



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Fisica e Astronomia “Galileo Galilei”

Corso di Laurea in Ottica e Optometria

TESI DI LAUREA

**Assunzione di acidi grassi essenziali come
trattamento della sindrome dell’occhio secco**

Relatore: Prof.ssa Stefania Bortoluzzi

Correlatore: Prof. Pietro Gheller

Laureanda: Sara Motta

Matricola: 1146663

Anno Accademico 2019-2020



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Fisica e Astronomia “Galileo Galilei”

Corso di Laurea in Ottica e Optometria

TESI DI LAUREA

**Assunzione di acidi grassi essenziali come
trattamento della sindrome dell’occhio secco**

Relatore: Prof.ssa Stefania Bortoluzzi

Correlatore: Prof. Pietro Gheller

Laureanda: Sara Motta

Matricola:1146663

Anno Accademico 2019-2020

INDICE

INTRODUZIONE	1
1. DEFINIZIONE DI DRY EYE DISEASE (DED)	2
2. CLASSIFICAZIONE DEL DED IN BASE ALL'EZIOLOGIA	3
2.1. Occhio secco da iperevaporazione (EDE).....	5
2.1.1. EDE associato alla palpebra (EDE intrinseco).....	5
2.1.1.1. Disfunzione della ghiandola di Meibomio (MGD).....	5
2.1.1.2. EDE associato all'apertura e alla dinamica palpebrali.....	8
2.1.2. EDE legato ad alterazione della superficie oculare.....	9
2.2. Occhio secco da insufficienza lacrimale (ADDE).....	9
2.2.1. Occhio secco da Sindrome di Sjögren (SSDE).....	9
2.2.2. Occhio secco non Sjögren (NSDE).....	10
3. IL CIRCOLO VIZIOSO DELL'OCCHIO SECCO	12
4. CENNI DIAGNOSTICI	14
4.1. Valutazione del film lacrimale.....	14
4.2. Il ruolo dei questionari.....	19
5. ACIDI GRASSI ESSENZIALI (EFA)	20
5.1. Acidi grassi essenziali come trattamento del DED.....	22
5.2. Dati sperimentali sull'efficacia del trattamento con EFA nel DED.....	25

CONCLUSIONI

BIBLIOGRAFIA

INTRODUZIONE

La sindrome dell'occhio secco o DED (Dry Eye Disease) è una condizione clinica molto diffusa nella popolazione, ritenuta una malattia multifattoriale (DEWS II). Esistono diversi tipi di trattamento in relazione alla causa o alle cause scatenanti la sindrome in ciascun paziente. I soggetti affetti da DED devono essere trattati in modo specifico, tenendo ben presente i loro segni ed i loro sintomi. È pertanto necessario effettuare un'accurata diagnosi prima di elaborare un possibile trattamento.

I trattamenti attuali comprendono terapie per insufficienza lacrimale e anomalie palpebrali, farmaci antinfiammatori, approcci chirurgici, considerazioni ambientali, terapie complementari e modifiche alla dieta. Tra quest'ultime vi è anche l'integrazione di acidi grassi essenziali (EFA), così chiamati poiché devono essere introdotti con la dieta e sono necessari per numerosi processi metabolici. Gli esseri umani non sono in grado di produrli autonomamente e devono integrarli attraverso altre fonti dietetiche ¹.

Attualmente, i risultati degli studi riguardanti l'efficacia della supplementazione di EFA nella dieta come trattamento per il DED sono abbastanza controversi.

Lo scopo di questo elaborato è quello di analizzare in che modo l'assunzione di acidi grassi essenziali possa agire a livello oculare contrastando l'infiammazione data dalla sindrome dell'occhio secco e di prendere in esame diversi studi clinici eseguiti.

Per prima cosa, si fornirà una definizione più completa di DED, elaborata dai membri del TFOS DEWS II, descrivendone le diverse tipologie e la loro classificazione in base all'eziologia. Vista la varietà di sintomi e segni che caratterizzano il DED e vista l'assenza di un vero e proprio protocollo da seguire per arrivare alla diagnosi di questa malattia, nell'elaborato verranno dati dei cenni diagnostici spiegando le diverse tipologie di test che vengono generalmente svolti per poterla diagnosticare. Oltre ai test, è fondamentale ricordare che svolgono un ruolo molto importante nella diagnosi anche i questionari di screening come per esempio il McMonnies e il questionario OSDI (ocular surface disease index).

1. DEFINIZIONE DI DRY EYE DISEASE (DED)

La prima definizione di DED (Dry Eye Disease) fu pubblicata nel 1995 da un gruppo di lavoro del National Eye Institute (NEI)/Industry e descriveva la condizione di occhio secco come un disturbo, non come una vera e propria malattia. Riportava infatti:

"L'occhio secco è un disturbo del film lacrimale causato da insufficienza lacrimale o eccessiva evaporazione lacrimale che provoca lesioni alla superficie oculare interpalpebrale ed è associato a sintomi di disagio oculare." (DEWS I).

Con il passare degli anni, alla luce degli studi eseguiti, si considerò opportuno dare una nuova definizione al DED la quale non si soffermasse soltanto sulla qualità e la quantità del film lacrimale ma che prendesse atto della natura multifattoriale di questa malattia.

Attualmente la definizione più recente è quella pubblicata dai membri del TFOS DEWS II nel 2017 ed è la seguente:

"L'occhio secco è una malattia multifattoriale della superficie oculare caratterizzata da una perdita di omeostasi del film lacrimale e accompagnata da sintomi oculari, in cui l'instabilità e l'iperosmolarità del film lacrimale, l'infiammazione e le lesioni della superficie oculare e le anomalie neurosensoriali svolgono ruoli eziologici".

Questa definizione non deve essere considerata come definitiva in quanto, come spiegato dagli autori del DEWS II, ci sono ancora molti aspetti del DED da chiarire ²; tuttavia si può affermare che questa, rispetto alle precedenti, sia una definizione di DED perfezionata e descriva chiaramente come la perdita dell'omeostasi sia l'elemento unificante e che il ruolo eziologico possa essere svolto da più fattori.

La natura multifattoriale di questa malattia sta infatti a significare come essa non possa essere caratterizzata da un unico processo, sintomo o segno ma che derivi invece da una serie di cause che interagiscono tra di loro.

La sindrome dell'occhio secco viene identificata come un disturbo dell'unità funzionale lacrimale (Lacrimal Functional Unit- LFU), un sistema integrato che comprende le ghiandole lacrimali, la superficie oculare (cornea, congiuntiva e ghiandole di Meibomio), palpebre, nervi sensoriali e motori, dai quali sono connessi ³. Questa unità funzionale controlla i maggiori componenti del film lacrimale e risponde alle influenze ambientali, corticali ed endocrinologiche. La sua funzione è quella di preservare l'integrità del film lacrimale, la trasparenza corneale e la qualità delle immagini proiettate sulla retina ⁴.

Una qualunque malattia, alterazione o danno di qualsiasi componente dell'unità funzionale lacrimale può destabilizzare il film lacrimale e portare a disturbi della superficie oculare che si vanno ad esprimere poi come occhio secco.

L'iperosmolarità è considerata il meccanismo centrale che provoca l'infiammazione della superficie oculare, essa è il risultato dell'evaporazione dell'acqua nella superficie oculare esposta che può essere causata da una scarsa componente lacrimale acquosa, da un'eccessiva evaporazione oppure da una combinazione di questi due fattori.

L'iperosmolarità causa una cascata di eventi infiammatori nelle cellule della superficie epiteliale andando in questo modo a coinvolgere le chinasi MAP, le vie di segnalazione NFκB e la generazione di citochine infiammatorie (IL-1α; -1β; TNF-α) e MMP (MMP9) ^{5,6}, le quali attivano cellule infiammatorie sulla superficie oculare ⁷.

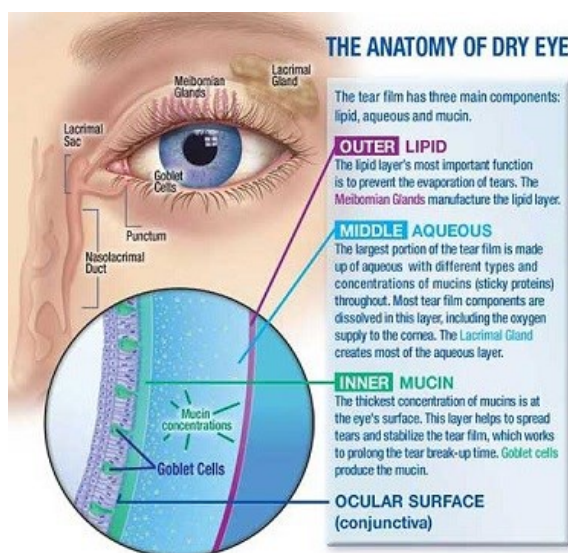


Figura 1. Anatomia dell'occhio secco.

Tratta da Primary eye care associates

2. CLASSIFICAZIONE EZIOLOGICA DEL DED

In base all'eziologia il DED può essere suddiviso principalmente in due forme: occhio secco da iper-evaporazione (EDE) e occhio secco da insufficienza lacrimale (ADDE). Nel primo caso l'iperosmolarità è causata da un'eccessiva evaporazione in presenza di una regolare funzione secretoria lacrimale, mentre, nel secondo caso, essa è conseguenza di una ridotta secrezione lacrimale per cui, nonostante il tasso di evaporazione dell'acqua dalla superficie oculare sia normale, la riserva lacrimale è ridotta e questo porta ad una forma di occhio secco caratterizzata da una condizione di iperosmolarità accompagnata da un minor volume lacrimale e da un basso flusso.

Inoltre, è fondamentale spiegare come una forma di DED non escluda necessariamente l'altra. La sindrome dell'occhio secco che comincia in una delle due forme può coesistere oppure portare agli eventi che causano l'altra forma di dry eye ⁸. Per esempio, in un grave caso di EDE la perdita di sensibilità corneale potrebbe condurre all'eliminazione dello

stimolo compensatorio alla secrezione lacrimale e ciò può causare un deficit funzionale della componente acquosa oppure, nel caso di ADDE, la riduzione dello spessore del film lacrimale può compromettere la distribuzione dello strato lipidico del film (TFLL) e portare quindi ad un EDE funzionale ⁹. In una qualsiasi forma di DED, una volta avvenuta la rottura del film lacrimale nell'intervallo di ammiccamento, indipendentemente dalla causa scatenante, si aggiunge un'ulteriore componente evaporativa e un occhio secco che ha avuto origine a causa di un deficit lacrimale diventa durante la sua evoluzione una combinazione di ADDE più EDE.

