammazione si può ricorrere all'impiego di corticosteroidi, della ciclosporina A e degli acidi grassi omega-3 e -6.

**Figura 15.**

Nella terapia dell'occhio secco è necessario interrompere il circolo vizioso danno della superficie - infiammazione danno della superficie.

Corticosteroidi topici

In Europa corticosteroidi topici rappresentano il primo step del trattamento.

Nel processo infiammatorio presente nell'occhio secco si deve tener conto di due fasi: la prima che si riferisce all'immunità innata e la

seconda all'immunità adattativa.

I corticosteroidi sono in grado di contrastare entrambi queste due fasi bloccando diversi passaggi patogenetici (Figura 16).

Sono disponibili diversi tipi di corticosteroidi con differente potenza (Tabella 1).

I fattori che influenzano l'attività dei corticosteroidi sono: la formulazione, la concentrazione, la presenza di recettori nel tessuto bersaglio, l'affinità recettoriale e le condizioni tissutali.

Le caratteristiche farmacocinetiche di un corticosteroide sono in rapporto alla sua struttura

Figura 16.

I corticosteroidi bloccano diverse fasi della cascata infiammatoria.

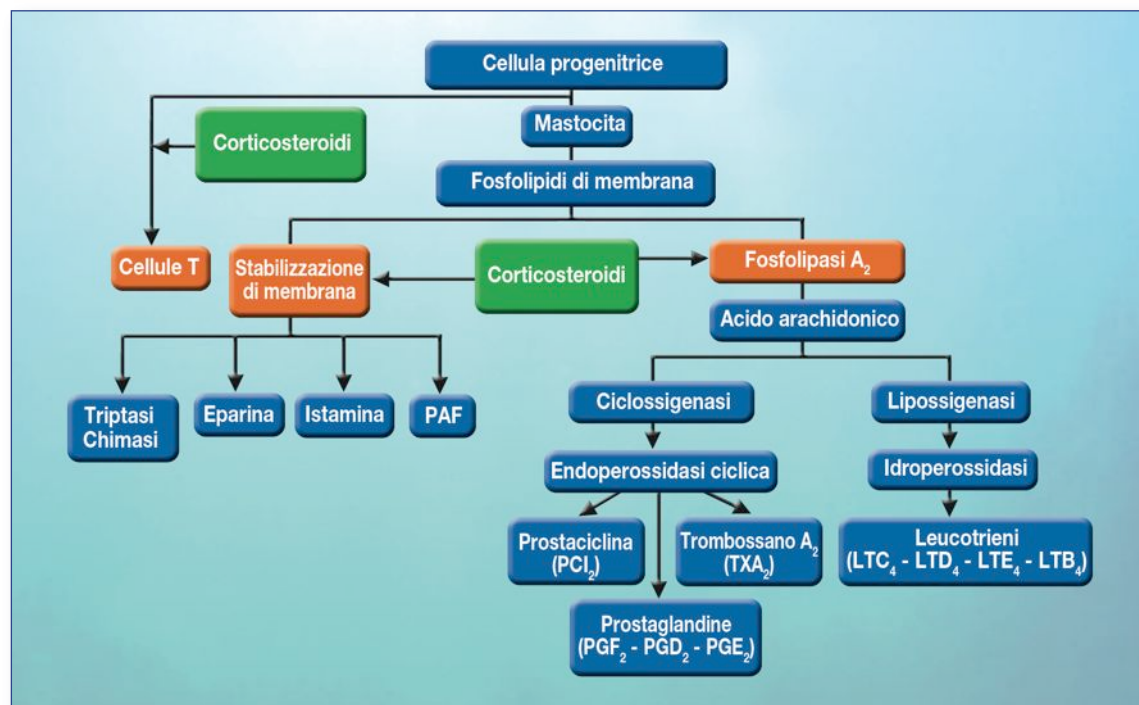




Tabella 1.

Efficacia clinica relativa dei corticosteroidi.

Idrocortisone 1%	1
Prednisolone 1/8%	2
Medrysone 1%	2
Loteprednol 0,2%	2,5
Fluorometolone alcool 0,1%	3
Desametasone 0,1%	4
Fluorometolone acetato 0,1%	4
Rimexolone 1%	4,5
Loteprednol 0,5%	4,5
Prednisolone 1%	5

chimica: la maggiore e la minore lipofilia determinano infatti la sua localizzazione nell'epitelio corneale (lipofilo) o nello stroma (idrofilo). Il corticosteroide ideale per il trattamento dell'occhio secco dovrebbe possedere le seguenti caratteristiche: elevato Indice Terapeutico (dose massima tollerata/dose minima efficace), lunga permanenza sulla superficie oculare e buona affinità recettoriale.

L'uso prolungato dei corticosteroidi è associato a seri effetti collaterali quali ipertensione, cataratta, glaucoma e infezioni.

Ciclosporina A

L'emulsione topica di ciclosporina allo 0,05% somministrata due volte al giorno per sei mesi inibisce l'infiammazione oculare mediata dalle cellule T. Essa infatti riduce l'infiltrazione T linfocitaria e i markers infiammatori (IL-6 mRNA), diminuisce l'immunoreattività (HLA-DR) e promuove l'aumento delle *goblet cells* (52, 53).

Un'altro meccanismo della ciclosporina è di aumentare l'apoptosi dei linfociti T.

È necessario ricordare che la risposta clinica alla ciclosporina è molto più lenta di quella dei corticosteroidi e che parecchi pazienti non rispondono al farmaco o mostrano solo una risposta parziale. Per evidenziare i suoi effetti la ciclosporina richiede parecchi mesi di applicazione e ciò costituisce un problema per la compliance.

