

# IL DOLORE CORNEALE E I FARMACI DELLA CORNEA

Giorgia della Rocca

Professore Associato, Facoltà di Medicina Veterinaria di Perugia, Dipartimento di Patologia, Diagnostica e Clinica veterinaria, Sezione di Medicina Interna

Presentato alla giornata a tema ANVO "LA CORNEA" – Milano, 24 ottobre 2010

## IL DOLORE CORNEALE

### INTRODUZIONE

La cornea rappresenta una struttura complessa in cui è necessario l'equilibrio di molte componenti anatomiche e fisiologiche. Alterazioni anatomiche dirette o indirette e la perdita delle caratteristiche fisiologiche che caratterizzano tale struttura producono cambiamenti patologici corneali che sono di solito rappresentati da edema, presenza di vasi neoformati, con conseguente possibile infiltrato cellulare, fibrosi, cicatrizzazione, pigmentazione, perdita di sostanza (Pizzirani, 2006).

A queste modificazioni spesso può associarsi la presenza di dolore.

Alcune condizioni cliniche comuni, quali secchezza oculare o congiuntiviti, solitamente sono associate a livelli moderati di disagio oculare, che è in genere considerato accettabile da parte del clinico. Dolore intenso può invece manifestarsi nell'ambito di alcuni disturbi oculari (cheratiti, uveiti, scleriti, neuriti ottiche, glaucoma ad angolo chiuso, endoftalmiti) e a seguito di traumi e di interventi di chirurgia oculare; tale dolore, spesso sintomo acuto e transitorio della malattia, può in particolari circostanze evolvere verso un dolore neuropatico, cronico e persistente (Belmonte et al., 2004).

La presenza e l'intensità del dolore dipendono dall'innervazione sensitiva corneale e dai processi fisiopatologici che possono verificarsi a tale livello in relazione con le diverse condizioni patologiche.

### INNERVAZIONE CORNEALE

L'innervazione sensoriale di occhio, orbita e annessi oculari deriva dalla branca oftalmica del trigemino, ed è assicurata da un numero relativamente basso di neuroni sensoriali primari localizzati nel ganglio trigeminale ipsilaterale (rappresentanti circa l'1,5% del numero totale dei neuroni del ganglio). Tuttavia, le ridotte dimensioni della cornea e la vasta ramificazione degli assoni periferici dei neuroni corneali rende ragione del fatto che questa struttura rappresenti il tessuto più densamente innervato del corpo (Pizzirani, 2006; Belmonte et al., 2004).

La distribuzione dei nervi sensoriali nocicettivi (che traducono le sensazioni dolorose) non segue quella delle vie nervose che sottendono la funzione sensoriale visiva, poiché le strutture oculari responsabili di quest'ultima (retina e nervo ottico) sono completamente prive di recettori in grado di percepire tocco e dolore. Al contrario, la cornea è ricchissima in terminali nervosi. L'elevata sensibilità al dolore propria di questa struttura serve verosimilmente ad attivare il riflesso palpebrale e quindi comportamenti di evitamento nei confronti di stimoli nocivi, nell'ottica di proteggere l'occhio nei confronti di possibili traumi. Un notevole numero di nocicettori, inclusi quelli per il calore, sono anche localizzati nel tratto uveale, soprattutto nell'iride. A livello di orbita, la presenza di terminali nocicettivi nei muscoli extraorbitali, nello strato durale del nervo ottico e nella periorbita, si rende responsabile della sensazione di dolore qualora tali strutture vadano incontro a stiramento (Fox, 1998).

L'innervazione corneale è sostenuta, come anticipato, dalla branca somatica oftalmica del V paio di nervi cranici ed in misura modesta da fibre simpatiche e forse parasimpatiche. Le fibre nervose entrano in maniera radiale al limbo con un plesso epiteliale e con 14-18 fibre

stromali più grosse. Le fibre si dividono numerose volte in maniera dicotomica e si distribuiscono fittamente allo stroma anteriore ed all'epitelio (Pizzirani, 2006). Tutti gli assoni periferici dei neuroni della cornea perdono la guaina mielinica quando entrano nello stroma corneale, dove risultano raggruppati in un numero variabile di fasci nervosi orientati radialmente. Poi si ramificano estesamente, formando un plesso sottoepiteliale da cui rami sottili emergono attraversando lo strato di Bowman, e si immettono nello strato basale dell'epitelio. A questo livello, corrono parallelamente alla superficie corneale, terminando negli strati superficiali dell'epitelio corneale (Belmonte et al., 2004).

Oltre ad avere funzione afferente per la sensazione corneale, le fibre nervose rilasciano neuropeptidi (principalmente sostanza P e peptide correlato al gene della calcitonina CGRP), che hanno effetto neuromodulatore su fisiologia dell'epitelio corneale, proliferazione, differenziazione, migrazione ed adesione cellulare e sono fondamentali non solo per una corretta fisiologia, ma anche per la guarigione epiteliale. La mancanza di una normale attività neurotrofica porta alla formazione di difetti ulcerativi o degenerativi corneali. Lo stroma posteriore ha invece scarsa innervazione (Pizzirani, 2006).

La sensazione corneale nel cane è maggiore al centro che alla periferia, con la porzione ventrale della cornea che risulta meno sensibile. Inoltre, in relazione ad una diversa densità di fibre nervose, la sensazione corneale è più sviluppata in cani dolicocefali rispetto a quelli mesocefali, con i brachicefali che dimostrano circa la metà della sensibilità rispetto ai dolicocefali.

Anche nel gatto la sensazione corneale è maggiore al centro che non alla periferia, con la cornea dorsale e ventrale che si dimostra la meno sensibile. Gatti brachicefali (himalaiano e persiano) hanno sensibilità corneale diminuita rispetto a gatti domestici comuni. Anche nel gatto le fibre nervose provengono dai nervi ciliari posteriori lunghi, penetrano la cornea radialmente dal limbo con 16-20 tronchi principali e si dividono dicotomicamente, per distribuirsi all'epitelio e allo stroma anteriore (Pizzirani, 2006, Kafarnik et al., 2008).

### **Classificazione delle fibre nocicettive corneali**

I neuroni corneali possono essere classificati, a seconda delle dimensioni e della presenza di una guaina di mielina attorno all'assone, in fibre sottili mieliniche (fibre A-delta, che nel topo rappresentano il 30% del totale) e in fibre amieliniche (tipo C, 70%). Questa caratteristica si riflette anche sulla velocità con cui gli impulsi nervosi vengono condotti dalla periferia al sistema nervoso centrale, molto più elevata lungo gli assoni dei neuroni A-delta (in media  $6 \text{ m s}^{-1}$ ) rispetto a quella dei neuroni C (inferiore a  $2 \text{ m s}^{-1}$ ).

Gli assoni corneali appaiono morfologicamente omogenei, tuttavia studi immunoistochimici hanno indicato la presenza di diversi neuropeptidi all'interno del soma cellulare e nelle fibre assonali periferiche dei neuroni corneali, suggerendo che essi sono funzionalmente eterogenei. Circa il 58% dei neuroni della cornea risulta immunoreattivo nei confronti del CGRP, e il 20% di questi contiene anche sostanza P (SP). Studi elettrofisiologici hanno peraltro confermato la presenza di fibre sensitive corneali funzionalmente differenti.

Circa il 20% dei neuroni sensoriali presenti a questo livello è rappresentato da fibre sottili e mieliniche, in grado di rispondere solo a forze meccaniche prossime a quelle necessarie a danneggiare le cellule epiteliali corneali. Tali fibre, definite mecano-nocicettori, vengono attivate, dando luogo a uno o più impulsi nervosi, comunque in numero limitato, a seguito di insulti in grado di provocare una breve o prolungata rientranza della superficie corneale. Questo pattern di risposta identifica tali fibre in recettori sensoriali fascici, responsabili di segnalare la presenza dello stimolo e, in misura molto limitata, la sua intensità, ma non di codificare la sua durata. La soglia necessaria per attivare questi recettori è apparentemente bassa (circa  $0,6 \text{ mN}^1$ ), ben al di sotto di quella necessaria all'attivazione

---

<sup>1</sup> N = Newton =  $\text{kg m/s}^2$

dei nocicettori meccanici presenti sulla pelle. Va ricordato, tuttavia, che questa intensità potrebbe essere sufficiente a danneggiare l'epitelio corneale non cheratinizzato. I mecano-nocicettori della cornea sono probabilmente responsabili della sensazione di dolore acuto e tagliente prodotto da un contatto meccanico con la superficie della cornea.

La maggior parte delle fibre sensitive della cornea (circa il 70%), definite nocicettori polimodali, risulta attivata da stimoli meccanici, ma può anche rispondere al calore, a sostanze chimiche irritanti esogene e ad una grande varietà di mediatori chimici endogeni (protoni, ioni potassio, ATP, prostaglandine ed altri metaboliti dell'acido arachidonico, amminoacidi, ammine, citochine, chinine, fattori di crescita, etc.) rilasciati dal tessuto corneale danneggiato (prodotti da cellule infiammatorie o provenienti dall'essudato plasmatico proveniente dai vasi **limbali** coinvolti dal processo infiammatorio). Alcuni dei nocicettori polimodali appartengono al gruppo delle fibre sottili mieliniche, ma la maggior parte di essi sono rappresentati da fibre di tipo C. I nocicettori polimodali rispondono agli stimoli con impulsi nervosi caratterizzati da una frequenza di scarica continua e irregolare che persiste per tutta la durata dello stimolo e che risulta in genere proporzionale all'intensità della forza stimolante. Pertanto, la scarica dei nocicettori segnala non solo la presenza di uno stimolo nocivo, ma ne codifica anche l'intensità e la durata. I nocicettori polimodali hanno una soglia meccanica di attivazione leggermente inferiore a quella dei mecano-nocicettori e, quando stimolati dal calore, si attivano per temperature superiori a 39-40°C. Una frazione di fibre polimodali (circa il 50%) si attiva anche quando la temperatura corneale scende al di sotto dei 29°C. I nocicettori polimodali contribuiscono, insieme con i mecano-nocicettori, al dolore intenso di origine meccanica che si verifica quando la cornea è esposta ad uno stimolo meccanico acuto, ma sono anche la principale fonte di dolore causato da irritazione chimica o da calore o freddo. Durante l'infiammazione, i mediatori rilasciati a livello locale stimolano i nocicettori polimodali, determinandone una scarica continua che produce una sensazione di dolore prolungata.

Un'altra categoria di fibre nervose corneali, che rappresenta il 10-15% della popolazione totale, è rappresentata dai recettori sensibili al freddo, corrispondenti a fibre A-delta e C; tali fibre, che scaricano spontaneamente a riposo, aumentano la loro frequenza di scarica quando la temperatura superficiale della cornea (che in condizioni normali è di circa 33°C) diminuisce, non rispondendo invece alle temperature elevate. Essi sono in grado di aumentare la loro frequenza di scarica non appena la temperatura della cornea diminuisce a causa dell'evaporazione sulla superficie corneale, dell'applicazione sulla cornea di soluzioni fredde o di aria fredda che soffia sulla cornea, essendo in grado di individuare e codificare, con un cambiamento nella frequenza degli impulsi, anche piccolissime variazioni di temperatura (pari o inferiori a 0,1 °C).

Infine è stato suggerito che nella cornea siano presenti anche nocicettori "silenti", ovvero terminali nervosi che nei tessuti sani non si attivano neanche a seguito di insulti meccanici o termici ma che, quando sia presente infiammazione locale, diventano sensibili a tali stimoli nonché ad una gran varietà di sostanze chimiche endogene.

Una stimolazione all'interno del campo recettivo corneale porta alla depolarizzazione dei terminali delle fibre nervose e alla trasmissione dell'impulso lungo l'assone. I campi recettivi funzionali dei mecano-nocicettori e dei nocicettori polimodali sono ampi e comprendono spesso una parte dell'adiacente episclera. I recettori per il freddo sono invece caratterizzati da campi recettivi limitati, presenti a livello di cornea e di zona **perilimbale**, dove sono abbondanti ed esibiscono campi recettivi ancora più piccoli (*spot-like*).