I fattori che possono causare le due forme principali di DED sono diversi e sono riassunti nella seguente tabella ⁹. **(Tabella I)**

OCCHIO SECCO CON DEFICIT DELLA COMPONENTE ACQUOSA (ADDE)	OCCHIO SECCO EVAPORATIVO (EDE)
<p>Occhio secco associato alla sindrome di Sjögren (SSDE) malattie sistemiche associate Artrite reumatoide Poliarterite nodosa Lupus eritematoso sistemico Granulomatosi di Wegener Sclerosi sistemica Cirrosi biliare primaria Malattia mista del tessuto connettivo</p> <p>Occhio secco non associato alla sindrome di Sjögren (NSDE) Deficit intrinseco delle ghiandole lacrimali Ablazione delle ghiandole lacrimali Alacrima congenita Sindrome della tripla A ADDE correlato all'età Infiammatorie e correlate ad altro tipo di infiltrazione della ghiandola lacrimale Sarcoidosi Linfoma Infezione virale Lesione da radiazioni Ostruzione della ghiandola lacrimale Congiuntivite cicatriziale GVHD Sindrome di Stevens-Johnson/Necrolisi epidermica tossica (TEN) Pemfigoide delle membrane mucose Pemfigoide cicatriziale Pemfigo Tracoma Lesione chimica Stati iposecretori - Insufficienza dell'unità funzionale lacrimale Blocco delle afferenze riflesse Anestesia topica Lesione del nervo trigemino Chirurgia refrattiva Cheratite neurotrofica Blocco secreto-motorio Danno parasimpatico Inibizione farmacologica Blocco combinato di afferenze ed efferenze Disautonomia familiare Altri disturbi Sindrome di Meige Diabete mellito Pseudoesfoliazione</p>	<p>Malattie delle ghiandole di Meibomio Correlate alle palpebre Disfunzione della ghiandola di Meibomio (DGM) Primarie Seborrea di Meibomio DGM ostruttiva Cicatriziale/Non cicatriziale Secondarie a malattia locale Blefarite anteriore Infiammazione della superficie oculare Utilizzo delle lenti a contatto Secondarie a dermatosi sistemiche Rosacea Dermatite seborroica Dermatite atopica Ittiosi Psoriasi Secondarie a esposizione chimica Acido 13-cis-retinoico Bifenoli policlorurati Antiandrogeni</p> <p>Malattie della ghiandola di Meibomio geneticamente determinate Agenesia delle ghiandole di Meibomio e distichiasi Displasia ectodermica anidrotica Sindrome da ectrodattilia Epidermolisi bollosa Ittiosi follicolare Sindrome di Turner</p> <p>Disturbi dell'apertura, della congruità e della dinamica palpebrale Correlate all'ammiccamento Malattia di Parkinson</p> <p>Occhio secco evaporativo correlato alla superficie oculare Malattia allergica oculare Deficit di vitamina A Occhio secco da tempo di rottura breve Malattia iatrogena</p>
	<p>Tabella I. Cause della sindrome dell'occhio secco. Anthony J. Bron et al. TFOS DEWS II, pathophysiology report. The Ocular Surface, 2017; 15: 441-51</p>

2.1. OCCHIO SECCO DA IPER-EVAPORAZIONE

Questa forma di DED, come già descritto in precedenza, è caratterizzata da un forte aumento del tasso evaporativo che può essere dovuto da una perdita della funzione di barriera evaporativa dello strato lipidico del film e delle palpebre oppure da una ridotta bagnabilità della superficie oculare. La mancanza di un equilibrio tra la quantità di lacrime evaporata e quella prodotta va a causare l'iperosmolarità lacrimale, meccanismo fondamentale perché possa svilupparsi il DED. Inoltre, alcuni fattori ambientali possono favorire l'insorgenza di questa tipologia di occhio secco, per esempio bassa umidità, elevate temperature, ambienti con aria condizionata e forte vento.

Secondo quanto riportato dal DEWS vengono distinte due tipologie di occhio secco evaporativo: EDE intrinseco quando esso è legato all'integrità palpebrale, EDE estrinseco quando dipende dai cambiamenti della superficie oculare ⁹.

2.1.1. EDE associato alla palpebra (EDE intrinseco)

A questa categoria di DED evaporativo appartengono tutte quelle forme di DED da iper-evaporazione associati ad alterazioni delle palpebre e delle ghiandole di Meibomio, elementi necessari per la produzione e la corretta distribuzione sulla superficie oculare dello strato lipidico del film lacrimale. È proprio quest'ultimo che, ricoprendo la componente acquosa, ne contiene l'evaporazione.

2.1.1.1. Disfunzione della ghiandola di Meibomio (MGD)

La disfunzione della ghiandola di Meibomio (MGD, Meibomian Gland Dysfunction) si verifica in seguito all'ostruzione dei dotti di questa ghiandola e rappresenta la causa più comune dell'occhio secco evaporativo ^{10 11}.

Una definizione completa di MGD la possiamo trovare nel Rapporto del Gruppo di Lavoro Internazionale sulla disfunzione della ghiandola di Meibomio che riporta quanto segue:

“La disfunzione della ghiandola di Meibomio o MGD è un'anomalia cronica e diffusa delle ghiandole di Meibomio, comunemente caratterizzata da ostruzione dei dotti terminali e/o alterazioni quali/quantitative della secrezione ghiandolare. Questo può portare all'alterazione del film lacrimale, a sintomi d'irritazione oculare, a infiammazione clinicamente evidente e a patologie della superficie oculare” ¹².

Questa disfunzione nelle fasi iniziali si può presentare come un disturbo funzionale che va a compromettere la distribuzione dello strato lipidico del film, mentre nella sua forma più evoluta è caratterizzata da alterazioni patologiche a carico della ghiandola che possono essere potenzialmente irreversibili.

Come è descritto dalla **Figura 2** la MGD è stata suddivisa in base alla sua secrezione in stati di alto e basso deflusso, quest'ultima categoria è a sua volta divisa in iposecretoria e ostruttiva (cicatrizzale e non cicatrizzale) ⁹.

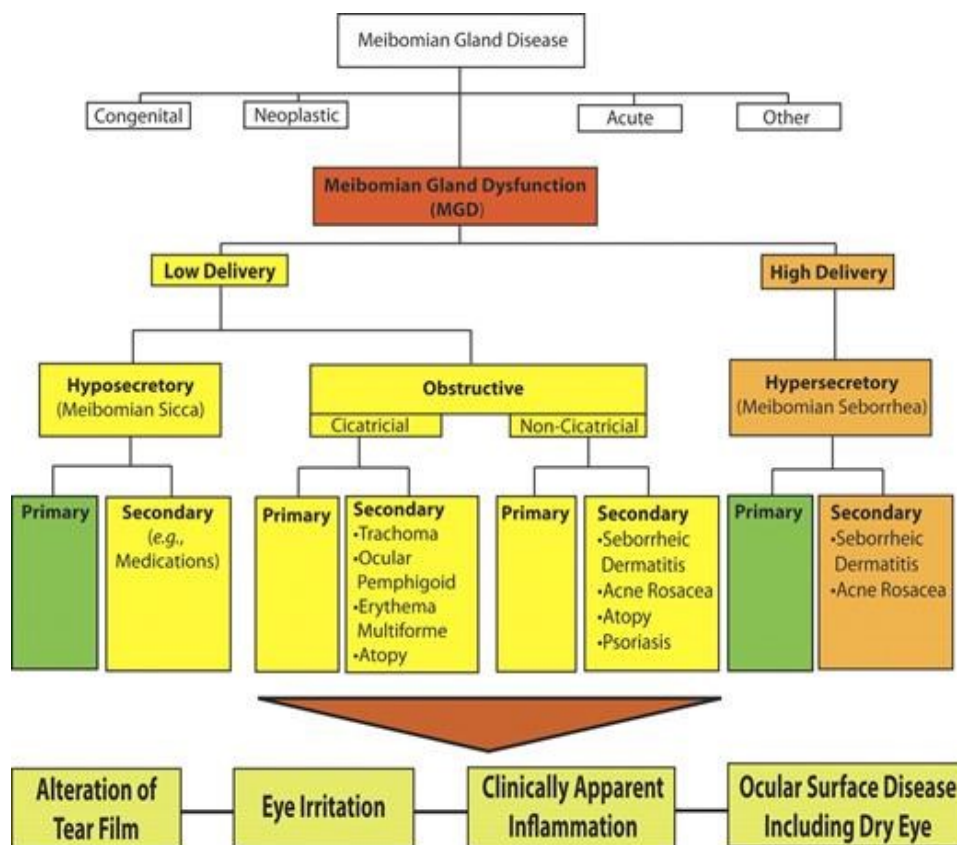


Figura 2. Classificazione della MGD.

Knop E, Knop N, Millar T, Obata H, Sullivan DA. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on anatomy, physiology, and pathophysiology of the meibomian gland. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011;52:1938-1978.

La MGD ad alto deflusso, denominata anche seborrea meibomiana ¹³, è una condizione meno comune rispetto allo stato di basso deflusso e si presenta spesso in associazione a dermatite seborroica e rosacea. Non sono ancora certe le cause della DGM di questa

tipologia e anche l'ipotesi che si tratti di uno stato di ipersecrezione necessita di conferme. La velocità di secrezione delle ghiandole di Meibomio non può essere valutata attualmente da metodi affidabili ma si è potuto notare come lo spessore della componente lipidica sia aumentato nei pazienti con DED legata a DGM ad alto deflusso ¹⁴. La MGD a basso deflusso, come già accennato in precedenza, è suddivisa in MGD iposecretoria e ostruttiva. La prima è caratterizzata da una diminuzione di deflusso della componente lipidica del film causata da alterazioni della ghiandola di Meibomio ma senza essere in presenza di un'importante ostruzione. Nella MGD ostruttiva, invece, la causa è proprio l'ostruzione del dotto terminale ed è la principale causa di occhio secco evaporativo. **(Figura 3)**

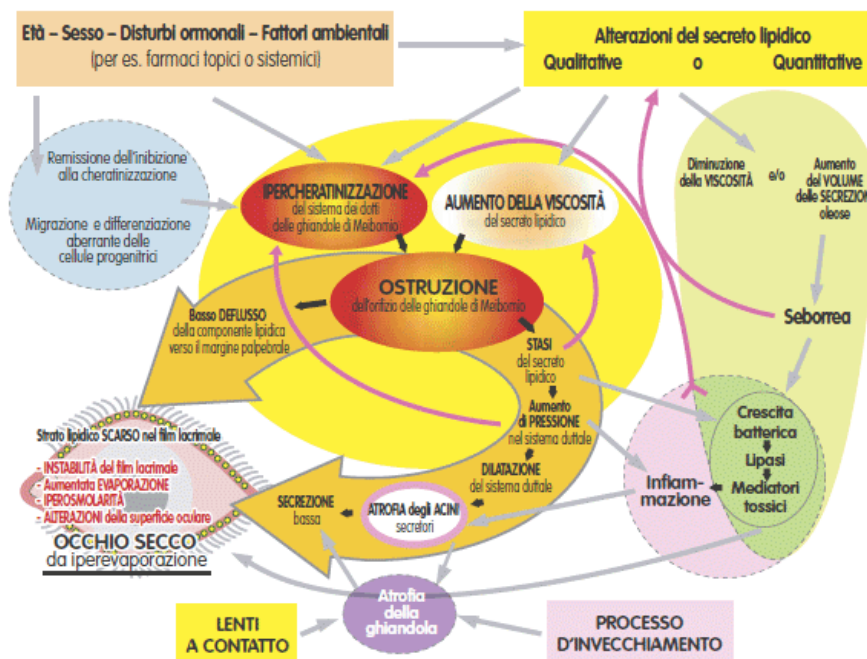


Figura 3. Fisiopatologia della MGD ostruttiva.

Knop E, Knop N, Millar T, Obata H, Sullivan DA. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on anatomy, physiology, and pathophysiology of the meibomian gland. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011;52:1938-1978.

La MGD ostruttiva si suddivide a sua volta in forma cicatriziale e in forma non cicatriziale. Nella forma cicatriziale l'ostruzione dei dotti è causata dall'allungamento, dallo stiramento e restringimento dei dotti terminali così da far trascinare ogni dotto e orifizio davanti alla giunzione muco-cutanea nella mucosa congiuntivale marginale ¹⁵.

Quando gli orifizi vengono trascinati verso la mucosa, trovandosi vicino al menisco lacrimale, le ghiandole non sono più in grado di distribuire il sebo sulla superficie del film lacrimale. Questo processo porterà all'ostruzione dei dotti con l'aumentare della sua gravità. Questa forma di MGD può essere dovuta a patologie quali la rosacea e la cheratocongiuntivite primaverile ⁹.

Nella forma non-cicatrizziale gli orifizi ghiandolari rimangono localizzati nella loro normale posizione, tuttavia, i dotti terminali sono ostruiti a causa di un processo di ipercheratinizzazione ^{16 17} e dalla dispersione delle cellule del rivestimento del dotto nel lume formando tappi cheratici ^{12 18 19}. L'ostruzione è associata ad un aumento della viscosità della secrezione in seguito ad interazioni tra lipidi e proteine citocheratine. La diagnosi di DGM non-cicatrizziale si basa sulle alterazioni morfologiche degli orifizi della ghiandola e negli acini che vengono osservati attraverso biomicroscopia, microscopia confocale e meibomiografia senza contatto. Si può notare una restrizione degli orifizi e la conseguente riduzione della visibilità del caratteristico anello che li circonda ^{20 21}. Nelle forme più gravi di DGM, a seguito di un aumento di vascolarizzazione, gli orifizi arrivano a sembrare distorti e possono divenire atrofici ⁹.

2.1.1.2. EDE associato all'apertura e alla dinamica palpebrali

Anche le palpebre svolgono un ruolo di fondamentale importanza in quanto preservano l'integrità e la stabilità del film lacrimale e ne regolano l'evaporazione. Talvolta, però, la presenza di alcune alterazioni patologiche o congenite dell'anatomia e della dinamica palpebrale può portare la superficie oculare ad essere esposta e di conseguenza causare un EDE. Un esempio di questo tipo di alterazioni è il lagofalmo notturno con una chiusura palpebrale inadeguata, le palpebre sono apparentemente chiuse ma la superficie oculare rimane a contatto con l'aria ²². Un altro esempio può essere l'ammiccamento incompleto ²³ oppure in presenza di proptosi dove la palpebra non riuscendosi a chiudere completamente espone il film lacrimale ad una maggiore evaporazione, inoltre, i movimenti oculari sono limitati e ognuno di questi potrebbe compromettere la distribuzione del film ^{24 25}.