Acidi grassi omega-3 e -6 e loro derivati

Gli omega -3 e -6 sono acidi grassi polinsaturi che sono critici per l'omeostasi della superficie oculare.

La supplementazione orale per un mese con questi acidi grassi nei pazienti con sindrome di Sjögren ha migliorato la sintomatologia oculare aumentando la concentrazione di PGE₁ (sostanza con marcate proprietà antinfiammatorie) nelle lacrime (54) (Figura 17). Differenti studi hanno inoltre evidenziato che gli omega-6 riducono l'espressione del marcatore dell'infiammazione HLA-DR nell'epitelio congiuntivale (55, 56).

Le resolvine sono molecole prodotte dall'organismo a partire dagli acidi grassi omega-3 (eicosapentaenoico e docosaesaenoico). Si formano attraverso la via COX-2, soprattutto in presenza di aspirina.

Evidenze sperimentali indicano che le resolvine a livello della superficie oculare inibiscono l'espressione di citochine proinfiammatorie, riducono l'attivazione dei mastociti, aumentano la produzione del liquido lacrimale e posseggono effetti analgesici (57).

La neuroprotectina D1 è un derivato dell'acido docosaesaenoico che esercita una potente attività antinfiammatoria e antiapoptotica. È stato osservato che a livello della superficie oculare la neuroprotectina D1 accelera la reinnervazione corneale, riduce l'espressione di citochine proinfiammatorie e possiede effetto analgesico (57, 58).

L'applicazione topica di questi lipidi derivati dagli acidi grassi omega-3 potrebbe essere utile nel trattamento dell'occhio secco e nella prevenzione di erosioni e ulcere corneali (58).

Instabilità del film lacrimale

Il liquido lacrimale che ricopre cornea e congiuntiva è molto importante per la salute della superficie oculare. Esso è formato da un film lipidico sovrastante uno strato di acqua e mucina che è direttamente a contatto con l'epitelio.

Per ripristinare la stabilità del film lacrimale, alterata nell'occhio secco, sono disponibili i cosiddetti mucomimetici.

Si tratta di sostanze che mimano la funzione delle mucine naturali migliorando le condizioni della superficie oculare.

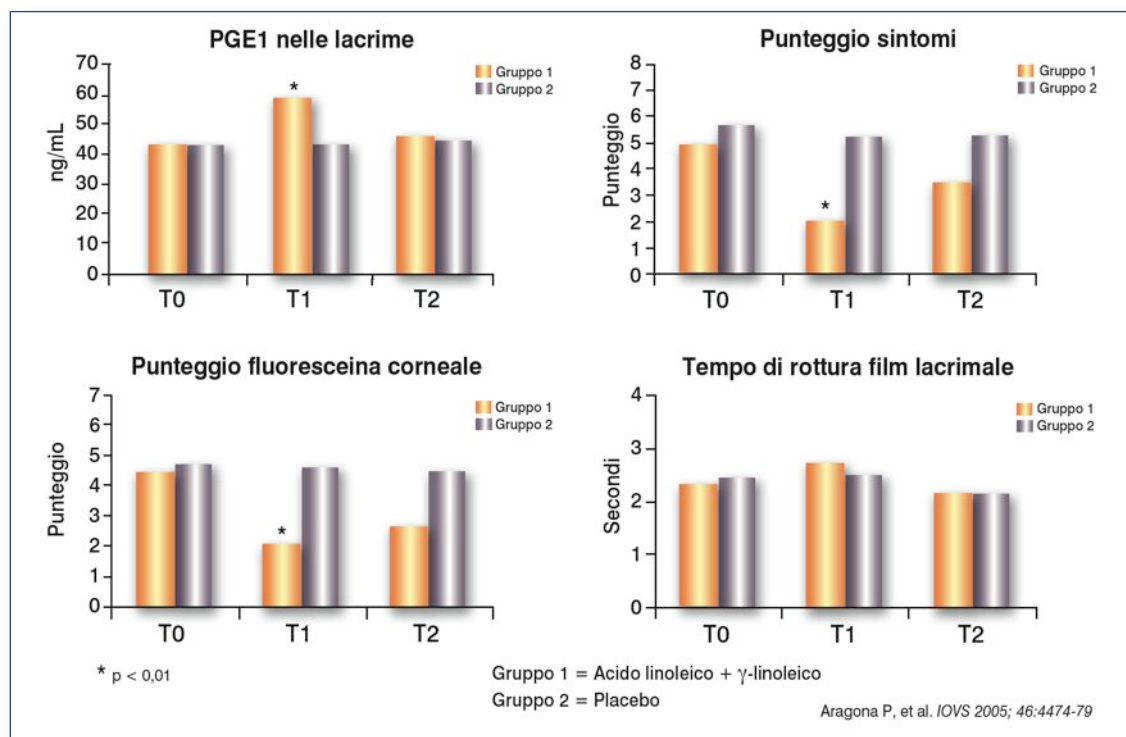
Acido ialuronico

L'acido ialuronico è un polisaccaride idrofilico ad alto peso molecolare fisiologicamente presente nei fluidi oculari e nella matrice extracellulare.

Si tratta di una sostanza viscoelastica, dotata di potere lubrificante, che contiene una

Figura 17.

Nella sindrome di Sjögren gli acidi grassi omega-6 migliorano il quadro clinico oculare attraverso l'aumento di PGE1 nel liquido lacrimale.



elevata quantità di acqua. Sulla superficie oculare è localizzata una glicoproteina transmembrana (CD44) che rappresenta il recettore per l'acido ialuronico. Essa è stata rilevata nell'epitelio corneo-congiuntivale, nei cheratociti e nell'endotelio vascolare limbare. Il CD44 modula i rapporti tra le cellule e tra queste e la matrice extracellulare ed è importante nei processi di guarigione.