La cornea risulta anche innervata da un piccolo numero di fibre nervose spesse, mielinizzate e a conduzione veloce (fibre A-beta), che innervano anche la episclera perilimbale. Queste fibre rispondono a stimoli meccanici delicati e presumibilmente

contribuiscono alle sensazioni evocate da una stimolazione meccanica dolce a carico della superficie oculare, come quella prodotta dallo sbattere delle palpebre.

Le stesse classi funzionali di neuroni sensoriali afferenti identificati nella cornea e nell'episclera, cioè i nocicettori meccanici, polimodali e termici, innervano anche la congiuntiva bulbare, la superficie sclerale, l'iride e i corpi ciliari (Belmonte et al., 2004).

## BASI FISIOPATOLOGICHE DEL DOLORE CORNEALE

Quando uno stimolo meccanico, termico o chimico si avvicina a livelli critici, le fibre nervose sensitive iniziano a scaricare con una frequenza che aumenta rapidamente e proporzionalmente all'ampiezza dello stimolo, raggiungendo un livello massimo quando si produce un evidente danno cellulare.

Una caratteristica di spicco dell'attività dei nocicettori polimodali della cornea è che quando uno stimolo nocivo (es. il riscaldamento della superficie corneale) si ripete all'interno di un intervallo di pochi minuti, la soglia di attivazione si abbassa e la frequenza di scarica in risposta a tale stimolo aumenta. Inoltre, la fibra sviluppa spesso una attività spontanea di bassa frequenza e continua.

La diminuzione della soglia, l'aumentata reattività e la maggiore attività spontanea delle fibre nervose causata da ripetuti stimoli nocivi fanno parte del processo di "sensibilizzazione", una proprietà specifica che è presente nei neuroni nocicettivi di tutti i tessuti somatici superficiali e profondi, inclusi quelli corneali.

Il fenomeno della sensibilizzazione fa seguito a svariati meccanismi patogenetici che si sviluppano e si succedono proporzionalmente all'entità del danno, facendo sì che la reattività dei neuroni afferenti corneali a stimoli meccanici e chimici diventi anormale. Di conseguenza, gli impulsi nervosi si avviano sia spontaneamente che in risposta a stimoli che in condizioni normali non ecciterebbero le terminazioni nervose intatte.

Alcuni dei suddetti meccanismi vengono elencati di seguito.

1) *Sensibilizzazione periferica.* A seguito del danno tissutale, le cellule danneggiate, quelle gliali e quelle prossime al tessuto leso rilasciano mediatori endogeni pro-infiammatori. Questi agenti chimici endogeni mediano numerosi cambiamenti cellulari e molecolari che caratterizzano la reazione infiammatoria locale, ma hanno anche effetti a breve e lungo termine sulle proteine di membrana (recettori e canali ionici) situate a livello delle terminazioni nervose nocicettive. I mediatori infiammatori interagiscono con tali proteine aumentando o diminuendo la loro attività, con conseguenti modificazioni del potenziale di membrana e dell'eccitabilità generale del terminale nervoso. Solo alcuni dei numerosi mediatori infiammatori identificati quali responsabili di determinare sensibilizzazione dei nocicettori in altri territori (protoni,  $K^+$ , citochine, ammine, chinine, metaboliti dell'acido arachidonico, neurotrofine, peptidi) sono stati testati direttamente sulla cornea per esplorarne il potenziale eccitatorio/sensibilizzante sulle fibre nervose corneali: le prostaglandine, prodotte in loco a seguito del clivaggio dell'acido arachidonico ad opera delle ciclossigenasi, e la bradichinina, formata a partire da un precursore proteico plasmatico o liberata dalle cellule infiammatorie locali, rappresentano due importanti mediatori infiammatori responsabili di eccitare e sensibilizzare i nocicettori polimodali corneali. La sensibilizzazione è la causa della sensazione di dolore sostenuto e prolungato che deriva da tessuti fortemente danneggiati e della loro ipersensibilità a nuovi stimoli nocivi (iperalgia primaria).

2. *Sensibilizzazione centrale.* Svariati neurotrasmettitori prendono parte alla trasmissione ascendente dell'informazione dolorifica al midollo spinale attraverso le sinapsi, e tra questi un ruolo preminente viene giocato da aminoacidi eccitatori, come il glutammato e l'aspartato, da peptidi, come la sostanza P e la neurochinina A e da prodotti ciclossigenasici del metabolismo dell'acido arachidonico, come la prostaglandina  $E_2$  ( $PGE_2$ ). L'attivazione di tali recettori si traduce con la progressione del segnale algico

lungo i neuroni di proiezione. Stimoli nocicettivi ripetitivi, derivanti da un danno tissutale, risultano in un cambiamento delle capacità di risposta dei neuroni delle corna dorsali, che si traduce in un aumento progressivo, durante tutta la durata dello stimolo, della loro attività. Ciò risulta in una riduzione della soglia di risposta dei neuroni di proiezione, in un aumento della loro sensibilità una volta che viene raggiunto il livello soglia, e in un aumento del campo di ricezione dei neuroni.

3) *Modificazioni traslazionali e trasrizzionali.* Un'inflammatione locale di lunga durata produce anche alterazioni più permanenti a carico dei terminali nocicettivi, compresa la modificazione della funzione e dell'espressione di strutture molecolari responsabili della trasmissione dello stimolo algico. Ciò è in parte causato da fattori di crescita, in particolare il fattore di crescita nervoso (NGF) che viene prodotto in grandi quantità da parte dei fibroblasti durante l'inflammatione e che, attraverso una cascata di eventi molecolari, si rende responsabile di una regolazione post-traslazionale, caratterizzata dalla fosforilazione di recettori e di canali ionici presenti nelle terminazioni nervose, che ne determina la loro sensibilizzazione<sup>2</sup>. Un altro fattore di crescita, il fattore neurotrofico di derivazione gliale (GDNF), che pure modifica la sua espressione durante gli stati infiammatori, agisce su una sottopopolazione di neuroni nocicettivi primari non peptidergici, a livello dei quali viene aumentata l'espressione di recettori e canali ionici che svolgono un ruolo chiave nell'amplificare il processo algico.

4) *Inflammatione neurogena.* Una caratteristica importante dei nocicettori peptidergici presenti a tutti i livelli inclusa la cornea, è che il loro contenuto in neuropeptidi viene rilasciato dalle terminazioni nervose in conseguenza della depolarizzazione della membrana e della scarica evocata da uno stimolo nocivo. CGRP e sostanza P, i principali neuropeptidi presenti nei neuroni del ganglio del trigemino, producono vasodilatazione, stravasamento di plasma e stimolazione del rilascio di citochine da parte delle cellule locali. Essi contribuiscono così agli stadi precoci della reazione infiammatoria locale, la cosiddetta inflammatione neurogena. È stato evidenziato come, nell'occhio, la stimolazione diretta delle fibre sensoriali corneali mediante stimoli elettrici o per applicazione sulla cornea di calore o di sostanze chimiche irritanti, come la capsaicina o detergenti, comporta il rilascio di CGRP. Questo effetto non si ottiene quando lo stimolo è rappresentato dall'applicazione di basse temperature, il che suggerisce che i neuroni peptidergici corneali appartengono principalmente alla classe dei nocicettori polimodali e che il rilascio di CGRP richiede una stimolazione vigorosa delle terminazioni nervose di tali recettori.

5) *Conduzione antidromica.* Quando gli stimoli nocivi sono limitati a una zona circoscritta della cornea, solo una frazione delle terminazioni nervose presenti nel campo ricettivo dei neuroni polimodali corneali risulta stimolata. Le terminazioni nervose così eccitate producono impulsi nervosi che si propagano in maniera centripeta, ma che possono anche procedere antidromicamente lungo collaterali non stimolati del neurone. Questa proprietà è verosimilmente responsabile del rilascio di neuropeptidi da parte di terminazioni nervose corneali che non sono state direttamente esposte agli stimoli, ma che sono state depolarizzate da un impulso nervoso antidromico. La depolarizzazione antidromica sembra essere all'origine della estensione a zone indenni della cornea e della congiuntiva della inflammatione neurogena che fa seguito ad una lesione corneale moderata. Lo

---

<sup>2</sup> L'NGF fosforila uno specifico recettore tirosina-chinasi (TrkA), presente nei terminali periferici della sottopopolazione di neuroni nocicettivi peptidergici. La fosforilazione del TrkA comporta l'attivazione di proteine Raf e Ras e di protein-kinasi attivate dai mitogeni (MAPK), che trasducono il segnale extracellulare in diverse risposte intracellulari attraverso una regolazione trascrizionale, traslazionale e post-traslazionale. Durante il processo infiammatorio, l'aumento dei livelli di NGF induce l'attivazione specifica di alcune MAP chinasi (p38 e ERK) a livello delle terminazioni nervose e dei soma cellulari dei neuroni nocicettivi. Nelle terminazioni nervose, la regolazione post-traslazionale, caratterizzata dalla fosforilazione di recettori e di canali ionici, determina la loro sensibilizzazione. Dopo il legame con NGF, trkA viene endocitato e trasportato a livello di soma dove induce una attivazione di lunga durata del p38.

stesso meccanismo potrebbe essere chiamato in causa per giustificare la comparsa di infiammazione a livello di iride e di corpo ciliare a seguito di lesioni corneali.

6) *Formazione di neuromi*. Quando la cornea risulta lesionata o accidentalmente o come conseguenza della sua manipolazione chirurgica, gli assoni dei neuroni corneali che formano i nervi corneali possono risultare danneggiati. Il danno può verificarsi a livello del loro ingresso nella cornea o ad ogni livello della loro traiettoria periferica all'interno dello stroma corneale o dell'epitelio. La morfologia e le proprietà funzionali di neuroni corneali che hanno subito una assotomia periferica possono cambiare in modo sostanziale. Di norma, il segmento periferico del nervo reciso va incontro a degenerazione walleriana nelle ore successive alla comparsa della lesione. L'area della cornea che risulta denervata in conseguenza della lesione viene invasa nel giro di pochi giorni dalla crescita di fibre contigue intatte. Inoltre, il moncone centrale dell'assone reciso si dilata e inizia a rigenerarsi, producendo germogli che crescono cercando di attraversare il tessuto cicatriziale e di penetrare nell'area denervata, e parallelamente le cellule del connettivale e gliali che lo circondano proliferano: si ha così la formazione di microneuromi, che rappresentano una modificazione morfologica a carico del neurone. Inoltre, a seguito di una assotomia, i neuroni corneali vanno incontro ad una serie di modificazioni molecolari che modificano sostanzialmente le loro proprietà funzionali. L'assenza, a seguito di un danno periferico, di segnali chimici che in condizioni normali vengono trasportati centripetamente lungo l'assone fino al soma del neurone, come l'NGF, modifica l'espressione dei geni che codificano per canali ionici (come quelli per il Na, largamente responsabili del formarsi e del propagarsi dell'impulso nervoso nell'assone e nel soma cellulare) e per proteine recettoriali, nel senso di un loro aumento. Recettori e canali ionici neoformati vengono trasportati distalmente dal flusso assonale e si accumulano a livello delle terminazioni del neuroma. Ciò determina una modificazione delle correnti del sodio presenti nei terminali del neuroma, favorendo lo sviluppo di scariche ectopiche tipiche delle terminazioni del neuroma. Questi cambiamenti non sono limitati al moncone di nervo: una eccitabilità anomala si sviluppa anche a livello di soma cellulare. Inoltre, tra i neuroni lesi a livello dell'assone e il corpo cellulare, si stabilisce un "cross-talk", che aumenta ulteriormente l'eccitabilità periferica e centrale.