È importante avere una corretta frequenza di ammiccamento poiché, se ridotta, potrebbe causare DED in certe patologie come la malattia di Parkinson dove vi è anche una riduzione dei movimenti oculari ²⁶.

2.1.2. EDE legato ad alterazione della superficie oculare

A questa categoria di occhio secco evaporativo appartengono tutte le alterazioni il cui ruolo non appartiene al film lacrimale bensì ai tessuti oculari esposti ad esso.

Tra queste alterazioni vi è l'ipovitaminosi A. La vitamina A è essenziale per regolare la crescita epiteliale, la proliferazione e il differenziamento cellulare²⁷, e per lo sviluppo delle cellule caliciformi nelle mucose²⁸. A livello oculare, la carenza di vitamina A induce xeroftalmia la quale comprende cecità notturna, xerosi congiuntivale, xerosi corneale, macchie di Bitot, e cheratomalacia²⁹.

Un'altra forma di DED è quella causata da un break up time breve (SBUDE). Essa è caratterizzata da un tempo di rottura del film con fluoresceina inferiore a 5 secondi che si verifica in associazione a valori normali di secrezione lacrimale e clearance lacrimale, a una regolare funzione della ghiandola di Meibomio e non vi è la presenza di danni a livello epiteliale³⁰. I sintomi causati da questa forma SBUDE includono secchezza e affaticamento oculare e vista annebbiata che vanno certamente ad influire sulla qualità della vita.

2.2. OCCHIO SECCO DA INSUFFICIENZA LACRIMALE (ADDE)

Questa forma di occhio secco si suddivide in due forme principali in base alla sua origine. Infatti, se si origina a causa della sindrome di Sjögren sarà occhio secco da sindrome di Sjögren (SSDE) se invece la causa risiede in altre tipologie di alterazioni verrà classificato come occhio secco non Sjögren (NSDE).

2.2.1. Occhio secco da sindrome di Sjögren (SSDE)

La sindrome di Sjögren è una patologia autoimmune cronica che è caratterizzata da un'infiltrazione di cellule immunitarie in ghiandole esocrine, tra cui la ghiandola lacrimale principale, impedendone in questo modo il corretto funzionamento.

La prevalenza della sindrome negli Stati Uniti è stata stimata pari a circa l'1%³¹ e si manifesta circa 9 volte superiore nel sesso femminile rispetto a quello maschile.

Le ghiandole salivari e lacrimali sono quelle maggiormente colpite dall'infiltrazione immunitaria e la conseguenza è la distruzione di acini e dotti la quale porta a uno stato di secchezza orale e oculare.

I fattori che portano ad una predisposizione alla sindrome di Sjögren sono diversi e tra questi un ruolo importante è dato dall'influenza ormonale, motivo per cui le donne in età post-menopausale sono quelle più interessate. L'eziologia della sindrome sembra essere anche legata a una suscettibilità genetica in quanto è stato associato un maggior rischio a HLA II, IL-12A, BLK, STAT4, CXCR5 e IRF5³². Un'altra teoria sull'insorgenza della sindrome è quella in riferimento all'infezione virale, infatti, sono state riscontrate delle associazioni tra infezioni di tipo virale e occhio secco, tra cui il virus Hep B, HLTV1, HIV e il virus di Epstein Barr⁹.

I segni e i sintomi dell'occhio secco da sindrome di Sjögren sono simili a quelli dell'occhio secco non Sjögren e comprendono offuscamento della visione, sensazione di granelli di sabbia e discomfort generale mentre i segni includono instabilità del film, staining sia corneale che congiuntivale, perdita di cellule caliciformi e metaplasia epiteliale^{33 34 35}.

2.2.2. Occhio secco non Sjögren (NSDE)

L'occhio secco non Sjögren (NSDE) comprende tutte le forme congenite e acquisite di occhio secco che non presentano le caratteristiche autoimmuni tipiche della sindrome di Sjögren. I principali fattori di rischio della NSDE sono i seguenti:

- *Deficit lacrimale intrinseco*: comprende l'ablazione della ghiandola lacrimale o la separazione dei dotti nella chirurgia palpebrale, l'alacrimia congenita che può essere ereditaria e talvolta associata ad agenesi delle ghiandole salivari; e la sindrome della tripla A, un disturbo ereditario recessivo progressivo dove l'alacrimia congenita è associata a cardioacalasia, malattia di Addison, neurodegenerazione centrale e disfunzione del sistema nervoso autonomo⁹.
- *Alterazioni legate all'età*: la forma più comune di NSDE è proprio l'ADDE correlato all'età, le caratteristiche cliniche sono simili a quelle del SSDE ma hanno il loro esordio in età più avanzata e le forme più gravi sono meno frequenti. I processi di invecchiamento (con influenze genetiche, ormonali e immunologiche) coinvolgono principalmente la ghiandola lacrimale portando ad un mancato funzionamento di uno degli elementi che costituiscono l'LFU e alla perdita di tessuto secretorio funzionale⁹.
- *Infiltrazioni infiammatorie e di altra natura nelle ghiandole lacrimali*: tra questi vi è la sarcoidosi, un disturbo sistemico cronico caratterizzato dalla presenza di granulomi in diversi organi tra cui le ghiandole salivari e lacrimali, quest'ultime

risultano ingrossate nei soggetti con coinvolgimento della ghiandola lacrimale (63% dei casi) ³⁶. Altre patologie che appartengono a questa categoria sono i linfomi, infezioni virali come epatite C e HIV-AIDS, e si è riscontrato che l'occhio secco può insorgere anche a seguito della radioterapia i cui danni vanno a colpire in modo particolare proprio la ghiandola lacrimale principale ⁹.

- *Ostruzione della ghiandola lacrimale*: l'occhio secco può essere conseguenza di una cicatrizzazione congiuntivale causata da diverse alterazioni, una di queste avviene in seguito a trapianti di tessuti oculari. Nelle aree periduttali sono presenti le cellule T CD4+ e CD8+ le quali, una volta attivate, rilasciano citochine e chemochine che vanno ad aumentare lo stress ossidativo, contribuendo alla malattia cicatriziale della ghiandola lacrimale. Anche l'epitelio corneale, la congiuntiva e le ghiandole di Meibomio possono essere coinvolti da processi infiltrativi, infiammatori e di cheratinizzazione ⁹. Un altro meccanismo che porta all'ostruzione è dato dalla sindrome di Stevens- Johnson, una dermatite bollosa che colpisce la cute e le mucose tra cui la cornea e la congiuntiva ³⁷. Anche lesioni oculari mediante esposizione ad acidi e alcali, pemfigo, pemfigoide delle mucose, pemfigoide cicatriziale e tracoma rappresentano la causa di processi infiammatori e ostruttivi.
- *Insufficienza dell'unità funzionale lacrimale*: la secrezione lacrimale è normalmente sotto il controllo dell'LFU e la capacità secretoria dipende pertanto dall'integrità dei rami afferenti ed efferenti dell'arco riflesso. Il blocco delle afferenze riflesse può verificarsi a seguito di un danno al nervo trigemino, dell'uso di anestetici topici come la proparacaina (la quale riduce l'ammiccamento del 30% e la secrezione lacrimale del 60-75%) ³⁸, di complicazioni post chirurgia refrattiva (PRK, LASIK) ³⁹, dell'utilizzo di lenti a contatto e della cheratite neutrofica (NK), una rara patologia corneale causata da una disfunzione dell'innervazione sensoriale la quale comporta una ridotta o assente sensibilità corneale ⁹. Un blocco secreto-motorio può essere causato da un danno a carico dell'innervazione parasimpatica della ghiandola lacrimale e dall'utilizzo di diversi farmaci sistemici tra cui antidepressivi, antistaminici, chemioterapici, analgesici a base oppiacea e altri ⁴⁰. La sindrome di Riley-Day o disautonomia familiare, un disturbo causato da mutazioni in un gene codificante per la proteina associata a chinasi IκB ⁴¹, porta ad un blocco combinato di afferenza ed efferenze. Tra le principali caratteristiche di questa patologia vi sono proprio la disfunzione lacrimale, danno corneale e DED associati ad

un'insensibilità al dolore e una marcata assenza di lacrimazione sia emotiva che riflessa.

- *Altri disturbi:* tra questi è riportata la Sindrome di Meige, la quale comporta blefarospasmo, caratterizzato da una contrazione anomala dei muscoli periorbitari, e di conseguenza DED. Anche i pazienti con diabete mellito manifestano sintomi di occhio secco. La produzione lacrimale è ridotta a causa di un danno nella ghiandola lacrimale, di una ridotta innervazione lacrimale, di una riduzione nel supporto trofico verso il tessuto lacrimale e di una ridotta lacrimazione. La carente produzione di mucine da parte delle cellule mucipare caliciformi causa una riduzione del TBUT e pertanto della stabilità del film lacrimale. Un altro disturbo che causa occhio secco è la pseudoesfoliazione, caratterizzata da un accumulo di grumi di microfibrille sulla superficie della capsula del cristallino, del corpo ciliare, della congiuntiva, dell'iride e del trabecolato ⁴². Nei pazienti con pseudoesfoliazione sia il test di Schirmer che BUT risultano significativamente ridotti inoltre in essi si possono osservare dei filamenti tipici di questo disturbo oltre a variazioni nell'impacchettamento delle mucine e nella morfologia delle cellule caliciformi ⁴³.

3. IL CIRCOLO VIZIOSO DELL'OCCHIO SECCO

Nel TFOS DEWS II è stato descritto in modo completo come ogni forma di occhio secco, nonostante le diverse cause scatenanti, entri in un meccanismo comune nel quale l'iperosmolarità e una serie di eventi infiammatori vanno a formare un circolo vizioso che va ad alimentare continuamente i segni ed i sintomi del DED ⁴⁴. Secondo questo concetto ogni forma di DED avrà punti di ingresso in questo circolo vizioso che va a convergere nell'iperosmolarità e nella risposta infiammatoria. **(Figura 4)**.

Sia ADDE che EDE possono essere definite forme evaporative in quanto l'iperosmolarità è causata dall'evaporazione del film dalla superficie oculare, pertanto, l'EDE è una condizione iperevaporativa. Inoltre, anche l'utilizzo di lenti a contatto, allergie e determinati fattori ambientali possono condurre all'iperosmolarità.

Essa va così a stimolare una cascata di eventi nelle cellule epiteliali della superficie oculare che vanno a coinvolgere le vie di trasduzione del segnale delle MAP- chinasi e dell'NFkB ⁴⁵ e la produzione di citochine infiammatorie (IL-1 α ; IL-1 β), del tumor

necrosis factor α (TNF- α) e proteasi (MMP9) ⁴⁶. Questi, insieme all'iperosmolarità, riducono l'espressione delle mucine del glicocalice e portano alla morte anche per apoptosi delle cellule epiteliali fino alla perdita delle cellule caliciformi, la quale si osserva nei ridotti livelli di MUC5AC lacrimale ⁴⁷. Il risultato di un'alterata espressione delle mucine del glicocalice è il caratteristico staining associato al DED che andando ad alterare la bagnabilità della superficie oculare, porta ad una riduzione del BUT. La rottura precoce del film lacrimale va ad innescare o ad amplificare l'iperosmolarità lacrimale completando in questo modo il circolo vizioso del DED.

Inoltre, il non corretto funzionamento del glicocalice, la lesione nell'epitelio assieme ad una riduzione del volume lacrimale e delle mucine delle cellule caliciformi vanno ad aumentare il danno da attrito e i sintomi che ne conseguono. Le terminazioni nervose corneali vengono stimulate dall'iperosmolarità e dal danno epiteliale indotti dal DED, arrecando così sintomi di disagio, aumento della frequenza di ammiccamento e una maggiore secrezione compensatoria ^{9 48}.