L'acido ialuronico blocca il CD44 che è iperespresso nei processi infiammatori.

Studi sperimentali condotti nel coniglio hanno evidenziato che l'azione riparatrice della cornea esercitata dall'acido ialuronico è un fenomeno concentrazione-dipendente (59).

Nell'occhio secco umano è stato osservato che il trattamento per tre mesi con lacrime artificiali contenenti acido ialuronico migliora significativamente il quadro citologico della superficie oculare con ricomparsa delle *goblet cells* (60).

Una successiva indagine condotta in pazienti con sindrome di Sjögren, oltre a confermare i dati sui parametri citologici, ha messo in luce

anche una significativa riduzione della sintomatologia indicando che la soluzione ipotonica di ialuronato di sodio, rispetto alla isotonica, consente risultati migliori (38) (Figura 18).

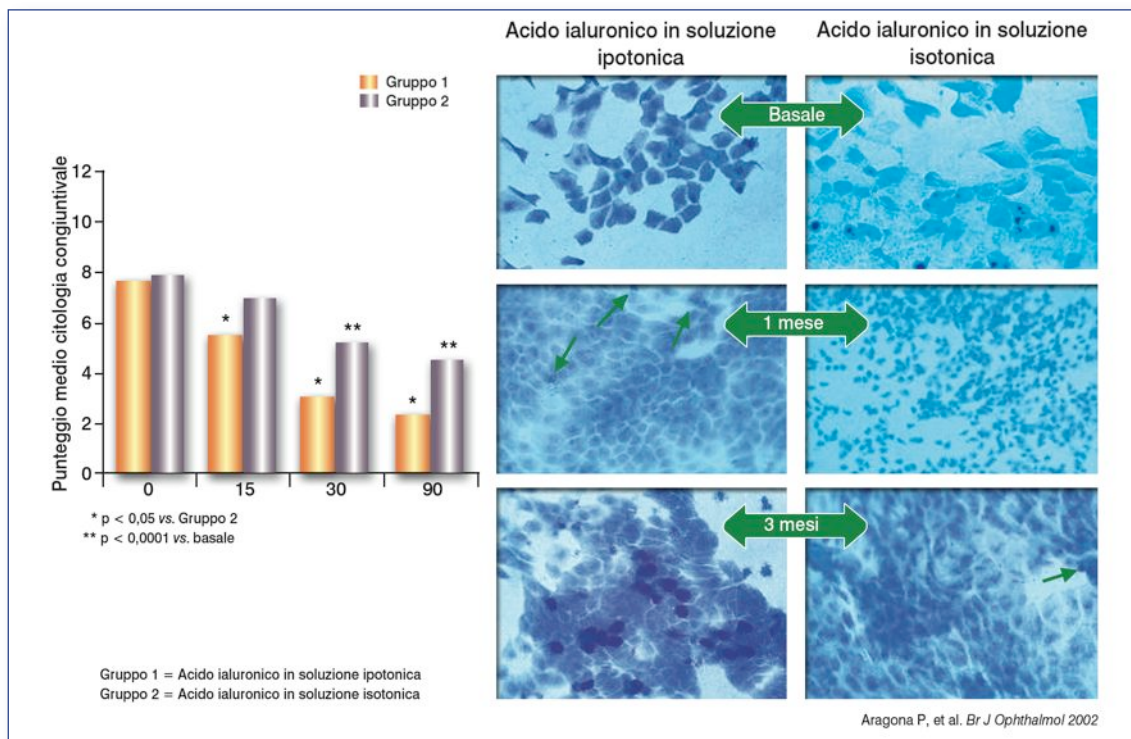
TS-Polysaccharide (polisaccaride da semi di tamarindo)

Il *Tamarind Seed Polysaccharide* (TS-Polysaccharide) è un galattosilloglicano naturale estratto dai semi di *Tamarindus* indica che possiede una struttura chimica simile a quella di alcune proteine presenti nel muco lacrimale (MUC 1). Si tratta di una sostanza con proprietà mucomimetiche e mucoadesive che permettono la sua integrazione nello strato mucoso della superficie oculare. Il TSP stabilizza il film lacrimale, migliorando così i segni e i sintomi dell'occhio secco. Quando confrontato con l'acido ialuronico nei pazienti con sindrome di Sjögren, il TSP ha evidenziato una più lunga permanenza sulla superficie corneale (61). Nei pazienti con occhio secco il TS-Polysaccharide alla concentrazione dell'1% si è dimostrato superiore, in modo statistico



Figura 18.

Nella sindrome di Sjögren l'acido ialuronico in soluzione ipotonica, rispetto all'isotonica, è significativamente più efficace nel migliorare il quadro citologico del liquido lacrimale.



camente significativo, all'acido ialuronico allo 0,2% nell'alleviare i disturbi dell'ammiccamento, il bruciore oculare e la sensazione di corpo estraneo (62) (Tabella 2). Un recente studio ha evidenziato l'azione sinergica del TS-Polysaccharide e dell'acido ialuronico nel migliorare la sintomatologia oculare legata all'impiego delle lenti a contatto; in questi soggetti si è registrato anche un aumento del tempo di rottura del film lacrimale (indice di stabilità) la cui rilevanza sta nel fatto che la sua riduzione è considerata uno degli effetti collaterali delle lenti a contatto (63).

Protezione dell'epitelio

La protezione dell'epitelio può essere ottenuta attraverso l'osmoprotezione, la preservazione delle proteine cellulari, le sostanze secretogoghe e la modulazione della ri-epitelizzazione.