Tutti questi meccanismi, più o meno associati tra loro, comportano lo sviluppo, a livello corneale e di strutture contigue, di attività elettrica spontanea, alterazione della soglia di eccitazione (nel senso di una sua riduzione) e una anomala risposta agli stimoli (Belmonte et al., 2004).

## DIAGNOSI DI DOLORE CORNEALE

Ad oggi ancora non esiste un sistema universalmente riconosciuto per valutare il dolore negli animali e, nella fattispecie, il dolore oftalmico è spesso molto difficile da diagnosticare.

Al di là di varie strategie (quali l'osservazione e la registrazione di risposte fisiologiche, neuroendocrine e metaboliche al dolore, nonché l'impiego di scale del dolore) che sono state investigate sia in via sperimentale che nella pratica clinica nel tentativo di individuare misure oggettive in grado di valutare il dolore acuto e cronico negli animali, che però non sempre rappresentano mezzi validi per l'individuazione di uno stato algico, al momento la diagnosi di dolore negli animali può essere effettuata esclusivamente sulla base della stima del potenziale livello di dolore che può essere raggiunto a seconda del danno subito dall'animale (applicando dunque un approccio antropomorfo, secondo il quale la presenza e l'intensità del dolore possono essere dedotte trasferendo agli animali esperienze riferite in medicina umana - diagnosi presuntiva) e sull'osservazione del comportamento dell'animale (diagnosi deduttiva) (della Rocca e Di Salvo, 2008).

E' così verosimile che, come accade nell'uomo, anche gli animali possano provare un dolore acuto, severo e spesso persistente a seguito di chirurgie corneali, traumi, corpi estranei, erosioni o infezioni a carico dell'epitelio corneale, o un dolore sordo caratterizzato da una componente infiammatoria in corso di cheratiti, iriti, uveiti, cicliti (infiammazione dei corpi ciliari) e glaucoma; al contrario, malattie oculari responsabili di condurre a cecità, come cataratta, glaucoma ad angolo aperto e patologie della retina, come il distacco, possono non essere accompagnate dalla presenza di dolore. La sensazione di fastidio/dolore dovuta alla presenza di un corpo estraneo sulla superficie dell'occhio deriva dalla interruzione della superficie dell'epitelio e dalla stimolazione meccanica del plesso subepiteliale. Quando l'epitelio corneale risulta abraso dal trauma, con conseguente esposizione delle fibre nervose dolorifiche, la condizione di disagio oculare può persistere anche quando il corpo estraneo sia stato rimosso. Le ulcere superficiali sono estremamente dolorose, verosimilmente in ragione della ampia innervazione corneale. Il glaucoma è spesso associato a dolore, ma in certi individui appare relativamente indolore. La proptosi dell'occhio è prevedibilmente dolorosa, e livelli variabili di dolore sono associati ai tumori orbitali. Interventi chirurgici oftalmici sono associati a livelli variabili di dolore. Dolore profondo e intenso deriva anche dal tratto uveale, specialmente dall'iride. Dolore acuto si produce a seguito di trazione o stiramento di tale struttura, che può far seguito ad un aumento improvviso della pressione intraoculare, da processi infiammatori o da uveite anteriore, a cui spesso si associano spasmi irritativi secondari dei muscoli intraoculari. Anche il glaucoma può, in alcune sue forme, essere associato alla presenza di dolore, all'origine del quale è stato ipotizzato l'instaurarsi di un danno strutturale a carico del nervo ottico, responsabile di dolore neuropatico.

Da ricordare comunque che, poiché è stato evidenziato come la distribuzione dei terminali nervosi nocicettivi corneali sia variabile a seconda della specie considerata (ad es. brachicefali vs. mesocefali), è verosimile che la risposta nocicettiva sia pure differente, dando luogo a reazioni variabili da individuo a individuo (Fox, 1998; Fox, 2010; Lascelles, xxxx). Parimenti, variazioni del livello di dolore percepito possono derivare da una diversa soglia individuale del dolore e dalla presenza di concomitanti fonti di dolore (molte patologie preesistenti, come ad es. stati di infiammazione o infezione, possono risultare estremamente dolorose). Inoltre, gli animali giovani, nonché i pazienti critici, tendono ad essere meno tolleranti al dolore e alle variazioni neurofisiologiche ad esso associate, al contrario di quelli anziani. Infine, va tenuto conto del fatto che un chirurgo inesperto può causare maggior trauma tissutale e conseguentemente maggior dolorabilità rispetto ad un chirurgo esperto.

In merito agli atteggiamenti comportamentali, va ricordato che le risposte degli animali al dolore possono essere estremamente variabili e contraddittorie, essendo soggette a notevoli variazioni specie specifiche e individuali. Aggressività verso altri animali o persone, o al contrario tendenza a nascondersi o a fuggire, portamenti e/o andature inusuali, incapacità a svolgere normali attività (es. riduzione del "grooming", defecazione e urinazione in casa), o viceversa esasperazione delle stesse (es. eccessiva tolettatura), vocalizzazioni e autotraumatismi sono solo alcuni dei possibili atteggiamenti comportamentali che possono accompagnare uno stato algico acuto, mentre la riduzione o l'assenza di attività, il cambio di abitudini, il ridotto interesse per l'ambiente circostante (es. interagire con il proprietario e giocare) e la perdita di peso che fa seguito all'inappetenza o al ridotto introito di cibo e acqua, sono tra i più frequenti comportamenti che possono essere individuati in un animale affetto da una patologia algica cronica (della Rocca e Di Salvo, 2008).

Virtualmente non ci sono studi che documentino l'espressione del dolore oftalmico negli animali domestici; tuttavia, segni come strizzamento o sfregamento degli occhi e lacrimazione, rappresentano probabili segni di dolore (Fox, 1998).

Il veterinario dovrebbe essere abile nel riconoscere i sintomi che indicano precocemente l'insorgenza di uno stato algico, in modo tale da riuscire ad intervenire su un dolore ancora lieve o moderato, prevenendone la progressione a dolore severo o addirittura refrattario al trattamento. Una corretta diagnosi del dolore e della causa che ne è alla base, una attenta valutazione delle condizioni del paziente e la scelta oculata dei farmaci più adeguati consentono di intervenire sulla condizione algica nel modo più efficace e sicuro, promuovendo non solo il benessere psico-fisico dell'animale ma anche e soprattutto permettendone una più rapida guarigione.

## PRINCIPI DI TERAPIA DEL DOLORE OCULARE

Il dolore associato a patologie oftalmiche può essere anche molto severo, necessitando di un pronto trattamento sia per ragioni etiche che nell'ottica di prevenire la progressione della patologia originaria (Fox, 2009).

Da un punto di vista terapeutico, l'approccio più logico è quello di effettuare un trattamento antalgico che tenga conto dei meccanismi patogenetici alla base del dolore, affrontando per tempo il processo patologico (spesso di origine infiammatoria) che fa seguito al danno ed evitando che si instauri un dolore neuropatico, più difficile da gestire.

Anestetici locali, farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS), corticosteroidi, atropina, oppioidi possono essere utilizzati localmente per contrastare il dolore oftalmico, pur se con le dovute accortezze per evitare la comparsa di effetti collaterali o un possibile ritardo della guarigione delle lesioni corneali. Le stesse categorie di farmaci possono essere impiegate per via sistemica, in questo caso tenendo sotto controllo non solo i possibili effetti collaterali, ma anche le possibili interazioni con altri farmaci (me).

In genere, trattamenti topici vengono effettuati per ottenere una buona analgesia in corso di patologie anteriori, mentre trattamenti sistemici si rendono necessari per quelle della porzione posteriore dell'occhio. Ad esempio, il dolore associato a uveiti anteriori o ad ulcere corneali risponde molto bene ai trattamenti topici, mentre le uveiti posteriori o la prosoptosi dell'occhio necessitano di trattamenti sistemici.

### **Analgesia topica**

Anestetici locali. Gli anestetici locali, come lidocaina, tetracaina, proparacaina, butacaina, ecc., forniscono una valida analgesia in molti problemi oftalmici anteriori, mentre non sembrano essere efficaci per trattare il dolore che derivi da patologie posteriori all'iride.

Il meccanismo d'azione è simile per tutti gli agenti comunemente usati: la loro funzione, una volta applicati al sito bersaglio, è quella di prevenire sia la generazione che la conduzione dell'impulso nervoso, attraverso il blocco della permeabilità della membrana cellulare al sodio. Il legame dell'anestetico ad uno specifico sito recettoriale causa quindi il blocco della normale depolarizzazione, con interruzione dell'impulso nervoso. La durata d'azione dipende dalla permanenza dell'agente al sito d'azione. Questo spiega perché spesso gli anestetici iniettabili sono associati ad agenti vasocostrittori.

La maggior parte degli anestetici locali sono basi deboli che a contatto con ambiente alcalino, come le lacrime, tendono a rilasciare in misura maggiore la porzione non ionizzata della molecola: è la porzione non ionizzata che, infatti, attraversa la membrana cellulare nervosa. Al contrario, se un agente anestetico è applicato od iniettato in un ambiente acido, come per esempio in presenza di infezione, la porzione ionizzata aumenta, con conseguente diminuita azione anestetica. All'interno del neurone, prevale invece la forma dissociata del farmaco, che ne garantisce l'attività.

Uno studio che ha comparato proparacaina e bupivacaina circa la durata di azione sull'occhio di coniglio e la tossicità corneale, ha evidenziato come aumentando il pH di soluzioni di bupivacaina da 5.7 a 6.5 se ne raddoppia la durata di azione, e che la bupivacaina risulta meno tossica sull'epitelio corneale rispetto alla proparacaina. Altri studi

hanno dimostrato che il tempo di comparsa dell'effetto anestetico di bupivacaina, lidocaina, procaina e benzocaina è di 1 minuto, che bupivacaina e lidocaina presentano un effetto analgesico più lungo di procaina e benzocaina e che la durata di azione di lidocaina e bupivacaina è più lunga quando le soluzioni prevedano un aggiustamento del pH.

Tutti gli anestetici locali interferiscono con la lacrimazione, producono gonfiore corneale e inibiscono la riepitelizzazione corneale risultando tossici nei confronti dell'epitelio corneale, rendendosi responsabili della possibile formazione di piccole ulcere e del prolungamento del tempo di guarigione di ulcere preesistenti. Inoltre, abolendo il dolore, gli anestetici locali riducono i riflessi protettivi e aumentano il rischio di ulteriori danni.

Corticosteroidi. I corticosteroidi, come desametasone, betametazone, prednisolone, prednisone, triamcinolone, ecc. sono molto utilizzati in corso di patologie oftalmiche anteriori, sulla base della loro capacità di inibire la risposta vascolare che caratterizza gli stadi precoci dell'infiammazione e di sopprimere le modificazioni persistenti e irreversibili che possono far seguito ai processi infiammatori cronici. Negli stadi tardivi dell'infiammazione infatti i glucocorticoidi sopprimono la formazione di fibroblasti, e la neovascolarizzazione. Essi possono essere pertanto particolarmente utili in tutte quelle condizioni traumatiche dove la componente infiammatoria sia particolarmente marcata (es. prolasso del globo oculare, contusioni con ifema), nelle infiammazioni non-piogene (episcleriti, uveiti, cheratiti non ulcerative), qualora si desideri determinare immunosoppressione (es. a seguito di trapianti corneali o di estrazione di cataratta) o quando si desideri ridurre il gonfiore e l'infiammazione che fanno seguito ad interventi di crio-chirurgia (ciclocrioterapia, crioepilazione per distichiasi, ecc.).

Al contrario, essi sono controindicati in presenza di ulcere corneali, in quanto ritardano la cicatrizzazione dell'epitelio, la proliferazione dei cheratinociti stromali e la deposizione di collagene, inibendo la guarigione.