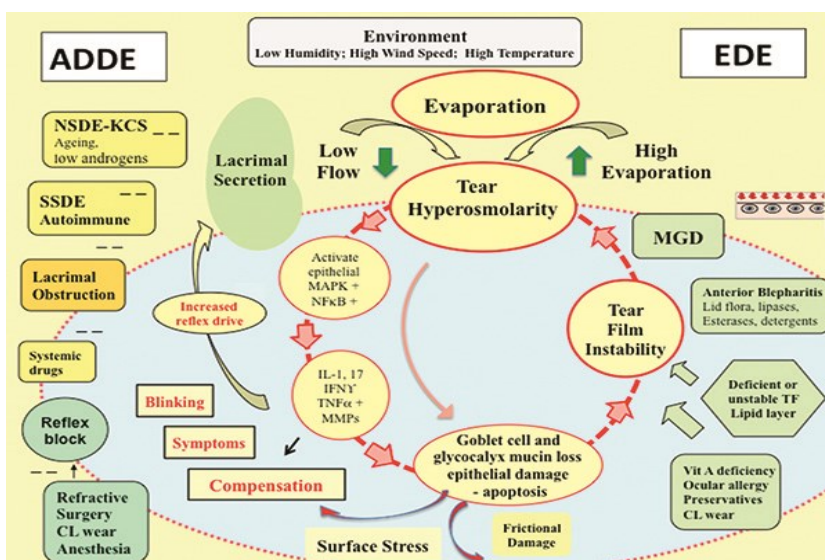


Figura 4. Il circolo vizioso del DED.

Anthony J. Bron et al. TFOS DEWS II, pathophysiology report. The Ocular Surface, 2017; 15: 441-51

4. CENNI DIAGNOSTICI

La diagnosi di occhio secco generalmente si basa sui sintomi e segni che caratterizzano questa malattia; tuttavia, a causa della molteplicità dei fattori che ne determinano l'insorgenza e della quantità di strutture coinvolte, non è possibile fare riferimento ad un unico test per comprendere se un soggetto presenta una forma di DED. È necessario, quindi, integrare i risultati di diversi test, ognuno dei quali è specifico per una particolare struttura e va a valutare una determinata componente del film lacrimale.

Con lo svolgimento dei test si andranno ad analizzare i segni tipici del DED, per quanto riguarda la sintomatologia è opportuno fare riferimento ai questionari per la diagnosi dell'occhio secco.

4.1. VALUTAZIONE DEL FILM LACRIMALE

Per la valutazione delle componenti del film lacrimale si eseguono diversi test di lacrimazione, essi si suddividono principalmente in due tipologie: test quantitativi e test qualitativi.

Test quantitativi

I test quantitativi vanno a valutare la quantità di secrezione lacrimale e i principali metodi utilizzati sono i seguenti:

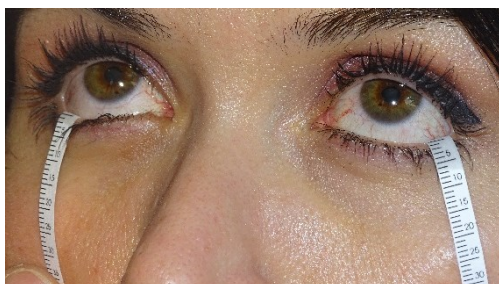
Test di Schirmer

Questo test viene utilizzato per quantificare la secrezione totale data dalla somma della basale e riflessa. Esso si esegue inserendo una strisciolina di carta bibula all'interno del fornice della congiuntiva verso l'esterno e lo si lascia per cinque minuti. Una volta trascorso questo tempo si rimuove la strisciolina e si va a misurare la porzione di strisciolina bagnata, se questa risulta essere minore di 5 mm è considerata patologica. Un'altra modalità di svolgimento del test utilizzato nella pratica quotidiana è quella di ridurre il tempo ad un minuto e moltiplicare per tre il valore ottenuto (Cho e Yap 1993), in questo modo il risultato sarà meno alterato dalla lacrimazione riflessa.

Esiste una variante di questo test chiamata *Test di Schirmer II* la quale va a misurare la sola lacrimazione riflessa. Per fare ciò prima di inserire la strisciolina si instilla dell'anestetico e successivamente l'inserimento della carta bibula si va strofinare la mucosa nasale. Se dopo due minuti la misurazione è inferiore a 15 mm la lacrimazione riflessa si può dire ridotta ⁴⁹.

Figura 5. Test di Schirmer.

Tratta da Istituto de la Vision



Test dei menischi lacrimali (MLMI)

Nel margine inferiore della palpebra il film lacrimale si accumula e si inspessisce andando a formare il menisco lacrimale. Il test consiste nella misurazione dello spessore del menisco lacrimale utilizzando una lampada a fessura con l'oculare millimetrato e deve essere eseguita dopo 2-3 secondi dall'ultimo ammiccamento (Lupelli 1989). È utile utilizzare la fluoresceina per valutare lo spessore, il cui valore è da considerarsi normale tra i 0,2 e 0,5 mm e anomalo se inferiore a 0,1 mm ⁴⁹.

Test di Jones

Il test di Jones va a valutare la secrezione basale. Esso si esegue come il test di Schirmer ma si va ad inibire la secrezione riflessa instillando una goccia di anestetico. Il valore nella media è di 15 mm nell'arco di cinque minuti. Si considerano patologici valori inferiori a 3-4 mm ⁴⁹.

Test del turn-over della secrezione lacrimale

Il test del turn-over lacrimale è un test poco invasivo e va a valutare il tempo trascorso nel totale ricambio del film lacrimale. Si esegue instillando la fluoresceina e andando ad osservare con la lampada a fessura la totale scomparsa della fluorescenza dovuta al completo ricambio lacrimale. Il tempo necessario perché ciò avvenga in un soggetto privo di alterazioni del film lacrimale è di 10-15 minuti ⁴⁹.

Test qualitativi

I test qualitativi vengono utilizzati per valutare la stabilità e la funzionalità del film lacrimale e i principali sono riportati di seguito:

Tempo di rottura o break up time (BUT)

Questo test è stato ideato da Norn nel 1969 e si esegue per valutare la stabilità del film precorneale. Per eseguirlo viene instillata la fluoresceina dopodiché viene chiesto al paziente di ammiccare più volte e successivamente di mantenere gli occhi aperti guardando dritto e si vanno a contare i secondi che intercorrono tra l'ultimo ammiccamento e la comparsa del primo *dry spot* (zona secca), cioè la rottura del film lacrimale individuabile dall'assenza di fluorescenza in alcuni punti. È consigliabile ripetere il test 2-3 volte poiché a causa di diverse influenze il dato potrebbe variare. Un BUT considerato nella norma è superiore ai 10 secondi ⁵⁰, se inferiore viene considerato alterato o patologico (tra 0-5 s) ⁴⁹.

Una variante di questo test è il NIBUT (Break up time non invasivo) in cui non si utilizza la fluoresceina ma vengono utilizzati strumenti che comportino un'ampia riflessione corneale come il topografo, il tear-scope, l'aberrometro di Hartmann-Shack o l'oftalmometro. In questo caso la rottura apparirà come una perdita di regolarità sulla superficie su cui sono riflessi gli anelli o la griglia a seconda dello strumento utilizzato. Il valore del NIBUT è considerato nella normalità da 20 a 30 s secondo Efron (1998), 10 s in media secondo Wong (2002) ⁴⁹.

Il limite di questo test è dato dalla grande variabilità dei risultati anche di uno stesso soggetto, causata dal fatto che il test risenta di molte variabili sia ambientali che personali.

Test con coloranti vitali

I coloranti vitali sono utilizzati nella pratica clinica per definire il *dry eye* poiché essi sono in grado rendere visibile il disfacimento dell'epitelio e altri cambiamenti fisiopatologici che non si potrebbero osservare senza l'uso di colorazioni topiche.

Oltre alla fluoresceina, introdotta per la prima volta da Pflüger nel 1882, sono molto utilizzati il rosa bengala e il verde di lissamina.

Il rosa bengala è stato introdotto da Henrik Sjögren nel 1933 e colora in modo selettivo le cellule epiteliali degenerate o morte, se nell'epitelio sono presenti abrasioni o desquamazioni appaiono delle piccole chiazze rosse. Inoltre, il rosa bengala colora anche il muco. La sua instillazione provoca un forte bruciore ed è pertanto solitamente preceduta da un'anestesia locale.

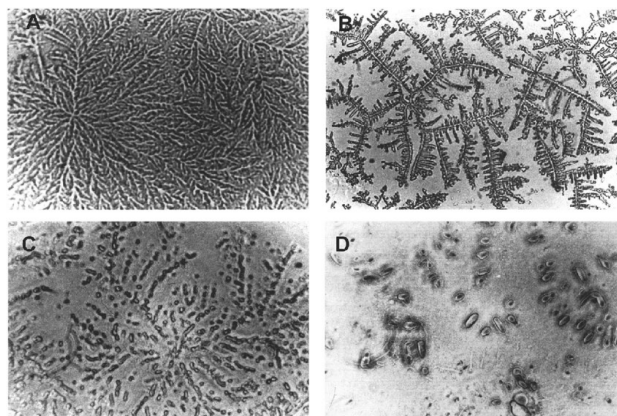
Morgens Norn nel 1973 descrisse il verde di lissamina come colorante fondamentale, esso ha caratteristiche molto simili al rosa bengala in quanto colora esclusivamente le cellule epiteliali in sofferenza⁵¹, è sicuramente più tollerato dal paziente e rappresenta per questo motivo una valida alternativa.

Test della felcizzazione o ferning test

Questo test viene svolto per analizzare l'equilibrio nelle lacrime tra mucine ed elettroliti. Lo svolgimento consiste nel prelievo di un campione lacrimale che verrà fatto asciugare su un vetrino e la sua osservazione al microscopio (125-250 ingrandimenti). Il muco lacrimale una volta asciutto va a cristallizzarsi sotto forma di felci (**Figura 6**). Più fitta è l'arborizzazione più equilibrata è la concentrazione mucinica. Le alterazioni dello strato mucinico si verificano per esempio in caso di ipovitaminosi A, cheratocongiuntiviti, disordini mucocutanei, traumi chimici e uso di farmaci topici⁵⁰.

Figura 6. Ferning test

I primi due tipi di arborizzazione (pattern A e B) rappresentano un buon equilibrio tra mucina ed elettroliti. Questo equilibrio risulta alterato nei casi C e D ma la percentuale di mucina risulta comunque nella norma⁴⁹.



Tratta da Maragou et al., 1996. Clin Rheumatol. 15: 125-32

Test dell'osmolarità

L'osmolarità lacrimale svolge un ruolo fondamentale nella patogenesi del DED, per questo motivo la sua valutazione è uno dei metodi più accurati e specifici per eseguire la diagnosi di occhio secco. L'osmolarità è definita come il numero di particelle disperse

all'interno di una soluzione in milliosmoli per litro (mOsm/L) e questo valore nelle lacrime arriva ad un massimo di 300 mOsm/L in condizioni normali. In una condizione di occhio secco questo valore tende ad aumentare e diventare quindi iper-osmolare. Ad oggi la misurazione dell'osmolarità lacrimale è piuttosto semplice da eseguire grazie al TearLab, uno strumento progettato per essere utilizzato con facilità il quale richiede un volume lacrimale piuttosto limitato (50 nL) raccolto direttamente dal margine palpebrale. L'osmolarità viene considerata non nella norma quando supera i 300 mOsm/L indicando una perdita di omeostasi oppure quando la differenza tra i due occhi è maggiore di 8 mOsm/L andando ad evidenziare una instabilità del film lacrimale ⁵². **(Figura 7)**

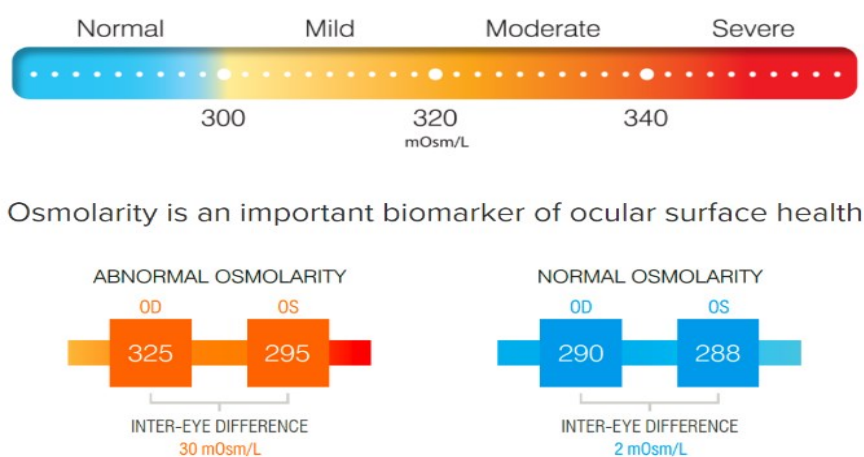


Figura 7. Schema dei valori dell'osmolarità lacrimale.