Osmoprotezione

Nella sindrome dell'occhio secco l'iperosmolarità del film lacrimale è uno dei fattori pato-

genetici chiave dell'infiammazione della superficie oculare. Un liquido lacrimale ipertonico determina infatti una disidratazione cellulare a cui la cellula cerca di opporsi mediante l'assunzione di sali dall'ambiente circostante. Lo squilibrio elettrolitico che ne deriva causa un danno cellulare con conseguenti infiammazione ed apoptosi. Obiettivo dell'osmoprotezione è di indirizzare positivamente lo squilibrio elettrolitico utilizzando soluti compatibili. Quest'ultimi hanno la funzione di stabilizzare gli enzimi cellulari e preservare la membrana cellulare attraverso la protezione della sua componente lipidica. Tra i soluti compatibili sono da ricordare la carnitina e la betaina, e la glicerina (64).

Preservazione delle proteine cellulari

Il trealosio è un disaccaride che presenta un legame 1,1 α tra due molecole di glucosio. Esso è uno stabilizzatore delle proteine cellulari e dei fosfolipidi di membrana.

Il trealosio agirebbe mediante tre teorici meccanismi d'azione:

Tabella 2.

Occhio secco: confronto tra TS-Polysaccharide e acido ialuronico nell'alleviare la sintomatologia.

	Disturbo ammiccamento	Bruciore oculare**	Sensazione di corpo estraneo***	Sensazione di lacrimazione ^a	Affaticamento oculare ^a	Desiderio di tenere gli occhi chiusi ^a	Fotofobia ^a
TSP 0,5% (n = 11)							
Basale (DS)	81,55 (27,62)	86,09 (14,49)	89,64 (9,06)	8,64 (28,64)	25,45 (43,69)	31,45 (45,23)	8,82 (29,25)
Visita 5 (giorno 90) Media (DS)	38,00 (22,46)	43,45 (13,92)	36,82 (15,42)	4,55 (15,08)	15,73 (27,38)	16,27 (24,69)	4,73 (15,68)
TSP 1% (n = 10)							
Basale (DS)	81,20 (31,93)	93,00 (8,62)	90,50 (9,64)	9,50 (30,04)	9,70 (30,67)	40,60 (45,74)	14,70 (32,76)
Visita 5 (giorno 90) Media (DS)	16,50 (16,21)	22,30 (13,70)	16,60 (16,79)	4,40 (13,91)	3,20 (10,12)	5,90 (10,35)	1,20 (3,79)
HA 0.2% (n = 9)							
Basale (DS)	63,22 (40,39)	78,78 (30,76)	72,00 (31,08)	0,00 (0,00)	10,78 (32,33)	59,67 (45,17)	25,00 (38,98)
Visita 5 (giorno 90) Media (DS)	40,67 (28,27)	50,44 (22,11)	42,78 (29,47)	0,00 (0,00)	9,33 (21,29)	28,67 (35,12)	12,44 (24,00)
* TSP 1% vs. HA 0,2%; p < 0,05; ** TSP 1% vs. HA 0,2%; p < 0,05. TSP 1% vs. TSP 0,5%; P < 0,05; *** TSP 1% vs. HA 0,2%; p < 0,05 ^a p = NS							

- vetrificazione: formazione di una sottile matrice idrocolloide protettiva intorno alle molecole proteiche;
- esclusione preferenziale: sequestro delle molecole d'acqua dalle proteine con riduzione dell'idratazione e aumento della loro compattezza e stabilità;
- sostituzione dell'acqua: sostituzione delle molecole d'acqua attraverso legami idrogeno.

Secretagoghi

Questo tipo di farmaci sono in grado di stimolare la secrezione lacrimale se somministrati per via sistemica o per via topica.

Pilocarpina

La pilocarpina è un alcaloide naturale che agisce come agonista colinergico legandosi ai recettori M3 mAChR che, in corso di sindrome di Sjögren, sono iperespressi nelle ghiandole lacrimali. Uno studio condotto in questi pazienti ha evidenziato che la somministrazione di pilocarpina per via orale aumenta il numero delle *goblet cells* e migliora alcuni sintomi oculari (bruciore, sensazione di corpo estraneo, secchezza) senza tuttavia incrementare la produzione lacrimale.

È possibile che i positivi effetti della pilocarpina siano legati a una sua azione diretta sull'epitelio della superficie oculare (65).

Diquafosol

È un dinucleotide agonista del recettore P2Y2. Esso, per via topica, promuove la secrezione non ghiandolare di liquidi (trasporto dell'acqua attraverso attivazione dei canali del cloro), la secrezione mucosa e, probabilmente, la produzione di lipidi da parte delle ghiandole di Meibomio. Reidrata la superficie oculare indipendentemente dalla secrezione lacrimale.

La concentrazione al 3% è apparsa la più efficace e senza effetti sistemici (66).

Rebamipide

Usata come farmaco antiulcera gastrica, la rebamipide ha attività antiossidante e *in vivo* ha dimostrato di incrementare sulla superficie oculare la produzione di sostanze mucinosi e di favorire la guarigione corneale e congiuntivale (67, 68).

Gefarnato

Il Ge(ranile)+farn(esil)+(acet)ato è un farmaco utilizzato nel trattamento dell'ulcera gastrica e delle gastriti. A livello gastrico normalizza



la produzione di muco e ripristina la barriera mucosa. Studi sperimentali hanno evidenziato che il gefarnato stimola la produzione congiuntivale di mucina (69, 70).

Ecabet sodico

Anch'esso appartiene ai farmaci gastroprotettori. Potenzia la resistenza gastrica aumentando la secrezione di muco e di HCO_3^- . Gli effetti sembrano mediati dalle prostaglandine (PGE_2).