FANS. L'uso dei FANS per il controllo del dolore oftalmico è fortemente motivato dal ruolo che le prostaglandine esercitano nel contribuire ai fenomeni della sensibilizzazione periferica e centrale. I FANS sono spesso considerati tra le alternative più sicure ai corticosteroidi, essendo privi dei possibili effetti collaterali di questi ultimi, quali l'aumento della pressione oculare, la progressione della cataratta, l'aumentato rischio di infezioni e la riduzione della formazione dello stroma corneale. Determinano una validissima analgesia e risultano molto efficaci nel trattamento del dolore che fa seguito a chirurgia rifrattiva e in condizioni di uveite. Pur sortendo un buon effetto analgesico in presenza di ulcere corneali, il loro impiego è controindicato in quanto ne inibiscono o ritardano la guarigione.

Atropina. L'istillazione di agenti cicloplegici (parasimpaticolitici) come l'atropina sembra fornire analgesia probabilmente come risultato dell'abolizione degli spasmi muscolari dei corpi ciliari che conseguono a dolore associato a patologie anteriori. E' pertanto indicata nel trattamento delle ulcere corneali. Dilatando la pupilla l'atropina è anche in grado di prevenire le sinechie posteriori.

Oppioidi. L'uso degli oppioidi nel dolore oculare è un concetto relativamente nuovo e ancora da verificare. La cornea è, in alcune specie, ricca di recettori oppioidi, e l'impiego topico di tali farmaci può fornire una buona analgesia in corso di ulcere corneali. Tuttavia essi possono ritardare la guarigione: nell'uomo e nel ratto l'uso di naltrexone, un mu-antagonista, viene utilizzato per velocizzare la guarigione delle ferite corneali (Lascelles, xxxx; Fox, 1998; Fox, 2010, Maggio e Pizzirani, 2006).

### **Analgesia sistemica**

Tutti gli analgesici sistemici correntemente utilizzati per trattare il dolore possono trovare impiego nel dolore oftalmico.

Tra gli *anestetici locali*, la lidocaina, somministrata per via sistemica, risulta particolarmente efficace e con scarsi effetti collaterali. La somministrazione retrobulbare di

anestetici locali viene comunemente effettuata in medicina umana in corso di procedure oftalmiche invasive.

Qualora somministrati per via sistemica, i *corticosteroidi* e i *FANS* non inibiscono la guarigione delle ulcere corneali in quanto la cornea non risulta vascolarizzata. Tuttavia, deve essere posta attenzione nel somministrare steroidi topicamente in cani o gatti che stiano ricevendo FANS per via orale o parenterale.

Gli *oppioidi* rappresentano validi farmaci analgesici in molte patologie oftalmiche, tuttavia va ricordato che essi, ad eccezione degli agonisti-antagonisti come il butorfanolo, possono causare costrizione pupillare.

Alcuni studi hanno evidenziato come la somministrazione sistemica di *gabapentina* sia in grado di determinare una significativa riduzione del dolore in corso di glaucoma, quando questo si sia reso responsabile della comparsa di una neuropatia.

La somministrazione di *tranquillanti e sedativi* (es. acepromazina e  $\alpha_2$ -agonisti), unitamente all'applicazione di *bendaggi oculari* e del *collare elisabettiano*, possono essere associati alla terapia antalgica allo scopo di prevenire eventuali autotraumatismi causati dal distress dolore-indotto.

Pochi sono al momento gli studi circa l'uso dell'*agopuntura* per il controllo del dolore oftalmico. In medicina umana sono però stati riportati riscontri favorevoli a seguito dell'applicazione di agopuntura in una serie di condizioni oftalmiche dolorose, come glaucoma, emicrania oftalmica, blefarospasmo, secchezza oculare e cheratocongiuntivite secca.

In generale, l'approccio terapeutico nella gestione del dolore oculare dovrebbe essere lo stesso di quello utilizzato nella gestione del dolore in altre sedi, e prevedere un'analgesia preventiva, multimodale e continuata nel periodo post-operatorio o comunque fino alla guarigione del danno. Un aspetto da tenere sempre in considerazione è la possibilità che il trattamento antalgico possa interferire con la guarigione delle ulcere corneali (Lascelles, xxxx; Fox, 1998, Fox, 2010).

## I FARMACI DELLA CORNEA

### INTRODUZIONE

La cornea può essere oggetto di numerose patologie dalle cause eziologiche variegata che, a prescindere dalla presenza o meno di dolore, devono essere trattate con i farmaci adeguati.

A seconda della patologia in atto, varie classi di farmaci, da sole o in associazione, possono essere prese in considerazione per trattare le patologie della cornea, e tra queste si ricordano gli antinfiammatori steroidei e non steroidei, gli antimicrobici, gli antivirali, gli antimicotici e gli immunomodulatori. Nell'ambito di ciascuna di queste classi, i diversi farmaci che ne fanno parte possono essere caratterizzati, a fronte di un meccanismo di azione spesso univoco, da comportamenti farmacocinetici talvolta variabili a seconda della molecola e della formulazione farmaceutica considerata che, condizionandone la disponibilità, ne influenzeranno l'efficacia e i possibili effetti collaterali. Diventa quindi di fondamentale importanza conoscere i meccanismi che regolano la disponibilità del farmaco nel suo sito di azione (me).

### DISPONIBILITA' DEI FARMACI A LIVELLO OCULARE

La risposta oculare ai farmaci è correlata alla concentrazione del principio attivo a livello di sito di azione (biofase). In corso di terapia oftalmica, la scelta del farmaco deve basarsi non solo sulla potenza del farmaco, ma anche sulle proprietà farmacocinetiche dello stesso, nell'ottica di poter selezionare la via di somministrazione e il dosaggio più adatti: questi infatti devono assicurare la presenza di una concentrazione effettiva di farmaco

nella biofase target per un appropriato periodo di tempo, limitandone la diffusione ad altre parti dell'occhio o di organismo. Il regime posologico e la via di somministrazione dovrebbero anche essere adattati al management clinico del paziente, in modo da ottenere la miglior *compliance* da parte del proprietario dell'animale.

Nonostante la porzione esterna dell'occhio sia facilmente e rapidamente raggiungibile a seguito della somministrazione di una formulazione oftalmica, non sempre si ottiene una valida distribuzione del farmaco all'occhio in ragione del fatto che quest'organo è estremamente particolare a causa della presenza di strutture e funzioni protettive. Meccanismi come l'ammiccamento, la lacrimazione e il drenaggio lacrimale, necessari a preservare l'attività visiva, favoriscono infatti la rapida rimozione del farmaco quando questo sia applicato sulla superficie oculare. Il globo stesso è protetto fisicamente da un duro strato, rappresentato da sclera e cornea, che serve ad impedire l'ingresso all'interno dell'occhio non solo di sostanze chimiche nocive ma anche di molecole terapeutiche. Inoltre, le strutture interne dell'occhio risultano anatomicamente isolate dalla circolazione sistemica grazie alla barriera emato-oculare, struttura fondamentale responsabile del mantenimento della delicata omeostasi dei fluidi endo-oculari ma anche di ostacolare l'accesso di farmaci somministrati per via topica o sistemica.

A seconda del sito target che deve essere raggiunto, i farmaci impiegati in oftalmologia possono essere somministrati localmente o per via sistemica; quando si vuole ottenere il rilascio del principio attivo nell'occhio bisogna pertanto considerare: a) se e quanto esso sia in grado di attraversare gli strati esterni del globo (congiuntiva, cornea e sclera) o la barriera emato-oculare per raggiungere un tessuto intraoculare; b) come localizzare l'azione del farmaco a livello di quel tessuto minimizzando gli effetti sistemici; c) come prolungare la durata di azione del farmaco in modo da ridurre la frequenza delle somministrazioni.

### **Somministrazione topica**

La somministrazione topica rappresenta la più frequente via di somministrazione dei farmaci oftalmici a causa dei suoi vantaggi, incluse la semplicità di applicazione e la facilità con cui questi possono raggiungere tessuti target sia extra- che intraoculari.

Il profilo farmacocinetico dei farmaci oftalmici applicati per via topica è influenzato da fattori precorneali (es. lacrimazione, drenaggio lacrimale) e dalle specifiche caratteristiche della formulazione che ne determinano il livello di penetrazione attraverso le varie strutture che compongono l'occhio.

#### Destino del farmaco dopo la sua applicazione locale

I colliri rappresentano le formulazioni farmaceutiche più frequentemente utilizzate in oftalmologia e consistono in soluzioni e sospensioni oftalmiche.

Quando un farmaco è applicato topicamente sull'occhio, può andare incontro a tre eventualità: può essere drenato dall'apparato naso-lacrimale, può penetrare all'interno dell'occhio attraverso vie corneali o non corneali e può essere assorbito nella circolazione sistemica via la congiuntiva e il naso-faringe.

*Drenaggio naso-lacrimale e turnover lacrimale.* Quando un collirio viene somministrato sulla superficie oculare, esso si miscela immediatamente con il film lacrimale. Poiché la fessura palpebrale è in grado di contenere solo 25-30  $\mu$ l di fluido, e il volume della maggior parte delle gocce oftalmiche supera di gran lunga tale volume, gran parte del liquido istillato passa nel sistema naso-lacrimale o fuoriesce dalla palpebra inferiore. La porzione di farmaco che entra nell'apparato naso-lacrimale fluisce nel naso-faringe e viene inghiottita, contribuendo così agli eventuali effetti collaterali sistemici. Un secondo meccanismo di clearance del farmaco è rappresentato dal continuo turnover del film lacrimale, che ha lo scopo di ripristinare il normale volume lacrimale. Questi meccanismi

sono responsabili della quasi completa scomparsa del farmaco applicato nel giro di 10 minuti.

La velocità con cui un farmaco istillato viene eliminato dalla superficie oculare a seguito del drenaggio naso-lacrimale è influenzato da tre principali fattori: il volume delle gocce somministrate, la frequenza di ammiccamento e la dinamica del flusso lacrimale. Maggiore è il volume istillato e più rapido sarà il suo drenaggio mediante il sistema naso-lacrimale. Pertanto una strategia per minimizzare la perdita di farmaco è rappresentata dalla riduzione del volume istillato che non dovrebbe superare i 5-15  $\mu$ l. Per la stessa ragione, l'istillazione di una goccia immediatamente dopo un'altra riduce la disponibilità del primo farmaco istillato, in quanto questo verrà drenato in quantità proporzionali all'intervallo di tempo intercorso tra le due istillazioni (si raccomanda di far passare almeno 10 minuti tra un'istillazione e la successiva). La dinamica del flusso lacrimale può alterare il tempo di permanenza del farmaco nel compartimento precorneale qualora questo sia irritante, in quanto si verifica un'aumentata lacrimazione e un aumento del riflesso di ammiccamento allo scopo di promuovere l'allontanamento del farmaco attraverso il sistema lacrimale.

*Penetrazione attraverso la cornea.* A seguito di applicazione oculare topica, i farmaci possono essere assorbiti negli stati interni dell'occhio attraverso la cornea o la congiuntiva/sclera. La velocità e l'entità di assorbimento attraverso l'una o l'altra via dipendono sia dalle caratteristiche di cornea, congiuntiva e sclera che dalle proprietà chimico-fisiche del farmaco. La cornea rappresenta la principale via di assorbimento dei farmaci oftalmici in quanto molti di essi sono stati sviluppati con adeguate caratteristiche di assorbimento corneale.