Tratta da TearLab

Tearscope

Il Tearscope è uno strumento introdotto da Guillon che permette l'osservazione in vivo di diverse situazioni del film lacrimale grazie ad un'ampia riflessione corneale. Si possono osservare i menischi lacrimali e valutare quindi la quantità acquosa del film, inoltre è possibile analizzare lo strato lipidico sfruttando il fenomeno di interferenza che esso crea. Infatti, i diversi pattern delle frange di interferenza consentono di esaminare lo spessore dello strato lipidico lacrimale. Questo strumento permette di valutare la stabilità del film anche con l'esecuzione del test NIBUT. Nelle versioni più recenti sono presenti LED di colore blu, che rendono più semplice l'osservazione con la fluoresceina, e i LED infrarossi che consentono la valutazione dell'integrità e funzionalità delle ghiandole di

Meibomio. Un altro punto di forza di questo strumento è la praticità poiché viene utilizzato sia anteponendolo direttamente all'occhio da analizzare oppure in combinazione con la lampada a fessura che consente di avere un maggiore ingrandimento.

4.2. L'UTILITÀ DEI QUESTIONARI

Nella diagnosi del DED un ruolo importante è quello svolto dai questionari. Vista la varietà e l'importanza dei sintomi anche per quanto riguarda il loro impatto sulla quotidianità degli individui sono stati formulati diversi questionari i quali presentano domande che vanno ad esaminare vari aspetti tra cui fattori ambientali, sintomatologia tipica del DED, assunzione di farmaci, allergie, uso di lenti e molti altri. Ad ogni domanda viene assegnato un punteggio specifico e la somma dei punteggi viene confrontata con dei *cut-off* che vanno a definire la diagnosi.

I questionari più utilizzati sono il McMonnies, l'Ocular Surface Disease Index (OSDI), il Canadian Dry Eye Epidemiology Study (CANDEES), il Dry Eye Questionnaire (DEQ), il Contact Lens DEQ (CLDEQ) e l'Impact of Dry Eye on Everyday Life (IDEEL).

Assieme agli elementi comuni tra i questionari vi sono anche caratteristiche che li differenziano e rendono più specifico l'utilizzo di uno piuttosto che di un altro al fine di ottenere una diagnosi più corretta.

Il questionario McMonnies presenta 15 domande che comprendono ad esempio sesso, età, uso di lenti a contatto, i sintomi caratteristici di DED e la loro frequenza, l'utilizzo di farmaci e risulta utile anche nella valutazione di fattori scatenanti quali l'assunzione di alcool e la pratica del nuoto all'interno di piscine. Il questionario OSDI, invece, include 12 voci che analizzano la funzione visiva, i sintomi oculari e i fattori ambientali e va a valutare in questo modo la gravità della sindrome dell'occhio secco.

L'IDEEL è quello che possiede il maggior numero di domande, esse sono 57 divise in tre moduli: attività quotidiane, soddisfazione del trattamento e fastidio provocato dai sintomi. Il Dry Eye Questionnaire comprende 21 domande che si soffermano sulla prevalenza e la frequenza dei sintomi e il disturbo che essi arrecano nella quotidianità; per questo le risposte comprendono "mai, raro, frequente, costante" ed è richiesta l'ora del giorno in cui la situazione peggiora. Il Contact Lens DEQ è composto da solo 13 domande e viene somministrato unicamente ai portatori di lenti a contatto. Anche il Canadian Dry Eye Epidemiology Study presenta 13 domande e la sua particolarità è quella di analizzare i sintomi in combinazione con la loro frequenza.

Come affermato in precedenza, questi questionari sono diversificati e pertanto possono avere un campo d'uso differente. Per quanto riguarda il ruolo di screening il più usato è il McMonnies ma anche dalle domande del CLDEQ è possibile eseguire una diagnosi di occhio secco per i portatori di lenti a contatto. Il CANDEES studia l'epidemiologia dei sintomi, l'OSDI svolge il ruolo di end-point negli studi clinici, l'IDEEL e il DEQ sono utilizzati anch'essi negli studi clinici oltre a quelli epidemiologici ⁵³.

5. ACIDI GRASSI ESSENZIALI (EFA)

Gli acidi grassi sono degli idrocarburi a catena lineare che presentano un gruppo carbossilico (-COOH) ad una estremità ed una catena alifatica, più o meno lunga. Inoltre, la catena può contenere doppi legami C=C (acidi grassi insaturi) oppure non contenerne (acidi grassi saturi). Sono definiti monoinsaturi e polinsaturi (PUFA) gli acidi grassi con rispettivamente uno e più doppi legami. L'atomo di carbonio che affianca il gruppo carbossilico viene denominato *alfa* (α), il successivo *beta* (β). L'ultimo carbonio della catena viene definito sempre *omega* (ω) a prescindere dal numero di carboni che lo separano dal C_α , poiché gli acidi grassi possono avere catene di diversa lunghezza. La posizione dei doppi legami può essere indicata secondo la nomenclatura "omega" (ω) oppure quella "delta" (Δ). Ad esempio, viene definito omega-3 l'acido α -linolenico, il quale presenta l'ultimo doppio legame sul terzo carbonio partendo dalla fine della catena, che risulta in posizione 15 dal carbossile. Nella notazione Δ^x l'apice indica la posizione del doppio legame a partire dal gruppo carbossilico.

Gli acidi grassi omega-3 (ω -3) e omega-6 (ω -6) vengono definiti essenziali per l'uomo poiché non possono essere sintetizzati dall'organismo e devono pertanto essere introdotti con la dieta. Gli acidi grassi come omega-3 ed omega-6 sono PUFA, e possiedono quindi nella loro struttura più di un doppio legame. In tutti gli omega-3 il primo doppio legame si trova tra il terzo ed il quarto atomo di carbonio partendo dall'estremità con il gruppo metile della catena mentre in tutti gli omega-6 il primo doppio legame è posizionato tra il sesto ed il settimo atomo di carbonio sempre dall'estremità metilica ⁵⁴. **(Figura 8)**

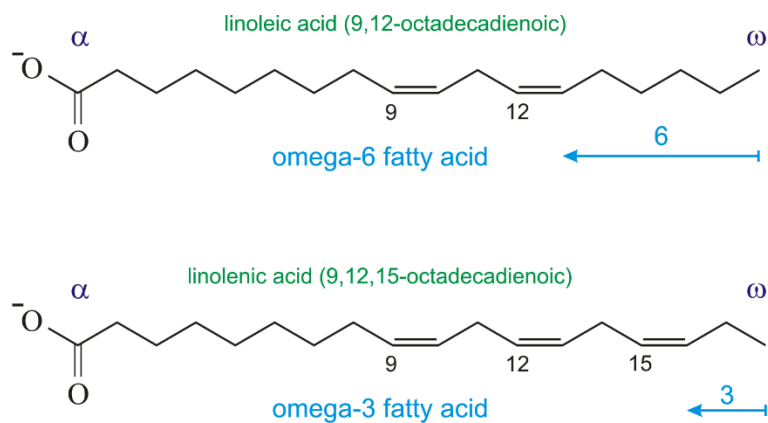


Figura 8. Struttura chimica degli acidi grassi omega-3 ed omega-6.

Tratta da E. Generalic, Chemistry Glossary

Gli acidi grassi essenziali omega-3 possono essere a catena breve come, ad esempio, l'acido α -linolenico (ALA) oppure a catena lunga come l'acido eicosapentaenoico (EPA) o l'acido docosaesaenoico (DHA). Questi ultimi possono sia essere assunti con gli alimenti che essere sintetizzati partendo dalle forme a catena breve attraverso la desaturazione (formazione di un doppio legame tra due atomi di carbonio) e reazioni di allungamento (aggiunta di due atomi di carbonio) che avvengono all'interno dei perossisomi. Il medesimo procedimento vale anche per gli omega-6 con l'acido linoleico (LA), il quale viene desaturato ed allungato per formare acido γ -linolenico (GLA) ed acido arachidonico (AA)⁵⁵. I principali enzimi che intervengono nella biosintesi degli acidi grassi essenziali sono le desaturasi e le elongasi. Le Δ^6 desaturasi (FADS2) e Δ^5 desaturasi (FADS1) catalizzano la formazione di doppi legami. Il doppio legame viene formato in una posizione specifica dall'estremità carbossilica della catena. Nei perossisomi avviene la retroconversione del DHA in EPA a basse velocità basali successivamente all'integrazione di DHA. **(Figura 9)**

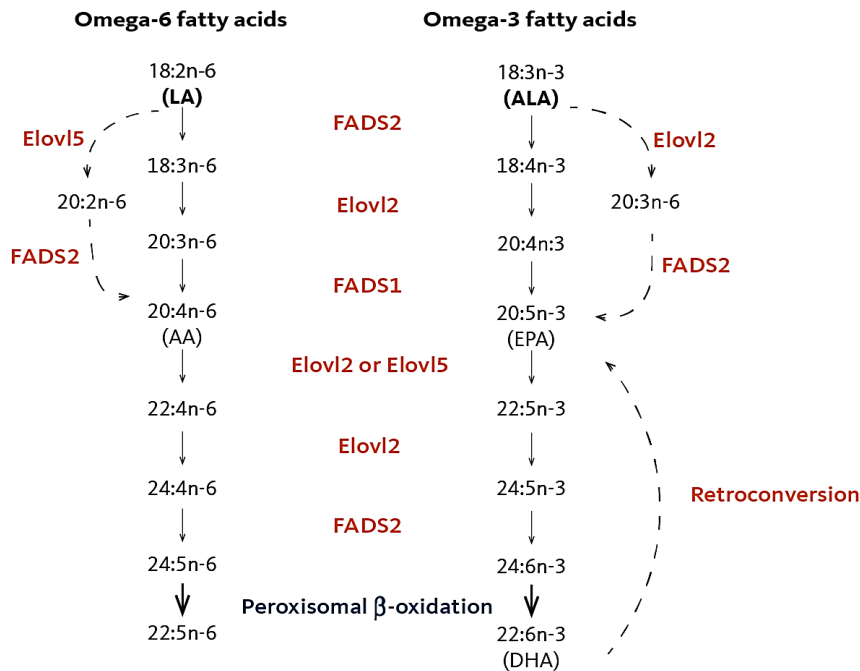


Figura 9. Desaturazione ed elongazione degli EFA.

Tratta da Oregon State University, Micronutrient Information Center

Gli EFA omega-3 sono incorporati nelle membrane cellulari di tutti i tessuti dell'organismo ⁵⁶. Le variazioni indotte dalla dieta nella composizione degli acidi grassi polinsaturi di una membrana cellulare hanno un forte impatto sulla funzione cellulare dal momento che le molecole presenti in questi acidi grassi svolgono importanti ruoli di segnalazione e comunicazione tra le cellule e all'interno di esse ⁵⁶.

Vi sono diverse sorgenti dietetiche di acidi grassi essenziali sia di origine vegetale sia di origine animale. In particolare, EPA e DHA si trovano in pesci come tonno, salmone, trota, sardine e sgombro, e negli oli di pesce in quantità minore si trovano anche in crostacei e molluschi come gamberi, ostriche e cozze. L'ALA si trova principalmente nei semi di chia, di lino, nelle noci, e negli oli di origine vegetale come olio di lino e di soia. Gli EFA omega-6 sono abbondanti nell'olio di semi di canapa, girasole o mais.

5.1. ACIDI GRASSI ESSENZIALI COME TRATTAMENTO DEL DRY EYE DISEASE

Quando stimoli esterni attivano le cellule, le membrane cellulari rilasciano l'acido arachidonico che è convertito in eicosanoidi proinfiammatori tra cui la prostaglandina-E2 (PGE2), il trombossano-A2 e il leucotriene-B4. Il metabolismo dell'acido arachidonico è il bersaglio dei farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS).