15(S)-HETE

È un potente secretogogo delle mucine nel cane e nel ratto. Si è dimostrato anche efficace nell'incrementare la produzione di mucina nella congiuntiva umana. Esso stimola la produzione di MUC 1 in modo dose-dipendente (71, 72).

Modulazione della riepitelizzazione

Emoderivati

Per favorire il processo di riepitelizzazione della superficie oculare sono stati anche impiegati i seguenti sostituti lacrimali biologici derivati dal sangue:

- siero autologo (73);
- plasma arricchito con piastrine (PRP) (74);
- siero del sangue del cordone ombelicale (75).

Ormoni

Gli estrogeni si sono dimostrati importanti regolatori dei processi di guarigione. Studi sperimentali hanno evidenziato che il 17- β -estradiolo inibisce l'espressione di citochine infiammatorie da parte delle cellule epiteliali corneali (76).

Altri farmaci

- Gomma di xantano: è un gelificante naturale con proprietà umettanti che ha dimostrato di abbreviare i processi di riepitelizzazione corneale (77).
- N-acetil-cisteina: mucolitico che inibisce la produzione di MMP. Viene utilizzata bassa concentrazione (4-5%) sia in soluzioni isotoniche sia ipertoniche.
- *Nerve Growth Factor* (NGF) e nicergolina: l'epitelio corneale possiede recettori per il NGF. È stato descritto che NGF guarisce le

ulcere corneali neurotrofiche (78, 79). La nicergolina accelera la guarigione delle ulcere corneali innalzando i livelli di NGF a livello corneale e lacrimale (80).

- β -glucani: sono carboidrati che entrano nella costituzione della parete cellulare di funghi, muffe e batteri. Il carbossimetil β -glucano, un derivato idrosolubile del β -glucano, promuove aderenza cellulare e protegge l'epitelio corneale dallo stress ossidativo (79, 81).
- Estratto di membrana amniotica: potenzia la riepitelizzazione attraverso due meccanismi: fornisce un substrato simile alla membrana basale e contiene numerosi fattori di crescita derivati dall'epitelio (HGF, EGF, FGF, e KGF) (82, 83).

Conclusioni

- Il Sistema della Superficie Oculare è un insieme di elementi anatomo-funzionali strettamente interconnessi tra di loro che si agiscono all'unisono al fine di mantenere la qualità ottica refrattiva e proteggere la struttura oculare.
- Epitelio congiuntivale, epitelio corneale, ghiandole lacrimali e film lacrimale sono le strutture portanti di questo sistema, la cui omeostasi è indispensabile per la salute dell'occhio.
- Nell'occhio secco la superficie oculare perde la sua omeostasi e va incontro a gradi variabili di infiammazione, con liberazione di citochine che stimolano i numerosi nocicettori presenti.
- Il trattamento dell'occhio secco deve tener conto di tre aspetti: l'infiammazione, l'instabilità del film lacrimale e la protezione dell'epitelio.
- I corticosteroidi topici sono i farmaci di primo impiego nel trattamento dell'infiammazione
- I mucomimetici ripristinano la stabilità del liquido lacrimale e migliorano la sintomatologia.
- Gli osmoprotettori, i preservanti delle proteine cellulari, i secretogoghi e i modulanti la riepitelizzazione sono utili per proteggere l'epitelio.