La cornea è composta microscopicamente da 3 strati, epitelio, stroma ed endotelio, con la fase acquosa (lo stroma) inserita fra due strati lipidici (epitelio ed endotelio). Studi cinetici hanno dimostrato che un farmaco penetra l'epitelio corneale sia passando attraverso le cellule (via transcellulare), che diffondendo tra di esse (via paracellulare) attraverso giunzioni serrate. La penetrazione transcellulare è appannaggio solo di molecole liposolubili, stante la natura lipofila dell'epitelio, mentre i movimenti paracellulari sono possibili per molecole idrofile di piccole dimensioni. Se lo strato epiteliale rappresenta una barriera limitante nei confronti di farmaci altamente polari, lo stroma al contrario, con il suo 78% di contenuto acquoso, consente il passaggio di composti caratterizzati da elevata solubilità in acqua e funge da barriera per le molecole lipofile. La permeabilità dell'endotelio dipende sia dalla liposolubilità dei farmaci che dalla loro grandezza molecolare, ma essendo questa struttura composta da un monostrato cellulare che presenta numerose fenestrature, il passaggio è consentito sia per le molecole idrofile che per quelle lipofile. Pertanto, perché un farmaco oftalmico possa efficacemente attraversare la cornea, deve possedere caratteristiche di solubilità intermedia, risultando solubile entro un certo grado sia in olio che in acqua, così da essere in grado di attraversare sia l'epitelio che lo stroma.

Molti farmaci oftalmici, essendo acidi o basi deboli, risultano presenti in soluzione sia in forma dissociata (ionizzata) che indissociata (non ionizzata). Quando tali farmaci vengono applicati sull'occhio, è prevalentemente la forma indissociata che penetra attraverso l'epitelio corneale. Il passaggio paracellulare è invece molto scarso per le molecole che si trovano in forma ionizzata. Una volta che la base libera raggiunge lo stroma, la sua concentrazione comporta la reazione di conversione dalla forma indissociata a quella dissociata, che va incontro a diffusione stromale. Una volta raggiunto l'endotelio, si ottiene un'altra forma di equilibrio, e il passaggio attraverso l'endotelio, stante la sua discreta permeabilità, è consentito sia per molecole ionizzate che non ionizzate.

L'assorbimento corneale può essere influenzato da vari fattori, come il pH o l'osmolarità della formulazione utilizzata, il possibile legame con le proteine presenti nel film lacrimale e la presenza di lesioni corneali.

In caso di farmaci ionizzabili, il pH della formulazione oftalmica e quello del fluido lacrimale ne condizionano l'entità di penetrazione influenzando il rapporto all'equilibrio tra forma ionizzata e forma non ionizzata: piccole variazioni di pH possono modificare sostanzialmente il livello di dissociazione del farmaco nella formulazione. Usando soluzioni tamponate, il pH può essere aggiustato in modo tale da incrementare la proporzione della frazione indissociata della molecola farmacologica, facilitandone così il passaggio attraverso l'epitelio corneale.

A seguito dell'istillazione di soluzioni iperosmotiche di farmaco spesso si verifica un incremento della lacrimazione (allo scopo di ripristinare il giusto livello di osmolarità sulla superficie oculare), che rimuovendo il farmaco dai tessuti oculari, ne riduce la concentrazione e quindi l'assorbimento.

I farmaci possono andare incontro a legame con le proteine presenti nel film lacrimale precorneale: la frazione legata non è così disponibile per l'assorbimento, che risulta ulteriormente ridotto in corso di stati infiammatori in cui il contenuto proteico risulta incrementato.

Farmaci idrofili, che penetrano scarsamente attraverso l'epitelio corneale intatto, raggiungono elevati livelli intra-corneali qualora lo stato epiteliale risulti danneggiato o infiammato. La presenza di un danno epiteliale non modifica invece il passaggio di molecole lipofile, che comunque attraversano l'epitelio molto rapidamente.

*Assorbimento non corneale.* Per assorbimento non corneale si intende quello che avviene attraverso sclera e congiuntiva. Esso è piuttosto rilevante per quanto riguarda le molecole molto idrofile e di elevate dimensioni, che non sono in grado di attraversare lo strato corneale. La congiuntiva risulta infatti più permeabile della cornea (per passaggio paracellulare del farmaco), e tale permeabilità non prevede grandi discriminazioni tra farmaci ionizzati e non ionizzati (data la ricchezza in vie paracellulari che contraddistinguono la membrana congiuntivale).

Una volta che il farmaco abbia attraversato la congiuntiva, può raggiungere eventuali bersagli di azione intraorbitali o diffondendo attraverso la sclera e così bypassando la camera anteriore (la permeabilità sclerale è 4 e 10 volte superiore a quella corneale rispettivamente per farmaci idro- e liposolubili), o, una volta assorbito nel tessuto congiuntivo-sclerale, entrando nei vasi sclerali che irrorano l'uvea, in particolare l'arteria ciliare anteriore, e depositandosi all'interno dei corpi ciliari.

Allo stato attuale non sono ancora stati formulati farmaci per i quali sia incentivata la penetrazione non corneale, ma è probabile che ciò potrà essere ottenuto mediante l'impiego di sistemi microparticolati. (es. nanoparticelle).

*Assorbimento sistemico.* Come precedentemente menzionato, una gran parte del collirio applicato a livello oftalmico viene drenato dal sistema naso-lacrimale (dove il farmaco, soprattutto se liposolubile, può essere assorbito dallo strato vascolarizzato del dotto naso-lacrimale e dalla mucosa del naso-faringe), o può passare, attraverso i vasi fenestrati localizzati a livello di sclera/congiuntiva, direttamente nella circolazione sistemica. Entrambi questi meccanismi sono indesiderati poiché contribuiscono a ridurre gli effetti locali del farmaco e ad aumentare il rischio di effetti collaterali sistemici (anche perché in questo modo non vanno incontro a metabolismo pre-epatico).

Una riduzione dell'assorbimento vascolare può essere promossa sia riducendo il drenaggio lacrimale (nell'uomo mediante occlusione naso-lacrimale o chiusura delle palpebre), che aumentando la penetrazione oculare. E' stato anche proposto di ridurre l'*uptake* di farmaco dalla congiuntiva inducendo vasocostrizione a livello di mucosa nasale e congiuntivale mediante l'applicazione topica di alfa-agonisti.

#### Destino del farmaco all'interno dell'occhio

Una volta che il farmaco sia penetrato, dopo la sua applicazione locale, all'interno dell'occhio, la sua distribuzione a livello di tessuto target è fondamentale per il suo

successo terapeutico. I farmaci che diffondono attraverso la cornea passano inizialmente nell'umor acqueo e poi vengono distribuiti al corpo ciliare, all'iride, alla lente e al corpo vitreo. In genere i livelli che vengono raggiunti a livello di iride e corpi ciliari sono simili a quelli che si hanno nell'umor acqueo, mentre quelli che si ottengono in lente e corpo vitreo sono consistentemente inferiori. Qualora i farmaci penetrino attraverso vie non corneali, la loro concentrazione nei corpi ciliari e nell'iride è invece molto maggiore di quella ottenuta nell'umor acqueo, in quanto la penetrazione sclerale non prevede il passaggio in quest'ultimo.

Il ricambio acquoso sembra rappresentare la principale via di eliminazione dei farmaci dall'occhio, anche se una riduzione delle concentrazioni oculari di farmaco si attua anche attraverso il flusso ematico retinico o mediante processi quali il legame con proteine tissutali o il metabolismo enzimatico. Iride e corpi ciliari sono fortemente pigmentati: l'accumulo di farmaco in questi tessuti, dovuto al legame con la melanina, riduce la concentrazione di farmaco libero disponibile per l'azione farmacologica (esistono alcune formulazioni ritardo che sfruttano proprio questo processo, in quanto il farmaco viene rilasciato lentamente e progressivamente dai pigmenti dando luogo ad un prolungamento dell'effetto), ma anche quella potenzialmente responsabile di effetti tossici locali. Il metabolismo può avere luogo durante il trasporto attraverso l'epitelio corneale o nei tessuti target. I principali enzimi metabolizzanti presenti a livello oculare sono rappresentati da esterasi, acetiltransferasi, catecol-O-metiltransferasi, monoaminoossidasi, enzimi lisosomiali, peptidasi e solfatotrasferasi. L'attività esterasica è particolarmente elevata nell'iride e nel corpo ciliare, seguita dalla cornea e dall'umor acqueo. A seconda della natura del farmaco, gli enzimi possono avere attività attivante o detossificante.

In genere l'applicazione oculare di soluzioni oftalmiche comporta un rapido innalzamento della concentrazione del farmaco, cui fa seguito un altrettanto rapido declino al di sotto dei range terapeutici, secondo una cinetica di primo ordine (→ la concentrazione di farmaco istillato disponibile nei tessuti target si riduce esponenzialmente via via che la soluzione viene rimossa dal sito di applicazione mediante il sistema naso-lacrimale e il turnover lacrimale). Qualora si utilizzi una sospensione oftalmica, la concentrazione di farmaco si innalza rapidamente, ma poiché la ritenzione delle particelle e la loro dissoluzione prolunga il tempo di contatto tra il farmaco e la superficie oculare, le concentrazioni efficaci permangono più a lungo (cinetica di ordine zero).

A causa dello scarso assorbimento delle formulazioni oftalmiche, sono stati effettuati svariati tentativi per aumentare la biodisponibilità dei principi attivi in esse contenuti, ideando sistemi in grado di prolungarne il tempo di ritenzione corneale (es. unguenti oftalmici, gocce oculari viscosi o gel oculari, sistemi di formazione di gel in situ, sistemi colloidali, emulsioni, dispositivi di rilascio topici) o di facilitarne la penetrazione corneale (es. utilizzando un profarmaco con caratteristiche chimico-fisiche più confacenti o aumentando temporaneamente la permeabilità della cornea mediante apposite sostanze).

## **Somministrazione perioculare e oculare**

### Somministrazione sottocongiuntivale

La somministrazione sottocongiuntivale può essere indicata per condizioni infettive o infiammatorie della cornea e delle porzioni anteriori dell'occhio, in relazione agli elevati e/o prolungati livelli di farmaco che si ottengono in queste strutture con questa modalità di trattamento, che può garantire livelli terapeutici di farmaco per 8-10 ore dopo una singola somministrazione di una soluzione idrosolubile e fino a 2-3 settimane se si utilizza un farmaco in sospensione.

A seconda della natura della patologia oculare, iniezioni sub-congiuntivali possono essere effettuate in aggiunta alla somministrazione di colliri, soprattutto nell'ottica di ridurre la frequenza di applicazione. Questa via è anche indicata nel periodo post-operatorio dopo

l'effettuazione di chirurgie oftalmiche. In genere la via sub-congiuntivale viene utilizzata per somministrare farmaci idrofili che non sono in grado di attraversare cornea o congiuntiva.

Il passaggio del farmaco dal sito di iniezione sub-congiuntivale ai segmenti anteriori dell'occhio può prevederle a) la diffusione diretta nella cornea e nella sclera e la penetrazione nella camera anteriore o nei tessuti circostanti, b) la fuoriuscita attraverso il foro di iniezione ed il passaggio trans-corneale dopo miscelazione con le lacrime e c) l'assorbimento nei vasi congiuntivali, l'ingresso nella circolazione sistemica e il ritorno nell'uvea anteriore.

Nonostante si ritenga che la somministrazione sub-congiuntivale comporti concentrazioni di farmaco più elevate nelle strutture anteriori dell'occhio rispetto a quelle posteriori, dati recenti suggeriscono che, con tale via, possano essere raggiunte concentrazioni efficaci anche nel corpo vitreo, grazie ad una diffusione diretta del farmaco attraverso la sclera.

#### Iniezioni retrobulbari e peribulbari

Iniezioni retro bulbari e peribulbari sono utilizzate per introdurre il farmaco nella cavità orbitale. Il farmaco diffonde poi rapidamente attraverso i tessuti orbitali e il retro dell'occhio. Oggigiorno tale via di somministrazione in oftalmologia veterinaria è utilizzata esclusivamente per effettuare anestesi regionali. L'anestesia retrobulbare viene utilizzata come procedura aggiuntiva in corso di chirurgie oculari per ridurre nistagmo e enoftalmo. Potenziali complicazioni dei blocchi retrobulbari includono perforazione del globo, danno al nervo ottico o a carico dei muscoli extraoculari ed emorragie orbitali.