Gli omega-3 introdotti con la dieta spostano l'acido arachidonico dalle membrane e competono con esso per gli enzimi che vanno a catalizzare la biosintesi di trombossani, prostaglandine e leucotrieni ⁵⁷. Questo è ritenuto essere uno dei principali meccanismi dei loro effetti antinfiammatori: gli omega-3 limitano monociti, neutrofilo ed eosinofili dalla sintesi dei mediatori infiammatori che derivano dall'acido arachidonico. Oltre a questo, l'arricchimento con omega-3 delle membrane cellulari modula gli eventi di segnalazione cellulare, la funzione delle proteine di membrana e l'espressione genica ⁵⁶. È stato dimostrato che l'acido α -linolenico riduce drasticamente la formazione di prostaglandine molto probabilmente attraverso una repressione della trascrizione dei geni che codificano per mediatori proinfiammatori come la proteina c-reattiva e l'interleuchina IL-6 ^{57 58}.

Inoltre, l'acido eicosapentaenoico sopprime l'attivazione di NF-KappaB, un complesso proteico che regola la trascrizione e la produzione di citochine, che riduce l'elaborazione dei mediatori proinfiammatori ⁵⁹. EPA e DHA sono precursori dei docosatrieni e delle resolvine, i quali reprimono l'espressione dell'interleuchina IL-1, inibiscono il tumor necrosis factor α (TNF α) e riducono l'ingresso di neutrofilo nei siti di infiammazione ^{57 60}.

Nonostante buona parte degli eicosanoidi derivati da omega-6 favoriscano l'infiammazione, il metabolismo dell'acido γ -linolenico (GLA) può portare alla produzione di prostaglandina-E1 (PGE1) e trombossano-A1, i quali sono mediatori antinfiammatori ⁶¹. I potenziali effetti degli EFA omega-6 sull'infiammazione sono pertanto complessi.

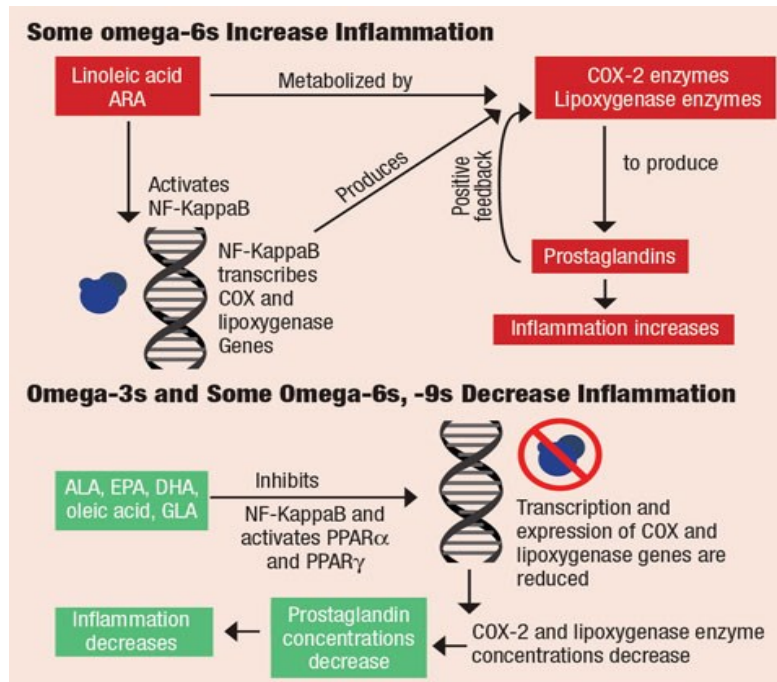


Figura 10. EFA e la modulazione dell'inflammatione.

Tratta da J. Potteet, Review of Optometry

Il rapporto relativo tra omega-3 e omega-6 consumati condiziona lo stato infiammatorio generale dell'organismo ⁶¹. Negli ultimi tempi questo rapporto è cambiato ed è variato l'equilibrio delle citochine infiammatorie ⁶². Attualmente, nelle diete occidentali, il rapporto dell'assunzione di omega-6 rispetto gli omega-3 è di circa 15:1, mentre il rapporto che si ritiene ideale è di 4:1 ⁶³. È interessante valutare se incrementando i livelli sistemici di omega-3 con l'intervento nutrizionale con lo scopo di attenuare il rapporto omega-6 su omega-3, si possano avere effetti antinfiammatori sistemici i quali giovino a tutte le condizioni caratterizzate da un'inflammatione e tra queste anche il DED. Infatti, alcuni dei meccanismi della patogenesi del DED tra cui la produzione delle citochine infiammatorie come IL-1, IL-2 e TNF- α ⁶⁴ e la proliferazione di linfociti T ^{65 66} vengono inibiti come effetto antinfiammatorio degli acidi grassi essenziali omega-3. Inoltre, alcuni studi su modelli di DED indotti farmacologicamente hanno dimostrato che un aumento dell'acido grasso può causare cambiamenti alla ghiandola lacrimale e apportare modificazioni alla risposta della superficie oculare ^{67 68}. Due recenti studi (*Hampel et al., 2015; Liu et al., 2016*) hanno osservato l'influenza degli EFA sull'attività delle cellule epiteliali delle ghiandole di Meibomio dell'uomo ^{69 70}. Nello studio di Liu et al. È stato dimostrato che gli EFA condizionano la quantità e la qualità dei lipidi intracellulari, con un successivo aumento del contenuto di trigliceridi nelle cellule da 2,4

a 3,7 volte dopo il trattamento rispettivamente con omega-3 e omega-6. L'integrazione per tre mesi di omega-3 nei ratti, in particolare di EPA e DHA, è stata collegata alla loro incorporazione nei tessuti della ghiandola lacrimale ⁷¹. L'incremento dietetico di EPA, DHA e GLA per due mesi riduce la cheratite corneale e la sovraespressione del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) congiuntivale II, inoltre porta alla riduzione dell'espressione della prostaglandina PGE1 e PGE2 nella ghiandola lacrimale in seguito a 28 giorni di intervento con scopolamina ⁶⁷. È stato osservato che le forme topiche degli omega-3 in modelli murini riducono lo staining corneale con fluoresceina, il numero di cellule CD11b+ e l'espressione nella congiuntiva di IL-1a e TNF- α ⁷². Si è anche visto che gli omega-3 topici, con o senza l'aggiunta di acido ialuronico (HA) allo 0,1%, portano ad un miglioramento dell'irregolarità corneale riducendo la rottura della barriera epiteliale ⁶⁸.

L'evidenza sperimentale va a supportare il potenziale terapeutico di immunomodulatori di derivazione lipidica, cioè le resolvine. Esse sono ricavate da EPA (resolvina E1) e da DHA (resolvina D1) e possono essere utilizzate come trattamento antinfiammatorio del DED ⁷³. Le resolvine E1 e D1, infatti, favoriscono la risoluzione dell'infiammazione nelle cellule caliciformi congiuntivali in coltura, riducendo i leucotrieni cisteinici ^{74 75}.

In modelli murini di DED, la resolvina E1 va ad incrementare la secrezione lacrimale, ed inoltre migliora la regolarità corneale, modera l'infiltrazione di macrofagi ⁷⁶ e attenua la perdita di cellule caliciformi ⁷⁷. L'applicazione topica di un profarmaco di resolvina E1, RX-10045 allo 0,1% il quale viene idrolizzato alla sua forma attiva nelle matrici biologiche rapidamente, può diminuire l'opacità stromale successivamente ad una lesione corneale sul coniglio ⁷⁸.

Le sperimentazioni sulle resolvine D1 sono meno diffuse ma queste svolgono un ruolo nella salute della cornea poiché NPD1, un derivato di DHA, è significativo per la rigenerazione nervosa e per la sensibilità corneale ^{79 80}.

5.2. DATI SPERIMENTALI SULL'EFFICACIA DEL TRATTAMENTO CON EFA NEL DED

Sono diverse le sperimentazioni cliniche condotte per valutare il beneficio e l'efficacia dell'integrazione orale con omega-3 ed omega-6, sia in combinazione sia singolarmente e sono state utilizzate diverse tipologie di procedure in cieco e doppio cieco.

In uno studio del 2011 di Wojtowicz et al. di tipo prospettico, randomizzato e in doppio cieco ai pazienti con occhio secco è stata somministrata giornalmente una dose di olio di

pesce contenente 450 mg di acido eicosapentaenoico, 300 mg di acido docosaesaenoico e 1000 mg di olio di semi di lino per 90 giorni e ad altri è stato somministrato del placebo. I pazienti sono stati sottoposti a controlli in cui hanno compilato il questionario OSDI e sono stati eseguiti esami con la lampada a fessura, BUT, test di Schirmer di tipo I, è stata valutata la colorazione corneale con fluoresceina e si sono raccolti dei campioni di secrezione della ghiandola di Meibomio per analizzarne la composizione lipidica. Alla fine dello studio è emerso che l'integrazione con acidi grassi omega-3 non ha mostrato significativi effetti sulla composizione lipidica delle ghiandole di Meibomio ma al test di Schirmer è risultata una maggior produzione e volume lacrimale nel gruppo che aveva assunto omega-3.

In un altro studio randomizzato e in doppio cieco svolto nel 2016 da Deinema et al. i pazienti affetti da DED sono stati suddivisi in tre gruppi trattati per 90 giorni in tre modi diversi: un gruppo con placebo (olio di oliva, 1500 mg al giorno), un altro con olio di pesce (1000 mg al giorno di EPA + 500 mg al giorno di DHA) e l'ultimo con olio di krill (945 mg al giorno di EPA + 510 mg al giorno di DHA). Le visite, svolte mensilmente, hanno valutato la variazione dell'osmolarità lacrimale, i sintomi del DED (questionario OSDI), stabilità, secrezione e volume lacrimale, colorazione della superficie lacrimale, rossore bulbare e limbare ed inoltre i livelli di citochine infiammatorie lacrimali.

Si è osservato che entrambe le forme di EFA omega-3 a catena lunga assunte in una dose giornaliera moderata per 3 mesi hanno determinato una ridotta osmolarità lacrimale e una maggiore stabilità del film. Gli EFA omega-3 in una forma prevalentemente fosfolipidica (olio di krill) hanno dimostrato di conferire un ulteriore beneficio terapeutico visto il miglioramento dei sintomi del DED e gli inferiori livelli lacrimali di interleuchina IL-17A, rispetto al gruppo placebo.

In un articolo pubblicato da Aihua Liu e Jian Ji nel 2014 sono stati confrontati 7 studi pubblicati tra il 2007 e il 2013 che hanno coinvolto un totale di 790 partecipanti. Sulla base di questi studi gli acidi grassi omega-3 sono stati associati a valori migliori di BUT e del test di Schirmer mentre non sono state rilevate particolari differenze nei risultati del questionario OSDI.

Gatell-Tortajada nel 2016 ha svolto uno studio per valutare i benefici di un integratore a base di acidi grassi omega-3 per il DED. I pazienti che hanno partecipato erano 1.419 tra cui il 73,3% donne, l'età media era 58,9 anni e tutti presentavano forme di DED, per questo utilizzavano lacrime artificiali. Per 12 settimane i pazienti hanno assunto 3 capsule al giorno di Brudysec® 1,5 g (che contiene omega-3 tra cui DHA e EPA; vitamine A, C ed E; oligoelementi essenziali come zinco e magnesio ed altri componenti). Le variabili erano i sintomi di secchezza oculare, iperemia congiuntivale, BUT e test di Schirmer I.

Dopo 12 settimane, tutti i sintomi di DED erano migliorati, l'uso di sostituti lacrimali era diminuito significativamente e nei test BUT e Schirmer i risultati erano aumentati rendendo l'integrazione orale di omega-3 un trattamento efficace. Non sempre, però, si sono ottenuti risultati positivi in studi riguardanti l'efficacia di questo trattamento.

Nel 2018, in uno studio multicentrico in doppio cieco di Asbell et al. sono stati assegnati casualmente a dei pazienti una dose orale giornaliera di 3000 mg di EPA e DHA oppure un placebo a base di olio di oliva. Venivano valutati la variazione del punteggio OSDI, colorazione corneale e congiuntivale, tempi di rottura (BUT) e test di Schirmer. Da questo studio è risultato che nei pazienti con DED quelli che hanno assunto per 12 mesi gli acidi grassi omega-3 non avevano ottenuto risultati significativamente migliori rispetto a quelli del gruppo placebo.