Bibliografia

1. Toft R. & Friend J. "The Ocular Surface" *Int Ophthalm. Clinics*, Lippincott. Boston 1979.
2. Rolando M, Zierhut M. The ocular surface and tear film and their dysfunction in dry eye disease. *Surv Ophthalmol* 2001; 45:5203-10.
3. Stern ME, Beuerman RW, Fox RI, et al. The pathology of dry eye: the interaction between the ocular surface and lacrimal glands. *Cornea*. 1998 Nov; 17(6):584-9.
4. Chandler JW, Gillette TE. Immunologic defense mechanisms of the ocular surface. *Ophthalmology*. 1983 Jun; 90(6):585-91.
5. Stern ME, Beuerman RW, Pflugfelder SC. The normal tear film and ocular surface. In: Pflugfelder SC, Beuerman RW, Stern ME, eds. *Dry Eye and Ocular Surface Disorders*. New York, NY: Marcel Dekker, Inc; 2004:41-62.
6. Gilbard JP, Farris RL, Santamaria J. Osmolarity of tear microvolumes in keratoconjunctivitis sicca. *Arch Ophthalmol*. 1978; 96:677-681.
7. Rolando M, Barabino S, Mingari C, et al. Distribution of conjunctival HLA-DR expression and the pathogenesis of damage in early dry eyes. *Cornea*. 2005 Nov; 24(8):951-4.
8. Ehlers N, Heegaard S, Hjortdal J, et al. Morphological evaluation of normal human corneal epithelium. *Acta Ophthalmol*. 2010 Dec; 88(8):858-61.
9. Krachmer JH. *Cornea: Fundamentals, diagnosis and management*, Volume 1. Mosby, 2005.
10. Yang H, Reinach PS, Koniarek JP, et al. Fluid transport by cultured corneal epithelial cell layers. *Br J Ophthalmol*. 2000 Feb; 84(2):199-204.
11. Levin MH, Verkman AS. Aquaporin-3-dependent cell migration and proliferation during corneal re-epithelialization. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006 Oct; 47(10):4365-72.
12. Levin MH, Verkman AS. Aquaporins and CFTR in ocular epithelial fluid transport. *J Membr Biol*. 2006 Mar; 210(2):105-15.
13. Thoft RA, Friend J. The X, Y, Z hypothesis of corneal epithelial maintenance. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1983 Oct; 24(10):1442-3.
14. Lavker RM, Dong G, Cheng SZ, et al. Relative proliferative rates of limbal and corneal epithelia. Implications of corneal epithelial migration, circadian rhythm, and suprabasally located DNA-synthesizing keratinocytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1991 May; 32(6):1864-75.
15. Schlötzer-Schrehardt U, Kruse FE. Identification and characterization of limbal stem cells. *Exp Eye Res*. 2005 Sep; 81(3):247-64.
16. Ordóñez P, Di Girolamo N. Limbal epithelial stem cells: role of the niche microenvironment. *Stem Cells*. 2012 Feb; 30(2):100-7.
17. Kinoshita S, Adachi W, Sotozono C, et al. Characteristics of the human ocular surface epithelium. *Prog Retin Eye Res*. 2001 Sep; 20(5):639-73.
18. Wilson SE, Mohan RR, Mohan RR, et al. The corneal wound healing response: cytokine-mediated interaction of the epithelium, stroma, and inflammatory cells. *Prog Retin Eye Res*. 2001 Sep; 20(5):625-37.
19. Wilson SE, Netto M, Ambrósio R Jr. Corneal cells: chatty in development, homeostasis, wound healing, and disease. *Am J Ophthalmol*. 2003 Sep; 136(3):530-6.
20. Buck RC. Cell migration in repair of mouse corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1979 Aug; 18(8):767-84.
21. Lambiase A, Manni L, Bonini S, et al. Nerve growth factor promotes corneal healing: structural, biochemical, and molecular analyses of rat and human corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000 Apr; 41(5):1063-9.
22. You L, Kruse FE, Völcker HE. Neurotrophic factors in the human cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000 Mar; 41(3):692-702.
23. Müller LJ, Vrensen GF, Pels L, et al. Architecture of human corneal nerves. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1997 Apr; 38(5):985-94.
24. Müller LJ, Marfurt CF, Kruse F, Tervo TM. Corneal nerves: structure, contents and function. *Exp Eye Res*. 2003 May; 76(5):521-42.
25. Marfurt CF, Cox J, Deek S, Dvorscak L. Anatomy of the human corneal innervation. *Exp Eye Res*. 2010 Apr; 90(4):478-92.
26. Garcia-Hirschfeld J, Lopez-Briones LG, Belmonte C. Neurotrophic influences on corneal epithelial cells. *Exp Eye Res*. 1994 Nov; 59(5):597-605.
27. Nakamura M, Nishida T, Ofuji K, et al. Synergistic effect of substance P with epidermal growth factor on epithelial migration in rabbit cornea. *Exp Eye Res*. 1997 Sep; 65(3):321-9.
28. Nishida T, Nakamura M, Ofuji K, et al. Synergistic effects of substance P with insulin-like growth factor-1 on epithelial migration of the cornea. *J Cell Physiol*. 1996 Oct; 169(1):159-66.
29. Belmonte C, Acosta MC, Gallar J. Neural basis of sensation in intact and injured corneas. *Exp Eye Res*. 2004 Mar; 78(3):513-25.
30. Millodot M, Lamont A. Influence of menstruation on corneal sensitivity. *Br J Ophthalmol*. 1974 Aug; 58(8):752-6.
31. Millodot M. The influence of pregnancy on the sensitivity of the cornea. *Br J Ophthalmol*. 1977 Oct; 61(10):646-9.
32. Riss B, Binder S, Riss P, Kemeter P. Corneal sensitivity during the menstrual cycle. *Br J Ophthalmol*. 1982 Feb; 66(2):123-6.
33. Benítez del Castillo JM, Wasfy MA, Fernandez C, Garcia-Sanchez J. An in vivo confocal masked study on corneal epithelium and subbasal nerves in



patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004 Sep; 45(9):3030-5.

34. Belmonte C. Eye dryness sensations after refractive surgery: impaired tear secretion or "phantom" cornea? *J Refract Surg.* 2007 Jun; 23(6):598-602.

35. Lemp MA. Report of the National Eye Institute/Industry workshop on Clinical Trials in Dry Eyes. *CLAO J.* 1995 Oct; 21(4):221-32.

36. Belmonte C, Acosta MC, Schmelz M, Gallar J. Measurement of corneal sensitivity to mechanical and chemical stimulation with a CO₂ esthesiometer. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999 Feb; 40(2):513-9.

37. Benítez-Del-Castillo JM, Acosta MC, Wassfi MA, et al. Relation between corneal innervation with confocal microscopy and corneal sensitivity with noncontact esthesiometry in patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007 Jan; 48(1):173-81.

38. Aragona P, Di Stefano G, Ferreri F, Spinella R, Stilo A. Sodium hyaluronate eye drops of different osmolarity for the treatment of dry eye in Sjögren's syndrome patients. *Br J Ophthalmol.* 2002 Aug; 86(8):879-84.

39. Kunert KS, Tisdale AS, Gipson IK. Goblet cell numbers and epithelial proliferation in the conjunctiva of patients with dry eye syndrome treated with cyclosporine. *Arch Ophthalmol.* 2002 Mar; 120(3):330-7.

40. Guzman-Aranguez A, Argüeso P. Structure and biological roles of mucin-type O-glycans at the ocular surface. *Ocul Surf.* 2010 Jan; 8(1):8-17.

41. Redfern RL, Patel N, Hanlon S, Farley W, Gondo M, Pflugfelder SC, McDermott AM. Toll-like receptor expression and activation in mice with experimental dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013 Feb 28; 54(2):1554-63.