#### Iniezioni intracamerale

L'iniezione o l'irrigazione di un farmaco nella camera anteriore dell'occhio è indicata durante la chirurgia, per controllare l'emorragia o il diametro pupillare, e nel trattamento di infezioni introculari avanzate. Intolleranza locale può manifestarsi con danno dell'epitelio della cornea, con conseguente edema corneale, e con lesioni all'iride e alla lente.

#### Iniezioni intravitreali

La somministrazione diretta di un farmaco nella cavità vitreale fornisce concentrazioni effettive nel sito bersaglio e trova applicazione in medicina umana nel trattamento di patologie del comparto posteriore. In veterinaria, i possibili rischi di tale procedura ne limitano l'impiego all'ablazione chimica dell'epitelio ciliare in corso di glaucoma avanzato e, meno frequentemente, nel trattamento di endofalmiti infettive.

### **Somministrazione sistemica**

La diffusione del farmaco presente nella circolazione sistemica nei siti intraoculari è fortemente limitata dalla barriera emato-oculare, per il passaggio della quale lipofilità, peso molecolare e legame farmaco-proteico rappresentano fattori determinanti. Farmaci idrofili penetrano scarsamente nell'umor acqueo di occhi non infiammati, mentre farmaci lipofili possono raggiungere concentrazioni intraoculari anche elevate (Regnier, 2007).

### **I FARMACI DELLA CORNEA**

Di seguito saranno trattati solo i farmaci antinfiammatori.

I tessuti oculari sono, come tutti i tessuti animali, soggetti ad insulti esterni od interni. Insulti meccanici, termici o chimici stimolano l'enzima fosfolipasi A, (PLA) a provocare il rilascio di acido arachidonico (AA) dal doppio strato fosfolipidico delle membrane cellulari. L'acido arachidonico viene successivamente metabolizzato attraverso due principali percorsi metabolici, la ciclossigenasi e la lipossigenasi, dando vita alla cosiddetta cascata dell'acido arachidonico. Da queste due vie originano, rispettivamente, prostagiandine (PG) e trombossani (TX) e leucotrieni ed acidi idrossieicosatetranoici. L'azione dei corticosteroidi si esplica principalmente a monte, attraverso l'inibizione della PLA2, e in

parte dell'enzima ciclossigenasi, mentre gli antinfiammatori non steroidei (FANS) inibiscono esclusivamente il ciclo della cicloossigenasi.

E' qui importante sottolineare il ruolo primario svolto dalle prostaglandine nell'infiammazione intraoculare. Uno dei principali effetti delle PG si traduce nella rottura delle barriere emato-oculari, attraverso la dissoluzione della continuità dell'endotelio vascolare. Sebbene inteso a rappresentare una difesa dei tessuti dalle aggressioni esterne ed interne, nella specifica sede intraoculare il processo infiammatorio pone una minaccia all'integrità dei tessuti ed alla trasparenza dei mezzi refrattivi. L'azione degli antinfiammatori oftalmici è in questo senso essenziale per controllare e prevenire i danni che derivano da una risposta infiammatoria eccessiva e le conseguenze permanenti ad essa legate (Maggio e Pizzirani, 2006).

## **Glucocorticoidi**

### Meccanismo di azione

Gli effetti fisiologici e terapeutici dei glucocorticoidi sono mediati da recettori che modulano l'espressione genica. I recettori per i glucocorticoidi (RG) fanno parte di una famiglia di recettori attivati da ormoni liposolubili, che comprende i recettori degli ormoni steroidei (glucocorticoidi RG, mineralcorticoidi RM, progestinici RP, estrogeni RE, androgeni RA), quelli degli ormoni tiroidei RT, quelli del calcitriolo RD e i recettori retinoidi RR.

I recettori per i glucocorticoidi ( $GR\alpha$  e  $GR\beta$ ) sono presenti in quasi tutte le cellule del corpo, incluse quelle di cornea, sclera, congiuntiva, iride, coroide e retina. Sono recettori intracellulari ad esclusiva localizzazione citoplasmatica in assenza di ormone; essi vanno incontro a traslocazione nucleare una volta che si forma il complesso glucocorticoide-recettore, e a ridiffusione dal nucleo al citoplasma a seguito del distacco dell'ormone.

Sono formati da monomeri caratterizzati da due invaginazioni mantenute in forma da un atomo di zinco, da cui l'appellativo di "dita di zinco". Queste due dita formano il dominio di legame con il DNA.

Nel citosol il GR è legato a formare un complesso eteromero (~ 300 kDA) con alcune proteine, quali il dimero hsp90 (heat shock protein-90), p23 e p56 (proteina immunofillina-correlata), che ne impediscono la traslocazione nel nucleo. hsp-90 mantiene il recettore in una conformazione ideale per il legame con l'agonista.

Quando l'agonista lega il recettore, hsp90 si dissocia dalla struttura recettoriale e il complesso farmaco-recettore trasloca nel nucleo dove attiva una sequenza di eventi che esitano nella induzione o nella inibizione di geni specifici.

Nella fattispecie si ha aumento dell'espressione genica di molecole che hanno un significativo effetto inibitorio sull'infiammazione, come l'Annexina 1 (o Lipocortina 1), che è uno specifico inibitore della fosfolipasi A (in grado quindi di prevenire il rilascio di acido arachidonico e di sopprimere di conseguenza la biosintesi degli eicosanoidi prodotti da ciclo- e da lipoossigenasi), il recettore IL-1 di tipo II, molecola che adesca l'IL-1 bloccando così i suoi effetti, l'inibitore della proteinasi secretoria dei leucociti, che è un enzima che blocca l'attivazione del fattore nucleare (NF)KB e la funzione dei neutrofilii.

Parallelamente si verifica l'inibizione genica nei confronti di molecole dotate di un significativo effetto pro-infiammatorio, quali citochine (IL1-IL6, IL11, IL13, IL16,  $TNF\alpha$ ), proteine chemotattiche, molecole di adesione intercellulare e vascolare (che riducono la migrazione infiammatoria di cellule nei tessuti), nitrossido-sintasi (che riduce il rilascio di NO) e COX (forma inducibile) (Badino e Re, 2009).

### Effetti sui tessuti

Gli effetti dei glucocorticoidi sui mediatori infiammatorie rendono ragione delle loro azioni sulle manifestazioni vascolari e cellulari del processo infiammatorio. Poiché queste azioni non sono specifiche, questi farmaci contrastano quasi tutti i tipi di infiammazione. I glucocorticoidi non inibiscono solo le risposte vascolari e cellulari caratteristiche delle fasi

precoci dell'infiammazione, ma sopprimono anche le modificazioni persistenti che contraddistinguono l'infiammazione cronica.

A livello cellulare infatti, l'attività dei corticosteroidi si manifesta inibendo i fenomeni di vasodilatazione e permeabilità vascolari, l'attività chemiotattica sulle cellule infiammatorie, la formazione di fibroblasti e di collagene, i fenomeni di neovascolarizzazione e promuovendo la stabilizzazione delle membrane lisosomiali.

Applicato a livello dei tessuti oculari, tutto questo si traduce in stabilizzazione della barriera emato-oculare, diminuita essudazione cellulare e di fibrina, riduzione dell'opacizzazione cicatriziale e della proliferazione vascolare. In più, il loro noto effetto sul sistema immunitario ne fa un farmaco di scelta anche nelle forme oculari immunomediate. Come già riportato, sono responsabili dell'inibizione della migrazione dei neutrofili e della loro aderenza all'endotelio vascolare nel tessuto danneggiato, ma inibiscono anche l'accesso dei macrofagi al sito infiammatorio e, per la loro azione inibitoria sulla codificazione di citochine come IL-1, IL-2, TNF ed IFN- $\gamma$ , interferiscono sull'attività linfocitaria, riducendo il numero dei linfociti T e B.

Quando utilizzati nel trattamento dell'uveite, i glucocorticoidi riducono l'iperemia e inibiscono il passaggio di proteine e leucociti nell'umor acqueo. La riduzione della vasodilatazione è in parte dovuta ad un'azione vasoconstrictrice a carico di piccoli vasi, nonché all'inibizione dell'effetto vasodilatatorio della nitrossido-sintasi.

I glucocorticoidi sono anche in grado di inibire la crescita a livello limbare di cellule vascolari che sono coinvolte nella neovascolarizzazione corneale che si osserva in diverse situazioni cliniche. Poiché inibiscono la capacità delle cellule infiammatorie di elaborare mediatori chemiotattici, i glucocorticoidi sono anche responsabile della notevole riduzione del reclutamento dei leucociti nelle aree infiammate. Studi sperimentali hanno dimostrato che la somministrazione locale di glucocorticoidi in occhi con infiammazione uveale o corneale, riduce in misura significativa la migrazione delle cellule infiammatorie nel sito oggetto del processo patologico. I glucocorticoidi sono anche in grado di sopprimere le fasi tardive dell'infiammazione inibendo la formazione dei fibroblasti e la loro attività collageno-produttrice, nonché mediante la riduzione della neovascolarizzazione post-infiammatoria.

Per tutti questi motivi, i glucocorticoidi vengono somministrati per il trattamento topico di cheratiti non ulcerative nell'ottica di sopprimere o prevenire la proliferazione neovascolare e la formazione di tessuto cicatriziale, nel tentativo di preservare la struttura e la trasparenza della cornea.

#### Vie di somministrazione

Nel trattamento delle infiammazioni oculari, i glucocorticoidi possono essere somministrati per via topica, sottocongiuntivale o sistemica.

L'*applicazione topica* è un metodo semplice e diretto di somministrazione oculare dei glucocorticoidi. Tale via è efficace nel trattamento di molte patologie a carico della porzione esterna dell'occhio e di processi infiammatori del segmento anteriore.

Formulazioni topiche a base di glucocorticoidi sono disponibili come soluzioni, sospensioni o unguenti. Le soluzioni garantiscono rapido assorbimento ed alte concentrazioni del farmaco nei tessuti, ma vengono anche rapidamente eliminate attraverso il sistema nasolacrimale. Le sospensioni e le pomate oftalmiche aumentano il tempo di contatto e le concentrazioni del farmaco nella cornea e nella camera anteriore, ma possono risultare più irritanti. I formulati a base di acetato o quelli alcolici, a causa della loro buona liposolubilità, penetrano la cornea meglio di preparati polari quali i sali di fosfato. In presenza di infiammazione intraoculare, gli steroidi acetati ed i derivati alcolici ottengono le massime concentrazioni intracamerale di farmaco, penetrando la cornea in misura pari a 20 volte quella delle basi solubili.

L'*iniezione sottocongiuntivale* di glucocorticoidi consente il raggiungimento di livelli elevati di farmaco nel segmento anteriore dell'occhio, oltre a ridurre la necessità di frequenti

istillazioni di un collirio. Somministrati per questa via, i glucocorticoidi possono penetrare nell'occhio attraverso la sclera, ma sembra che gran parte della quantità iniettata penetri nella camera anteriore a seguito del passaggio attraverso la cornea, dopo che il farmaco sia andato incontro a diffusione nella congiuntiva attraverso il foro generato con la puntura e a miscelazione con il film lacrimale. Il rilascio del farmaco è principalmente regolato dalla composizione biochimica del glucocorticoidi: i fosfati, solubili in acqua, vengono rapidamente assorbiti dal sito di iniezione ed hanno una breve durata di azione, mentre acetati e diacetati (es. metilprednisolone acetato e triamcinolone acetone), scarsamente idrosolubili, quando iniettati attraverso tale via formano dei depositi, garantendo un rilascio prolungato del principio attivo. Parimenti, sospensioni di betametazone fosfato possono essere somministrate per via sottocongiuntivale per il rilascio prolungato dello steroide. L'assorbimento delle sospensioni è infatti lento, garantendo livelli terapeutici per 2-3 settimane.

La *somministrazione peribulbare* è utilizzata negli esseri umani per fornire glucocorticoidi al segmento posteriore dell'occhio. Dopo iniezione peribulbare di desametazone, il farmaco si ritrova nel corpo vitreo a concentrazioni antinfiammatorie.