Uno studio pilota di Chinnery et al. del 2017 è stato svolto con lo scopo di indagare se l'integrazione orale di EFA omega-3 a catena lunga della durata di 3 mesi possa indurre modifiche al plesso nervoso sub-basale corneale il quale è correlato con l'entità della normalizzazione dell'osmolarità lacrimale. I partecipanti hanno ricevuto un placebo (olio di oliva, 1500 mg al giorno) o integratori di omega-3 (EFA, ~ 1000 mg al giorno + DHA, ~ 500 mg al giorno) per 90 giorni. Dopo questo periodo di tempo il punteggio OSDI era maggiormente ridotto nel gruppo omega-3 rispetto al gruppo placebo, anche la densità dei rami del nervo corneale e la lunghezza delle fibre nervose corneali avevano valori più elevati nel gruppo EFA rispetto al placebo. Non sono stati osservati significativi cambiamenti per quanto riguarda la densità delle cellule epiteliali basali o delle cellule dendritiche ma i risultati di questo studio pilota dimostrano che l'integrazione con EFA omega-3 conferisce effetti neuroprotettivi nel plesso sub-basale corneale ⁸¹.

Uno studio sulla salute delle donne (Women's Health Study), ha coinvolto più di 32 mila donne associando la bassa assunzione dietetica di EFA omega-3 e la sindrome dell'occhio secco ⁸². È stato riscontrato che vi è una riduzione del 30% del rischio di DED con ogni grammo supplementare di omega-3 consumato giornalmente. Inoltre, un rapporto omega-6 su omega-3 alimentari maggiore è stato associato ad un maggiore rischio di DED.

Di recente è stato provato anche che il rapporto omega-6 su omega-3 nei lipidi lacrimali è maggiore nei soggetti con DED ed è proporzionale al grado di disfunzione del film lacrimale e della colorazione corneale ⁸³. Si è dimostrata anche un'associazione tra quantità di EFA omega-3 assunti con la dieta e le differenze nel pattern lipidico polare delle secrezioni delle ghiandole di Meibomio nelle donne affette da sindrome di Sjögren⁸⁴.

Un altro studio su un gruppo di 439 donne in postmenopausa è stato svolto nel 2018 da Ziemanski et al. con lo scopo di valutare la relazione di acidi grassi omega-3 ed omega-6

con la sindrome dell'occhio secco e la disfunzione della ghiandola di Meibomio. I soggetti sono stati sottoposti ad una valutazione clinica, in seguito hanno completato un questionario sulla frequenza alimentare per stimare il loro apporto alimentare di omega-3 ed omega-6. Successivamente sono state suddivise secondo classificazioni binarie in base al fatto che presentassero o meno DED e MGD. Dai risultati dello studio è emerso che non vi è una significativa relazione tra DED e consumo alimentare di omega-3 ed omega-6 mentre un consumo elevato di omega-3 e moderato di omega-6 è stato associato ad una diminuzione della frequenza della disfunzione della ghiandola di Meibomio.

CONCLUSIONI

In questo elaborato sono state discusse le varie forme del DED, ed essendo questa una malattia multifattoriale si sono prese in considerazione le diverse condizioni che possono provocarne l'origine. In seguito, si è visto che ogni tipologia di DED entra a far parte di un meccanismo definito "circolo vizioso" in cui tutto converge e viene alimentato dall'iperosmolarità lacrimale e dalla risposta infiammatoria.

Sono diverse le terapie impiegate nel trattamento della sindrome dell'occhio secco e la più usata è sicuramente quella dell'utilizzo dei sostituti lacrimali. Questo tipo di trattamento del DED è però un palliativo poiché ne allevia e ne combatte provvisoriamente i sintomi ma non è indirizzato alla patofisiologia del DED.

Diventa pertanto interessante conoscere se l'apporto di modifiche alla dieta attraverso l'integrazione di acidi grassi essenziali possa ridurre l'infiammazione del dry eye oppure addirittura prevenirla, ed è proprio su questo che si sofferma l'elaborato. L'effetto antinfiammatorio dato dagli acidi grassi essenziali è stato dimostrato da diversi studi scientifici dove si è visto che essi vanno a ridurre la produzione e l'elaborazione di mediatori proinfiammatori. Altre indagini cliniche sono andate invece a valutare se l'integrazione di acidi grassi essenziali potesse effettivamente essere d'aiuto per diminuire i segni e la sintomatologia derivata dal DED. In queste sperimentazioni i risultati non sono sempre stati concordi tra loro ma nella maggior parte dei casi si è potuto osservare un miglioramento soggettivo e oggettivo sulla base dei test e questionari utilizzati durante gli studi per valutare i sintomi e i segni di occhio secco.

Il ruolo degli acidi grassi essenziali come trattamento del DED non è stato ancora totalmente compreso per via dell'assenza di un protocollo ottimale in merito alla dose, alla composizione e alla durata del trattamento.

Gli integratori di EFA, in particolare di omega-3, vengono spesso venduti e pubblicizzati per via dei loro molteplici benefici sulla salute e molti pazienti si automedicano senza tenere presente le diverse controindicazioni sistemiche tra cui epatopatia, fibrillazione atriale e disturbi emorragici; in questi casi, è necessario chiedere il consiglio del medico prima di iniziare ad utilizzare questi integratori.⁸⁵ Infatti, l'assunzione di dosi elevate di omega-3 (EPA+DHA > 2000 mg/die) può causare l'aumento del rischio di emorragia.⁸⁶ La FDA (Food and Drug Administration) ed il Consiglio nazionale per la salute e la ricerca medica (NHMRC) hanno raccomandato un limite massimo giornaliero di 3000 mg di omega-3 sia derivati dal cibo sia dagli integratori.

Un altro importante aspetto da considerare è quello dei potenziali effetti collaterali

gastrointestinali derivati dall'utilizzo di integratori di EFA omega-3. La maggior parte degli studi non ha misurato la compliance degli interventi dello studio con test degli acidi grassi nel siero sanguigno e ciò viene considerato essenziale per valutare con precisione gli effetti dell'integrazione sulla salute. ⁸⁷

Prendendo in esame tutti questi aspetti ancora da migliorare nelle sperimentazioni sul trattamento del DED con l'utilizzo di integratori di acidi grassi essenziali, vi è la speranza di poter eseguire in futuro studi clinici randomizzati più controllati, di durata maggiore e con un maggior numero di partecipanti in modo da avere un protocollo applicativo da seguire per questa tipologia di trattamento.

BIBLIOGRAFIA

- ¹ Simopoulos AP. Omega-6/omega-3 essential fatty acids: biological effects. *World Rev Nutr Diet* 2009;99:1–16.
- ² Jennifer P. Craig, Kelly K. Nichols, Esen K. Akpek, Barbara Caffery, Harminder S. Dua, ChounKi Joo, Zuguo Liu, J. Daniel Nelson, Jason J. Nichols, Kazuo Tsubota, Fiona Stapleton. TFOS DEWS II Definition and Classification Report. *The Ocular Surface*, 2017; 15: 276-283
- ³ Stern ME, Beuerman RW, Fox RI, et al. The pathology of dry eye; the interaction between the ocular surface and lacrimal glands. *Cornea* 1998;17:584-9
- ⁴ Stern ME, Gao J, Siemarko KF, et al. The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. *Exp Eye Res* 2004;78:409-6
- ⁵ Li DQ, Chen Z, Song XJ, et al. Stimulation of matrix metalloproteinases by hyperosmolarity via a JNK pathway in human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:4302-11
- ⁶ De Paiva CS, Corrales RM, Villarreal AL, et al. Corticosteroid and doxycycline suppress MMP-9 and inflammatory cytokine expression, MAPK activation in the corneal epithelium in experimental dry eye. *Exp Eye Res* 2006;83:526-35
- ⁷ Baudouin C. The pathology of dry eye. *Surv Ophthalmol* 2001;45 Suppl 2:S211-20
- ⁸ Bron AJ, Yokoi N, Gafney E, Tiffany JM. Predicted phenotypes of dry eye: proposed consequences of its natural history. *Ocul Surf* 2009;7:78e92.
- ⁹ Anthony J. Bron, Cintia S. de Paiva, Sunil K. Chauhan, Stefano Bonini, Eric E. Gabison, Sandeep Jain, Erich Knop, Maria Markoulli, Yoko Ogawa, Victor Perez, Yuichi Uchino, Norihiko Yokoi, Driss Zoukhri, David A. Sullivan. TFOS DEWS II, pathophysiology report. *The Ocular Surface*, 2017; 15: 441-515
- ¹⁰ Foulks G, Bron AJ. A clinical description of meibomian gland dysfunction. *Ocul Surf* 2003:107-26
- ¹¹ Bron AJ, Tiffany JM. The contribution of Meibomian disease to dry eye. *Cornea* 2004;2:149-64
- ¹² Knop E, Knop N, Millar T, Obata H, Sullivan DA. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on anatomy, physiology, and pathophysiology of the meibomian gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011;52:1938-1978.

- ¹³ McCulley JP, Dougherty JM, Deneau DG. Classification of chronic blepharitis. *Ophthalmology* 1982;89:1173–1180.
- ¹⁴ Jung JW, Park SY, Kim JS, Kim EK, Seo KY, Kim TI. Analysis of Factors Associated With the Tear Film Lipid Layer Thickness in Normal Eyes and Patients With Dry Eye Syndrome. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2016;57:4076–4083.
- ¹⁵ Foulks GN, Bron AJ. Meibomian gland dysfunction: a clinical scheme for description, diagnosis, classification, and grading. *Ocul Surf* 2003;1:107–126.
- ¹⁶ Gutgesell VJ, Stern GA, Hood CI. Histopathology of meibomian gland dysfunction. *Am J Ophthalmol* 1982;94:383–387.
- ¹⁷ Jester JV, Nicolaides N, Smith RE. Meibomian gland studies: histologic and ultrastructural investigations. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1981;20:537–547
- ¹⁸ Jester JV, Nicolaides N, Smith RE. Meibomian gland dysfunction. I. Keratin protein expression in normal human and rabbit meibomian glands. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 1989;30:927–935
- ¹⁹ Ong BL, Hodson SA, Wigham T, Miller F, Larke JR. Evidence for keratin proteins in normal and abnormal human meibomian fluids. *Curr Eye Res* 1991;10:1113–1119.
- ²⁰ Foulks GN, Bron AJ. Meibomian gland dysfunction: a clinical scheme for description, diagnosis, classification, and grading. *Ocul Surf* 2003;1:107–126.
- ²¹ Bron AJ, Benjamin L, Snibson GR. Meibomian gland disease. Classification and grading of lid changes. *Eye (Lond)* 1991;5(Pt 4):395–411
- ²² Blackie CA, Korb DR. A novel lid seal evaluation: the Korb-Blackie light test. *Eye Contact Lens* 2015;41:98–100.
- ²³ Himebaugh NL, Begley CG, Bradley A, Wilkinson JA. Blinking and tear break-up during four visual tasks. *Optom Vis Sci* 2009;86:E106–E114.
- ²⁴ Gilbard JP, Farris RL. Ocular surface drying and tear film osmolarity in thyroid eye disease. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1983;61:108–116.
- ²⁵ Yokoi N, Bron AJ, Georgiev GA. The precorneal tear film as a fluid shell: the effect of blinking and saccades on tear film distribution and dynamics. *Ocul Surf* 2014;12:252–266.
- ²⁶ Reddy VC, Patel SV, Hodge DO, Leavitt JA. Corneal sensitivity, blink rate, and corneal nerve density in progressive supranuclear palsy and Parkinson disease. *Cornea* 2013;32:631–635.
- ²⁷ Fuchs E, Green H. Regulation of terminal differentiation of cultured human keratinocytes by vitamin A. *Cell* 1981;25:617–625.