42. Pisella PJ, Brignole F, Debbasch C, et al. Flow cytometric analysis of conjunctival epithelium in ocular rosacea and keratoconjunctivitis sicca. *Ophthalmology.* 2000 Oct; 107(10):1841-9.

43. Stern ME, Gao J, Schwalb TA, et al. Conjunctival T-cell subpopulations in Sjögren's and non-Sjögren's patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002 Aug; 43(8):2609-14.

44. Gulati A, Sacchetti M, Bonini S, Dana R. Chemokine receptor CCR5 expression in conjunctival epithelium of patients with dry eye syndrome. *Arch Ophthalmol.* 2006 May; 124(5):710-6.

45. Yoon KC, De Paiva CS, Qi H, et al. Expression of Th-1 chemokines and chemokine receptors on the ocular surface of C57BL/6 mice: effects of desiccating stress. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007 Jun; 48(6):2561-9.

46. De Paiva CS, Chotikavanich S, Pangelinan SB, et al. IL-17 disrupts corneal barrier following desiccating stress. *Mucosal Immunol.* 2009 May; 2(3):243-53.

47. Barabino S, Montaldo E, Solignani F, et al. Immune response in the conjunctival epithelium of

patients with dry eye. *Exp Eye Res.* 2010 Oct; 91(4):524-9.

48. Baudouin C, Brignole F, Pisella PJ, et al. Flow cytometric analysis of the inflammatory marker HLA DR in dry eye syndrome: results from 12 months of randomized treatment with topical cyclosporin A. *Adv Exp Med Biol.* 2002; 506(Pt B):761-9.

49. Meller D. The fine structure of chromatin alterations in conjunctival epithelial cells in keratoconjunctivitis sicca. *Cornea.* 1999 Mar; 18(2):225-32.

50. Brignole F, Pisella PJ, Goldschild M, et al. Flow cytometric analysis of inflammatory markers in conjunctival epithelial cells of patients with dry eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000 May; 41(6):1356-63.

51. Chen YT, Lazarev S, Bahrami AF, et al. Interleukin-1 receptor mediates the interplay between CD4⁺ T cells and ocular resident cells to promote keratinizing squamous metaplasia in Sjögren's syndrome. *Lab Invest.* 2012 Apr; 92(4):556-70.

52. Tatlipinar S, Akpek EK. Topical ciclosporin in the treatment of ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol.* 2005 Oct; 89(10):1363-7.

53. Donnenfeld E, Pflugfelder SC. Topical ophthalmic cyclosporine: pharmacology and clinical uses. *Surv Ophthalmol.* 2009 May-Jun; 54(3):321-38.

54. Aragona P, Bucolo C, Spinella R, et al. Systemic omega-6 essential fatty acid treatment and PGE1 tear content in Sjögren's syndrome patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005 Dec; 46(12):4474-9.

55. Barabino S, Rolando M, Camicione P, et al. Systemic linoleic and gamma-linolenic acid therapy in dry eye syndrome with an inflammatory component. *Cornea.* 2003 Mar; 22(2):97-101.

56. Brignole-Baudouin F, Baudouin C, Aragona P, et al. A multicentre, double-masked, randomized, controlled trial assessing the effect of oral supplementation of omega-3 and omega-6 fatty acids on a conjunctival inflammatory marker in dry eye patients. *Acta Ophthalmol.* 2011 Nov; 89(7):e591-7.

57. Xu ZZ, Zhang L, Liu T, et al. Resolvins RvE1 and RvD1 attenuate inflammatory pain via central and peripheral actions. *Nat Med.* 2010 May; 16(5):592-7, 1p following 597.

58. He J, Bazan HE. Omega-3 fatty acids in dry eye and corneal nerve regeneration after refractive surgery. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2010 Apr-Jun; 82(4-6):319-25.

59. Camillieri G, Bucolo C, Rossi S, Drago F. Hyaluronan-induced stimulation of corneal wound healing is a pure pharmacological effect. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2004 Dec; 20(6):548-53.

60. Aragona P, Papa V, Micali A, et al. Long term treatment with sodium hyaluronate-containing artificial tears reduces ocular surface damage in patients with dry eye. *Br J Ophthalmol.* 2002 Feb; 86(2):181-4.