La *somministrazione intravitreale* di triamcinolone è stata recentemente indicata negli esseri umani come possibile via nel trattamento di edema maculare diabetico, retinopatia diabetica proliferativa, ipotonia oculare cronica **pre-phthisical**, uveite cronica e distacco essudativo di retina. La rilevanza clinica di questa procedura non è però stata valutata in oftalmologia veterinaria.

La *somministrazione sistemica* di glucocorticoidi viene impiegata principalmente nel trattamento delle infiammazioni a carico dei tessuti orbitali e dei segmenti posteriori dell'occhio, che sono difficili da raggiungere attraverso altre vie. Nell'uomo, la somministrazione orale di desametazone risulta nella presenza di concentrazioni intravitreali terapeutiche, nonostante queste non superino il 25% di quelle ottenute dopo somministrazione peribulbare.

#### Impieghi oftalmici

I glucocorticoidi risultano di particolare beneficio in molte patologie infiammatorie non piogene del globo e degli annessi, tanto che la loro popolarità porta a volte ad un uso indiscriminato.

L'uso topico oculare dei corticosteroidi viene riservato alle forme non infettive infiammatorie congiuntivali, del sistema naso-lacrimale, episclerali corneali ed uveali anteriori.

Sebbene siano state formulate numerose preparazioni per uso topico a base di glucocorticoidi con validi effetti terapeutici, è possibile che un composto risulti più efficace di un altro a seconda della localizzazione della patologia. Ad esempio, il sale sodico di desametazone o il betametazone sodio-solfato, che manifestano scarso assorbimento corneale ed effetto antinfiammatorio 5-7 volte superiore a quello del prednisolone, rappresentano i farmaci di scelta per il trattamento di infiammazioni oculari superficiali, quali blefariti, congiuntiviti e cheratiti non-ulcerative e non-infettive. Prednisolone acetato o desametazone in formulazione alcolica dovrebbero invece essere preferiti per trattare uveiti anteriori, sfruttando la loro migliore capacità di penetrazione. L'efficacia clinica delle formulazioni topiche a base di glucocorticoidi è aumentata qualora si adatti la frequenza delle applicazioni alla gravità dell'infiammazione: qualora questa sia severa, possono essere necessarie somministrazioni ogni ora, mentre condizioni infiammatorie lievi e coinvolgenti strutture esterne possono essere controllate da trattamenti ripetuti 2-3 volte al giorno. La dose può essere ridotta sulla base del miglioramento clinico ottenuto, e si consiglia di non cessare improvvisamente il trattamento poiché a ciò potrebbe conseguire una ripresa del processo infiammatorio.

La somministrazione sottocongiuntivale di glucocorticoidi può essere utilizzata per il controllo di alcune forme di cheratocongiuntivite non infettiva, di episcleriti o scleriti anteriori e nell'uveite anteriore. Grazie alla loro durata di azione, la somministrazione di glucocorticoidi *long-acting* può essere ripetuta a distanza di 2-3 settimane una dall'altra. Un potenziale problema associato alla somministrazione sottocongiuntivale di glucocorticoidi in formulazioni deposito consiste nella possibile formazione di granulomi nel sito di iniezione, che possono poi necessitare di escissione chirurgica.

La somministrazione sistemica di questi farmaci è frequentemente indicata in corso di patologie infiammatorie od immunomediate non infettive del segmento posteriore (nervo ottico, retina, coroide), dell'orbita o degli annessi oculari, dove l'applicazione topica è incapace di ottenere concentrazioni tessutali efficaci, nonché in presenza di ulcere corneali ed uveite, dove tale via viene preferita a quella topica.

Nei piccoli animali si utilizzano spesso glucocorticoidi a breve o media durata di azione come prednisone, prednisolone o metilprednisolone.

#### Effetti collaterali e controindicazioni

Il trattamento di alcune ferite o ulcere corneali con glucocorticoidi per uso topico occasionalmente esita in una rapida **malacia** stromale nell'area interessata. Studi in vitro dimostrano che i glucocorticoidi aumentano l'attività litica delle collagenasi corneali, suggerendo che tale effetto può essere responsabile di danni corneali in condizioni cliniche. Pertanto, l'applicazione topica di glucocorticoidi è generalmente controindicata in presenza di ulcere corneali. Al contrario, la somministrazione sistemica di tali farmaci sembra avere scarsa influenza sui processi di riparazione corneale e può pertanto essere effettuata in pazienti con ulcere corneali attive.

La somministrazione topica di glucocorticoidi viene effettuata di routine in corso di chirurgia oculare nell'ottica di ridurre l'infiammazione post-operatoria. Dati sperimentali però suggeriscono che i glucocorticoidi topici ritardano la guarigione corneale interferendo con la riepitelizzazione, con la proliferazione dei cheratinociti stromali e con il deposito di collagene. In vitro, il desametasone ha manifestato minori effetti citotossici del prednisolone su cellule epiteliali canine in coltura, pur se è risultato indurre un aumento significativo della proliferazione, dell'apoptosi e della necrosi in colture di cheratinociti corneali umani. Non è al momento noto se tali effetti si verificano anche in corso di chirurgia oculare in medicina veterinaria, pur se una ridotta riparazione corneale post-operatoria è stata segnalata a seguito della somministrazione sottocongiuntivale di glucocorticoidi. Sulla base di tali riscontri, il desametasone viene considerato il farmaco di scelta qualora un glucocorticoide sia indicato in un cane con difetti epiteliali corneali.

#### Effetti sulle infezioni oculari

I glucocorticoidi interferiscono con i meccanismi di difesa in quanto riducono il movimento dei leucociti dai vasi al sito di infezione e deprimono la fagocitosi dei batteri da parte dei macrofagi. Di conseguenza i glucocorticoidi possono potenzialmente attivare o esacerbare infezioni oculari batteriche, virale o fungine, e il loro impiego nel management delle infezioni oculari è ancora oggetto di dibattito.

In particolare, esistono pareri discordanti circa il ruolo della somministrazione topica di glucocorticoidi nel trattamento di cheratiti batteriche. Modelli sperimentali di cheratiti batteriche suggeriscono che il concomitante impiego di un glucocorticoide e di un antibiotico battericida non comporta un aumento della replicazione batterica.

In corso di infezioni oculari virali, come quella da herpesvirus felino, l'imprevedibilità dell'efficacia dei farmaci antivirali al momento disponibili induce ad argomentare circa l'impiego topico o sistemico di glucocorticoidi associato a quello di antivirali. E' stato sostenuto che la terapia con glucocorticoidi potrebbe essere giustificata solamente in presenza di cheratiti stromali severe, sebbene anche in questo caso sia considerata molto rischiosa.

Per le infezioni fungine, molti autori concordano nell'evitare l'uso di glucocorticoidi. Questi infatti aumentano le infezioni fungine quando somministrati per via topica o sottocongiuntivale, e qualora combinati con agenti antimicotici presentano effetti deleteri che risultano inversamente proporzionali all'efficacia dell'agente antifungino.

#### Altre complicazioni oculari

Glaucoma, cataratta posteriore subcapsulare, midriasi e cheratinopatie calcifiche rappresentano nell'uomo altre importanti complicazioni oculari che possono far seguito all'applicazione topica di glucocorticoidi.

#### Effetti collaterali sistemici

Complicazioni sistemiche che possono far seguito alla somministrazione topica e sottocongiuntivale dei corticosteroidi sono state segnalate nel cane, ma sono sicuramente meno frequenti di quelle collegate ad una terapia sistemica. La loro frequenza è sia dose che tempo-dipendente. Segni di epatopatia glucocorticoide-indotta, marcata riduzione della produzione di corticosteroidi ed eventualmente alopecia possono svilupparsi a seguito di una terapia oculare topica di lunga durata con glucocorticoidi (Maggi e Pizzirani, 2006, Regnier, 2007).

### **Farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS)**

#### Meccanismo di azione

Quasi tutti i tessuti oculari, ad eccezione del cristallino, sono in grado di convertire l'acido arachidonico in prostaglandine (la PGE<sub>2</sub> è il prostanoide predominante in corso di condizioni infiammatorie), principali responsabili dello sviluppo, in corso di processi infiammatori, di miopia, aumento della pressione intraoculare, alterazione della barriera emato-umorale, vasodilatazione associata ad aumento della permeabilità vascolare nella congiuntiva e nell'iride e neovascolarizzazione.

L'inibizione della cicloossigenasi (COX) rappresenta la base enzimatica dell'azione antinfiammatoria dei FANS. Tali farmaci infatti bloccano specificatamente la sintesi di prostaglandine a partire dall'acido arachidonico competendo con l'aracchinodato nei confronti dei siti di legame della COX. Sono state identificate due isoforme di COX: la COX-2, prevalentemente inducibile, che rappresenta il principale bersaglio dell'azione antinfiammatoria dei FANS, e la COX-1, forma prevalentemente costitutiva, la cui inibizione da parte dei FANS si rende responsabile degli effetti collaterali. Negli ultimi anni sono state individuate molecole dotate di maggior selettività nei confronti della COX-2 (es. carprofen, meloxicam, acido tolfenamico), nell'ottica di favorire gli effetti terapeutici a discapito di quelli collaterali.

#### Vie di somministrazione

FANS da impiegare per *via topica* sono stati sviluppati per aumentare la biodisponibilità oculare di questi composti, diminuendone gli effetti collaterali sistemici. Dopo somministrazione topica di diclofenac, si raggiungono elevati livelli di farmaco sia nella cornea infiammata che in quella sana, ma la diffusione nell'umor acqueo è scarsa in corso di infiammazione corneale. Il flurbiprofene non viene metabolizzato a livello oculare, e circa il 10% della dose somministrata penetra nella camera anteriore qualora applicato per via topica. Dati di farmacocinetica ottenuti nell'uomo indicano che dopo applicazione topica i livelli raggiunti nell'umor acqueo da flurbiprofene e diclofenac sono simili e raggiungono valori massimi in circa 2 ore, e che il diclofenac permane nella camera anteriore per un tempo più lungo rispetto al flurbiprofene. Nel cane, l'applicazione topica di flurbiprofene prima di un intervento di capsulotomia anteriore mediante laser diminuisce significativamente l'infiammazione a carico della camera anteriore e previene la risposta miotica. Tuttavia, una comparazione tra la somministrazione topica rispettivamente di flurbiprofene, diclofenac, tolmedine e suprofen ha evidenziato come il diclofenac risulti più efficace degli altri nello stabilizzare la barriera emato-umorale dell'occhio canino. Studi

condotti nel cane e nell'uomo indicano che l'indometacina somministrata topicamente penetra attraverso la cornea ed entra nell'umor acqueo in concentrazioni sufficienti a prevenire la sintesi *in situ* di prostaglandine e l'alterazione della permeabilità della barriera emato-umorale.

Sebbene la *somministrazione sottocongiuntivale* di flunixin meglumine si sia mostrata efficace nell'inibire l'accumulo locale di prostacicline in un modello di infiammazione oculare, questa via di somministrazione viene sconsigliata in quanto causa di infiammazione severa nel sito di inoculo.

La *somministrazione orale* di FANS è stata presa in considerazione nell'ottica di valutare la loro abilità nel controllare l'infiammazione di derivazione chirurgica nell'occhio di cane, ed ha evidenziato come tali farmaci sono in grado di inibire significativamente i danni indotti da diverse procedure sperimentali a carico della barriera emato-umorale.

Anche la *somministrazione parenterale* di flunixin meglumine si è dimostrata utile nel limitare la miosi associata ad una risposta irritativa dell'occhio.

#### Impieghi oftalmici ed effetti collaterali

L'impiego oftalmico dei FANS include indicazioni profilattiche e terapeutiche.