- ²⁸ Tei M, Spurr-Michaud SJ, Tisdale AS, Gipson IK. Vitamin A deficiency alters the expression of mucin genes by the rat ocular surface epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:82-8
- ²⁹ Sommer A. Xerophthalmia and vitamin A status. *Prog Retin Eye Res* 1998;17:9–31.
- ³⁰ Toda I, Shimazaki J, Tsubota K. Dry eye with only decreased tear break-up time is sometimes associated with allergic conjunctivitis. *Ophthalmology* 1995;102:302–309.
- ³¹ Helmick CG, Felson DT, Lawrence RC, Gabriel S, Hirsch R, Kwoh CK, et al. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part I. *Arthritis Rheum* 2008;58:15–25.
- ³² Lessard CJ, Li H, Adrianto I, Ice JA, Rasmussen A, Grundahl KM, et al. Variants at multiple loci implicated in both innate and adaptive immune responses are associated with Sjogren's syndrome. *Nat Genet* 2013;45:1284–1292.
- ³³ Kunert KS, Tisdale AS, Gipson IK. Goblet cell numbers and epithelial proliferation in the conjunctiva of patients with dry eye syndrome treated with cyclosporine. *Arch Ophthalmol* 2002;120:330–337.
- ³⁴ Pflugfelder SC, Tseng SC, Yoshino K, Monroy D, Felix C, Reis BL. Correlation of goblet cell density and mucosal epithelial membrane mucin expression with rose bengal staining in patients with ocular irritation. *Ophthalmology* 1997;104:223–235.
- ³⁵ Raphael M, Bellefqih S, Piette JC, Le Hoang P, Debre P, Chomette G. Conjunctival biopsy in Sjogren's syndrome: correlations between histological and immunohistochemical features. *Histopathology* 1988;13:191–202.
- ³⁶ Pasadhika S, Rosenbaum JT. Ocular Sarcoidosis. *Clin Chest Med* 2015;36:669–683.
- ³⁷ Sotozono C, Ueta M, Nakatani E, Kitami A, Watanabe H, Sueki H, et al. Predictive Factors Associated With Acute Ocular Involvement in Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis. *Am J Ophthalmol* 2015;160:228–237.
- ³⁸ Jordan A, Baum J. Basic tear flow. Does it exist? *Ophthalmology* 1980;87:920–930.
- ³⁹ Chao C, Golebiowski B, Stapleton F. The role of corneal innervation in LASIK-induced neuropathic dry eye. *Ocul Surf* 2014;12:32–45
- ⁴⁰ Fraunfelder FT, Sciubba JJ, Mathers WD. The role of medications in causing dry eye. *J Ophthalmol* 2012;2012:285851.
- ⁴¹ Gold-von Simson G, Axelrod FB. Familial dysautonomia: update and recent advances. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2006;36:218–237.
- ⁴² Roh YB, Ishibashi T, Ito N, Inomata H. Alteration of microfibrils in the conjunctiva of patients with exfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol* 1987;105:978–982.

- ⁴³ Kozobolis VP, Christodoulakis EV, Naoumidi II, Siganos CS, Detorakis ET, Pallikaris LG. Study of conjunctival goblet cell morphology and tear film stability in pseudoexfoliation syndrome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2004;242:478–483.
- ⁴⁴ Baudouin C. A new approach for better comprehension of diseases of the ocular surface. *J Fr Ophtalmol* 2007;30:239–246.
- ⁴⁵ Li DQ, Chen Z, Song XJ, Luo L, Pflugfelder SC. Stimulation of matrix metalloproteinases by hyperosmolarity via a JNK pathway in human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:4302–4311.
- ⁴⁶ De Paiva CS, Corrales RM, Villarreal AL, Farley WJ, Li DQ, Stern ME, et al. Corticosteroid and doxycycline suppress MMP-9 and inflammatory cytokine expression, MAPK activation in the corneal epithelium in experimental dry eye. *Exp Eye Res* 2006;83:526–535.
- ⁴⁷ Argueso P, Balaram M, Spurr-Michaud S, Keutmann HT, Dana MR, Gipson IK. Decreased levels of the goblet cell mucin MUC5AC in tears of patients with Sjogren syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:1004–1011.
- ⁴⁸ Bron AJ. The definition and classification of dry eye disease. In: Chan C, editor. *Dry Eye: A Practical Approach*. Springer; 2015.
- ⁴⁹ Rossetti A., Gheller P.; Il film lacrimale; in: *Manuale di optometria e contattologia*; Ila edizione; Zanichelli;2003ù
- ⁵⁰ Abelson MBO, G 3rd W, Nally LA, Welch D, Krenzer K. Alternative reference values for tear film break up time in normal and dry eye populations. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:1121e5
- ⁵¹ Kim J, Foulks G. Evaluation of the effect of lissamine green and rose bengal on human corneal epithelial cells. *Cornea* 1999 May;18(3):328-32
- ⁵² Lemp MA, et al. Tear osmolarity in the diagnosis and management of dry eye disease. *Am J Ophthalmol*. 2011; 151: 792-798.
- ⁵³ Report of the Diagnosis and Classification Subcommittee of the Dry Eye WorkShop (DEWS); Definition and Classification of Dry Eye; in: *The Ocular Surface*; 2007
- ⁵⁴ Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. *Dietary Fats: Total Fat and Fatty Acids. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids*. Washington, D.C.: National Academies Press; 2002:422-541.
- ⁵⁵ Harris W. Omega-6 and omega-3 fatty acids: partners in prevention. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2010;13(2):125–129.
- ⁵⁶ Surette ME. The science behind dietary omega 3 fatty acids. *Can Med Assoc J*. 2008;178(2):177-80.

- ⁵⁷ Vasquez A. Reducing pain and inflammation naturally. Part II: new insights into fatty acid supplementation and its effect on eicosanoid production and genetic expression. *Nutritional Perspectives: J Counc Nutr Am Chiro Assoc.* 2005;28(1):5-16.
- ⁵⁸ Adam O, Wolfram G, Zollner N. Effect of alpha-linolenic acid in the human diet on linoleum acid metabolism and prostaglandin biosynthesis. *J Lipid Res.* 1986;27(4):421-6.
- ⁵⁹ Zhao Y, Joshi-Barve S, Barve S, et al. Eicosapentaenoic acid prevents LPS-induced TNF-alpha expression by preventing NF-kappaB activation. *J Am Coll Nutr.* 2004;23(1):71-8.
- ⁶⁰ Hong S, Gronert K, Devchand PR, et al. Novel docosatrienes and 17S-resolvins generated from docosahexaenoic acids in murine brain, human blood, and glial cells. Autacoids in anti-inflammation. *J Biol Chem.* 2003;278(17):14677-87.
- ⁶¹ Calder PC. N-3 polyunsaturated fatty acids and inflammation: from molecular biology to the clinic. *Lipids* 2003;38(4):343–352.
- ⁶² Simopoulos AP. Evolutionary aspects of diet: the omega-6/omega-3 ratio and the brain. *Mol Neurobiol* 2011;44(2):203–215.
- ⁶³ Simopoulos AP. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother* 2002;56(8):365–379.
- ⁶⁴ Endres S, Ghorbani R, Kelley VE, Georgilis K, Lonnemann G, van der Meer JW, et al. The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells. *N Engl J Med* 1989;320(5):265–271.
- ⁶⁵ Purasiri P, Mckechnie A, Heys SD, Eremin O. Modulation in vitro of human natural cytotoxicity, lymphocyte proliferative response to mitogens and cytokine production by essential fatty acids. *Immunology* 1997;92(2):166–172.
- ⁶⁶ Zurier RB, Rossetti RG, Seiler CM, Laposata M. Human peripheral blood T lymphocyte proliferation after activation of the T cell receptor: effects of unsaturated fatty acids. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1999;60(5–6):371–375.
- ⁶⁷ Viau S, Maire MA, Pasquis B, Grégoire S, Acar N, Bron AM, et al. Efficacy of a 2-month dietary supplementation with polyunsaturated fatty acids in dry eye induced by scopolamine in a rat model. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2009;247(8):1039–1050.
- ⁶⁸ Li Z, Choi JH, Oh HJ, Park SH, Lee JB, Yoon KC. Effects of eye drops containing a mixture of omega-3 essential fatty acids and hyaluronic acid on the ocular surface in desiccating stress-induced murine dry eye. *Curr Eye Res* 2014;39(9):871–878.
- ⁶⁹ Hampel U, Krüger M, Kunnen C, Garreis F, Willcox M, Paulsen F. In vitro effects of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acid on human meibomian gland epithelial cells. *Exp Eye Res* 2015;140:139–148.

- ⁷⁰ Liu Y, Kam WR, Sullivan DA. Influence of Omega 3 and 6 Fatty Acids on Human Meibomian Gland Epithelial Cells. *Cornea* 2016;35(8):1122–1126.
- ⁷¹ Schnebelen C, Viau S, Grégoire S, Joffre C, Creuzot-Garcher CP, Bron AM, et al. Nutrition for the eye: different susceptibility of the retina and the lacrimal gland to dietary omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acid incorporation. *Ophthalmic Res* 2009;41(4):216–224.
- ⁷² Rashid S, Jin Y, Ecoiffier T, Barabino S, Schaumberg DA, Dana MR. Topical omega-3 and omega-6 fatty acids for treatment of dry eye. *Arch Ophthalmol* 2008;126(2):219–225.
- ⁷³ Dogru M, Nakamura M, Shimazaki J, Tsubota K. Changing trends in the treatment of dry-eye disease. *Expert Opin Invest Drugs* 2013;22(12):1581–1601.
- ⁷⁴ Dartt DA, Hodges RR, Li D, Shatos MA, Lashkari K, Serhan CN. Conjunctival goblet cell secretion stimulated by leukotrienes is reduced by resolvins D1 and E1 to promote resolution of inflammation. *J Immunol* 2011;186(7):4455–4466.
- ⁷⁵ Erdinest N, Ovadia H, Kormas R, Solomon A. Anti-inflammatory effects of resolvins D1 on human corneal epithelial cells: in vitro study. *J Inflamm (Lond)* 2014;11(1):6.
- ⁷⁶ Li N, He J, Schwartz CE, Gjorstrup P, Bazan HE. Resolvin E1 improves tear production and decreases inflammation in a dry eye mouse model. *J Ocul Pharmacol Ther* 2010;26(5):431–439.
- ⁷⁷ de Paiva Cintia S, Schwartz C Eric, Gjörstrup Per, Pflugfelder Stephen C. Resolvin E1 (RX-10001) Reduces Corneal Epithelial Barrier Disruption and Protects Against Goblet Cell Loss in a Murine Model of Dry Eye. *Cornea* 2012;31(11):1299–1303.
- ⁷⁸ Torricelli AA, Santhanam A, Agrawal V, Wilson SE. Resolvin E1 analog RX-10045 0.1% reduces corneal stromal haze in rabbits when applied topically after PRK. *Mol Vis* 2014;20:1710–1716.
- ⁷⁹ Cortina MS, He J, Li N, Bazan NG, Bazan HE. Neuroprotectin D1 synthesis and corneal nerve regeneration after experimental surgery and treatment with PEDF plus DHA. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(2):804–810.
- ⁸⁰ Cortina MS, He J, Li N, Bazan NG, Bazan HE. Recovery of corneal sensitivity, calcitonin gene-related peptide-positive nerves, and increased wound healing induced by pigment epithelial-derived factor plus docosahexaenoic acid after experimental surgery. *Arch Ophthalmol* 2012;130(1):76–83.
- ⁸¹ Chinnery HR, Naranjo Golborne C, Downie LE. Omega-3 supplementation is neuroprotective to corneal nerves in dry eye disease: a pilot study. *Ophthalmic Physiol Opt.* 2017 Jul;37(4):473–481.

- ⁸² Miljanovic B, Trivedi KA, Dana MR, Gilbard JP, Buring JE, Schaumberg DA. Relation between dietary n-3 and n-6 fatty acids and clinically diagnosed dry eye syndrome in women. *Am J Clin Nutr* 2005;82:887–893.
- ⁸³ Walter SD, Gronert K, McClellan AL, Levitt RC, Sarantopoulos KD, Galor A. ω -3 Tear Film Lipids Correlate With Clinical Measures of Dry Eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57(6):2472–2478.
- ⁸⁴ Sullivan BD, Cermak JM, Sullivan RM, Papas AS, Evans JE, Dana MR, et al. Correlations between nutrient intake and the polar lipid profiles of meibomian gland secretions in women with Sjögren's syndrome. *Adv Exp Med Biol* 2002;506(Pt A):441–447.
- ⁸⁵ Roncone M, Bartlett H, Eperjesi F. Essential fatty acids for dry eye: A review. *Cont Lens Anter Eye* 2010;33:49–54. quiz 100.
- ⁸⁶ Buckley MS, Goff AD, Knapp WE. Fish oil interaction with warfarin. *Ann Pharmacother* 2004;38(1):50–52.
- ⁸⁷ Ren J, Mozurkewich EL, Sen A, Vahratian AM, Ferreri TG, Morse AN, et al. Total Serum Fatty Acid Analysis by GC-MS: Assay Validation and Serum Sample Stability. *Curr Pharm Anal* 2013;9(4):331–339.