61. Lindsay B. *J Pharm Pharmacol* 2002;54 (supplement).

62. Rolando M, Valente C. Establishing the tolerability and performance of tamarind seed polysaccharide (TSP) in treating dry eye syndrome: results of a clinical study. *BMC Ophthalmol.* 2007 Mar 29; 7:5.
63. Versura P, Profazio V, Balducci N, Campos EC. Efficacy of two-month treatment with Xiloal eyedrops for discomfort from disposable soft contact lenses. *Clin Ophthalmol.* 2010 Sep 20; 4:1035-41.
64. Smiddy M, Sleator RD, Patterson MF, et al. Role for compatible solutes glycine betaine and L-carnitine in listerial barotolerance. *Appl Environ Microbiol.* 2004 Dec; 70(12):7555-7.
65. Aragona P, Di Pietro R, Spinella R, Mabrì M. Conjunctival epithelium improvement after systemic pilocarpine in patients with Sjögren's syndrome. *Br J Ophthalmol.* 2006 Feb; 90(2):166-70.
66. Takamura E, Tsubota K, Watanabe H, et al. A randomised, double-masked comparison study of diquafosol versus sodium hyaluronate ophthalmic solutions in dry eye patients. *Br J Ophthalmol.* 2012 Oct; 96(10):1310-5.
67. Takeji Y, Urashima H, Aoki A, Shinohara H. Rebamipide increases the mucin-like glycoprotein production in corneal epithelial cells. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2012 Jun; 28(3):259-63.
68. Kashima T, Akiyama H, Miura F, Kishi S. Resolution of persistent corneal erosion after administration of topical rebamipide. *Clin Ophthalmol.* 2012; 6:1403-6.
69. Nakamura M, Endo K, Nakata K, Hamano T. Gefarnate stimulates secretion of mucin-like glycoproteins by corneal epithelium in vitro and protects corneal epithelium from desiccation in vivo. *Exp Eye Res.* 1997 Oct; 65(4):569-74.
70. Toshida H, Nakata K, Hamano T, et al. Effect of gefarnate on the ocular surface in squirrel monkeys. *Cornea.* 2002 Apr; 21(3):292-9.
71. Jackson RS 2nd, Van Dyken SJ, McCartney MD, Ubels JL. The eicosanoid, 15-(S)-HETE, stimulates secretion of mucin-like glycoprotein by the corneal epithelium. *Cornea.* 2001 Jul; 20(5):516-21.
72. Jumblatt JE, Cunningham LT, Li Y, Jumblatt MM. Characterization of human ocular mucin secretion mediated by 15(S)-HETE. *Cornea.* 2002 Nov; 21(8):818-24.
73. Noda-Tsuruya T, Asano-Kato N, Toda I, Tsubota K. Autologous serum eye drops for dry eye after LASIK. *J Refract Surg.* 2006 Jan-Feb; 22(1):61-6.
74. Alio JL, Arnalich-Montiel F, Rodriguez AE. The role of "eye platelet rich plasma" (E-PRP) for wound healing in ophthalmology. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012 Jun; 13(7):1257-65.
75. Versura P, Profazio V, Buzzi M, et al. Efficacy of standardized and quality-controlled cord blood serum eye drop therapy in the healing of severe corneal epithelial damage in dry eye. *Cornea.* 2013 Apr; 32(4):412-8.
76. Wang C, Shi X, Chen X, et al. 17- β -estradiol inhibits hyperosmolarity-induced proinflammatory cytokine elevation via the p38 MAPK pathway in human corneal epithelial cells. *Mol Vis.* 2012; 18:1115-22.
77. Faraldi F, Papa V, Santoro D, et al. A new eye gel containing sodium hyaluronate and xanthan gum for the management of post-traumatic corneal abrasions. *Clin Ophthalmol.* 2012; 6:727-31.
78. Bonini S, Lambiase A, Rama P, et al. Topical treatment with nerve growth factor for neurotrophic keratitis. *Ophthalmology.* 2000 Jul; 107(7):1347-51.
79. Choi JS, Joo CK. Wakayama symposium: new therapies for modulation of epithelialization in corneal wound healing. *Ocul Surf.* 2013 Jan; 11(1):16-8.
80. Kim SY, Yang J, Lee YC. The effects of nicergoline on corneal nerve regeneration in rat corneas after photorefractive keratectomy. *Curr Eye Res.* 2011 Jan; 36(1):29-33.
81. Porcu M, Guarna F, Formentini L, et al. Carboxymethyl beta-glucan binds to corneal epithelial cells and increases cell adhesion to laminin and resistance to oxidative stress. *Cornea.* 2007 Jan; 26(1):73-9.
82. Shahriari HA, Tokhmehchi F, Reza M, Hashemi NF. Comparison of the effect of amniotic membrane suspension and autologous serum on alkaline corneal epithelial wound healing in the rabbit model. *Cornea.* 2008 Dec; 27(10):1148-50.
83. Liang L, Li W, Ling S, et al. Amniotic membrane extraction solution for ocular chemical burns. *Clin Experiment Ophthalmol.* 2009 Dec; 37(9):855-63.

Coordinatore scientifico**Pietro Cazzola****Managing Editor****Antonio Di Maio**

Con il contributo educativo non condizionato di Farmigea S.p.A.



Cod. 1000489

SCRIPTA medica

Direttore Responsabile

Pietro Cazzola

Direttore Generale

Armando Mazzù

Grafica e impaginazione

Stefania Cacciaglia

Redazione e Amministrazione

Scripta Manent s.n.c.

Via Bassini, 41 - 20133 Milano

Tel. 0270608091 - 0270608060 - Fax 0270606917

E-mail: scriman@tin.it

Web site: www.salutepertutti.it

Registrazione

Tribunale di Milano n. 383 del 28/05/1998

Iscrizione al Registro Nazionale della Stampa n.10.000

Stampa

Lalitotipo,

Settimo Milanese (MI)

EDIZIONI SCRIPTA MANENT

pubblica inoltre:

ARCHIVIO ITALIANO DI UROLOGIA E ANDROLOGIA

RIVISTA ITALIANA DI MEDICINA DELL'ADOLESCENZA

JOURNAL OF PLASTIC DERMATOLOGY

JOURNAL OF ECOLOGICAL DERMATOLOGY

UPDATE IN PLASTIC SURGERY

HUMAN TRICHOLOGY

EUROPEAN JOURNAL OF ACNE

A.N.E.S.

ASSOCIAZIONE NAZIONALE
EDITORIA PERIODICA SPECIALIZZATA



CONFINDUSTRIA



*È vietata la riproduzione totale o parziale, con qualsiasi mezzo, di articoli, illustrazioni e fotografie pubblicati su Scripta MEDICA senza autorizzazione scritta dell'Editore.
L'Editore non risponde dell'opinione espressa dagli Autori degli articoli.*

Diffusione gratuita. Ai sensi della legge 675/96 è possibile, in qualsiasi momento, opporsi all'invio della rivista comunicando per iscritto la propria decisione a: Edizioni Scripta Manent s.n.c. - Via Bassini, 41 - 20133 Milano

Zero conservanti

XILOIALZERO