Essendo la risposta infiammatoria locale associata a procedure chirurgiche intraoculari parzialmente dipendente dal rilascio locale di prostaglandine, la somministrazione topica e/o sistemica di FANS viene effettuata di routine prima di un intervento di rimozione della cataratta, allo scopo di garantire uno stato costante di midriasi durante la chirurgia e di ridurre l'aumento delle proteine nell'umor acqueo conseguente alla permeabilizzazione della barriera emato-umorale.

I possibili effetti collaterali conseguenti all'impiego pre-operatorio di FANS per via topica includono irritazione oculare e tendenza all'aumento delle emorragie durante l'intervento. Essi possono anche rendersi responsabili di aumentare nel post-operatorio la pressione intraoculare, il che suggerisce di utilizzarli con cautela in cani predisposti al glaucoma. FANS somministrati per via topica sono pure raccomandati durante il periodo post-operatorio per ridurre l'infiammazione post-chirurgica ed evitare i possibili effetti indesiderati dei corticosteroidi sulla guarigione corneale.

In studi effettuati tempo addietro, ketorolac e suprofen sembravano non interferire con la guarigione corneale, mentre la somministrazione topica di flurbiprofene risultava associata ad una riduzione della compattezza dello stroma. Negli ultimi anni però l'impiego topico di diclofenac e di ketorolac in pazienti umani sottoposti a chirurgia oculare recente è stato associato a malacia e a perforazione stromale. Il meccanismo alla base di questo effetto indesiderato non è ancora stato completamente chiarito, ma si è riscontrato come l'ulcerazione corneale e la cheratolisi indotta da prodotti a base di diclofenac sia associata ad una espressione esagerata di metalloproteasi 8 nell'epitelio corneale di soggetti trattati. Tali problemi corneali associati all'impiego topico di FANS nel periodo perioperatorio non sono comunque riportati in oftalmologia veterinaria. Studi recenti suggeriscono comunque che l'uso topico perioperatorio dei FANS nel cane nel periodo perioperatorio può essere associato ad un ritardo nel ripristino dell'integrità epiteliale.

FANS sistemici somministrati sia prima che dopo una chirurgia possono indurre effetti indesiderabili quali intolleranza gastroenterica, emorragie, insufficienza renale e danni epatici. Farmaci di nuova generazione come il carprofen e il melodica manifestano un minore impatto sulla funzione renale e gastroenterica se comparati con ketorolac e chetoprofene.

Sebbene i FANS somministrati per via topica possono comportarsi da potenti inibitori della neovascolarizzazione corneale, la loro utilità clinica nel trattamento della cheratite è poco documentata in oftalmologia sia umana che veterinaria. Nell'uomo le cheratiti non infettive sembrano rappresentare una indicazione per l'uso topico dei FANS, in quanto è stato osservato che tali farmaci possono esacerbare le infezioni corneali batteriche. FANS per

uso topico non possono quindi essere considerati quali validi sostituti all'impiego topico di corticosteroidi in caso di cheratiti infettive, a causa del loro effetto variabile sulle infezioni oculari.

Studi recenti hanno evidenziato che il suprofen induce modificazioni citopatiche e ritardo dose-dipendente nella neoepitelizzazione qualora utilizzato su cellule epiteliali corneali canine in coltura, suggerendo un uso cauto di tale farmaco in soggetti con ulcere corneali. Sebbene il ruolo delle prostaglandine nelle uveiti spontanee non è ancora del tutto chiaro, l'impiego di FANS per via parenterale è stato raccomandato in cavalli con uveite anteriore di lunga data. L'impiego dei FANS nel trattamento delle uveiti nei piccoli animali non è stato investigato, ma la somministrazione combinata di FANS e glucocorticoidi per via sistemica viene raccomandato per il trattamento di iridocicliti severe nel cane e nel gatto. Studi sperimentali hanno evidenziato che in alcune forme di uveite, il trattamento con FANS potenzia l'infiltrazione leucocitaria nell'area infiammata, implicando che i FANS possono essere di nocimento nel trattamento di alcune forme di infiammazione oculare come l'uveite granulomatosa. A giustificazione di ciò è stato suggerito che l'inibizione selettiva delle COX possa incrementare l'attività lipoosigenasica, aumentando così la sintesi di leucotrieni (Maggio e Pizzirani, 2006; Regnier, 2007).

## RIASSUNTO

In questi ultimi anni, nell'uomo, a causa della elevata incidenza di condizioni di disagio e di alterazione della sensibilità della cornea facenti seguito ad interventi chirurgici rifrattivi o ad eventi traumatici a carico dell'occhio, si è sviluppato un discreto interesse per le basi neurali che sottendono la sensibilità corneale e congiuntivale, e numerosi studi di fisiopatologia sono stati condotti in tal senso.

La cornea presenta il più alto numero di terminali nervosi liberi del corpo, ed è pertanto particolarmente sensibile agli stimoli dolorosi. Le terminazioni nervose sensitive corneali, al pari di quelle cutanee, sono funzionalmente molto eterogenee: di esse, circa il 20% risponde esclusivamente a stimolazioni nocicettive meccaniche (meccano-nocicettori), il 70% risulta eccitato da temperature elevate, da sostanze chimiche irritanti esogene ed endogene e da mediatori infiammatori (nocicettori polimodali), e il restante 10% risulta sensibile al freddo, aumentando la frequenza di scarica a seguito del raffreddamento moderato della cornea (nocicettori termici).

Ciascuno di questi tipi di fibre sensoriali contribuisce distintamente a determinare la sensibilità corneale: l'entrata in gioco dei nocicettori meccanici è responsabile della comparsa del dolore acuto che si produce toccando la cornea, quella dei nocicettori polimodali è all'origine dell'irritazione e del dolore che accompagnano le ferite corneali, mentre i nocicettori termici evocano sensazioni di freddo. Pertanto, a seconda del tipo di stimolo e della conseguente attivazione dell'una o dell'altra sottopopolazione di fibre sensoriali corneali, vengono evocate sensazioni di irritazione e di dolore differenti per qualità ed intensità.

A seguito di insulti a carico della cornea, i nervi corneali vengono attivati e, oltre a trasmettere l'informazione nocicettiva a livello di centri di integrazione, contribuiscono alla reazione infiammatoria rilasciando a loro volta neuropeptidi come la SP e il CGRP (infiammazione neurogena). Essi risultano inoltre sensibilizzati ad opera di mediatori infiammatori locali, come le prostaglandine e la bradichinina, ed iniziano a mostrare attività spontanea, abbassamento della soglia di attivazione e aumento della risposta a stimoli subentranti, con conseguente comparsa di dolore spontaneo e di iperalgesia. Peraltro, qualora danneggiati dall'insulto, nel tentativo di ripristinare l'integrità, i nervi corneali possono andare incontro a processi di rigenerazione con formazione di microneuromi che, a causa di una alterata espressione di canali ionici nel soma e nei terminali nervosi rigenerati, presentano una reattività abnorme e tendono a scaricare spontaneamente, dando luogo a dolore neuropatico. Presumibilmente, questa alterata eccitabilità è all'origine dell'aumento della sensibilità, della disestesia, del dolore spontaneo, della sensazione di secchezza oculare e di altri fastidi riportati in soggetti sottoposti a chirurgia rifrattiva o a traumi oculari che coinvolgono la cornea.

Il dolore oculare può essere anche molto severo, necessitando di un pronto trattamento sia per ragioni etiche per nell'ottica di prevenire la progressione della patologia originaria.

Negli animali il dolore oftalmico è spesso difficile da diagnosticare, ma la sua presenza e intensità possono essere dedotte da casi analoghi riportati in medicina umana. Quindi è verosimile che anche gli animali possano provare un dolore sordo caratterizzato da una componente infiammatoria in corso di cheratiti, iriti, uveiti e glaucoma, e da un dolore acuto, severo e spesso persistente a seguito di chirurgie corneali, traumi, corpi estranei, erosioni o infezioni a carico dell'epitelio corneale.

Da un punto di vista terapeutico, l'approccio più logico è quello di effettuare un trattamento antalgico che tenga conto dei meccanismi patogenetici alla base del dolore, affrontando per tempo il processo patologico (spesso di origine infiammatoria) che fa seguito al danno ed evitando che si instauri un dolore neuropatico, più difficile da gestire.

Anestetici locali, farmaci antinfiammatori non steroidei, corticosteroidi, atropina, oppioidi possono essere utilizzati localmente per contrastare il dolore oftalmico, pur se con le

dovute accortezze per evitare la comparsa di effetti collaterali o un possibile ritardo della guarigione delle lesioni corneali. Le stesse categorie di farmaci possono essere impiegate per via sistemica, in questo caso tenendo sotto controllo non solo i possibili effetti collaterali, ma anche le possibili interazioni con altri farmaci.

L'approccio terapeutico nella gestione del dolore oculare dovrebbe essere lo stesso di quello utilizzato nella gestione del dolore in altre sedi, e prevedere un'analgesia preventiva, multimodale e continuata nel periodo post-operatorio o comunque fino alla guarigione del danno.

La cornea può essere oggetto di numerose patologie dalle cause eziologiche variegata che, a prescindere dalla presenza o meno di dolore, devono essere trattate con i farmaci adeguati.

A seconda della patologia in atto, varie classi di farmaci, da sole o in associazione, possono essere prese in considerazione per trattare le patologie della cornea, e tra queste si ricordano gli antinfiammatori steroidei e non steroidei, gli antimicrobici, gli antivirali, gli antimicotici e gli immunomodulatori. Nell'ambito di ciascuna di queste classi, i diversi farmaci che ne fanno parte possono essere caratterizzati, a fronte di un meccanismo di azione spesso univoco, da comportamenti farmacocinetici talvolta variabili da molecola a molecola, che ne condizioneranno l'efficacia e i possibili effetti collaterali.

#### BIBLIOGRAFIA CONSULTATA

1. Belmonte C, Acosta M.C., Gallar J., 2004. Neural basis of sensation in intact and injured corneas. *Experimental eye research*, 78, 513-525
2. Della Rocca G., Di Salvo A., 2008. Riconoscere il dolore nel gatto: fantascienza o realtà? *Rassegna di medicina felina*, 2008, n. 1, 7-14
3. Pizzirani S., 2006. Cornea e sclera. In Guandalini, Peruccio, Pizzirani eds "Oftalmologia Veterinaria", Poletto Editore, Milano, pp. 164-230
4. Maggio F., Pizzirani S., 2006. Farmacologia. In Guandalini, Peruccio, Pizzirani eds "Oftalmologia Veterinaria", Poletto Editore, Milano, pp.27-86
5. Kafarnik J., Fritsche S., Reese S., 2008. Corneal innervation in mesocephalic and brachycephalic dogs and cats: assessment using *in vivo* confocal microscopy. *Veterinary Ophthalmology*, 11, 6, 363–367
6. Lascelles D.B.X., xxxx. When the head hurts: managing dental, otic and ophthalmic pain, Proceedings of the Pfizer symposium "Pain management in pets: Clinical choices for real-life cases" held at the North American Veterinary Conference, 2002, pp. 21-26
7. Fox S.F., 1998. Managing ophthalmic pain. Proceedings of "Practical pain management. A clinical approach to everyday cases".- North American Veterinary Conference, .... , 12 jan 1998, pp. 99-102
8. Fox S.F. Chronic pain in selected physiological systems: ophthalmic, aural and dental. In Fox S.M "Chronic pain in small animal medicine", Manson Publishing, London, 2010, pp.202-210

9. Regnier A., 2007. Clinical pharmacology and therapeutics. Part 1. Drug delivery. In Gelatt K.N. "Veterinary Ophthalmology", 4<sup>th</sup> ed., Blackwell Publishing, Ames, Iowa, pp. 271-287
10. Regnier A., 2007. Clinical pharmacology and therapeutics. Part 2. Antimicrobials, anti-inflammatory agents, and antiglaucoma drugs. In Gelatt K.N. "Veterinary Ophthalmology", 4<sup>th</sup> ed., Blackwell Publishing, Ames, Iowa, pp. 288-...