



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute

Corso di laurea magistrale a ciclo unico in MEDICINA
VETERINARIA

Il sequestro corneale felino: tecniche chirurgiche, revisione
della letteratura e studio retrospettivo della casistica clinica.

Relatore:

Prof.ssa Ilaria Iacopetti

Correlatori:

Dott. Domenico Multari

Dott.ssa Anna Perazzi

Laureanda:

Martina Bertoldi

Matricola n. 1023103

ANNO ACCADEMICO 2015-2016

INDICE

| | |
|---|-----------|
| ABSTRACT | 5 |
| 1. ANATOMIA E FISIOLOGIA DELL' OCCHIO..... | 7 |
| 1.1 Il bulbo oculare..... | 7 |
| 1.1.1 La cornea | 8 |
| 1.1.2 La sclera | 11 |
| 1.1.3 L'iride..... | 12 |
| 1.1.4 Il corpo ciliare..... | 13 |
| 1.1.5 La corioide | 14 |
| 1.1.6 L'umor acqueo..... | 15 |
| 1.1.7 Il cristallino..... | 16 |
| 1.1.8 Umor vitreo | 17 |
| 1.1.9 Retina e fondo oculare | 19 |
| 1.2 Meccanismo della visione..... | 22 |
| 1.3 Gli annessi oculari..... | 27 |
| 1.3.1 L'orbita e le fasce orbitarie | 27 |
| 1.3.2 Le palpebre..... | 29 |
| 1.3.3 La congiuntiva | 31 |
| 1.3.4 I muscoli del bulbo oculare..... | 32 |
| 1.3.5 La terza palpebra | 32 |
| 1.4 La vascolarizzazione dell'occhio | 33 |
| 1.5 L'innervazione dell'occhio ed i riflessi oculari | 35 |
| 1.6 Le ghiandole lacrimali e l'apparato lacrimale | 38 |
| 1.7 Il film lacrimale precorneale..... | 39 |
| 2. MECCANISMI DI RISPOSTA DELLA CORNEA AD AGENTI LESIVI | 42 |
| 3. IL SEQUESTRO CORNEALE | 45 |
| 3.1 Eziopatogenesi, predisposizioni e sintomi clinici..... | 45 |
| 4 TERAPIA DEL SEQUESTRO CORNEALE | 51 |
| 4.1 Terapia medica..... | 51 |
| 4.2 Terapia chirurgica..... | 52 |
| 4.2.1 Cheratectomia superficiale con trasposizione della terza palpebra..... | 53 |
| 4.2.2 Cheratectomia profonda e copertura con peduncolo congiuntivale, flap congiuntivale libero ed a ponte..... | 55 |
| 4.2.3 Cheratectomia profonda con trasposizione corneo-congiuntivale o corneo-sclerale. | 57 |
| 4.2.4 Cheratoplastica lamellare omologa ed eterologa | 59 |
| 4.2.5 Cheratectomia e copertura con xenoinnesti..... | 60 |
| 5 STUDIO RETROSPETTIVO DELLA CASISTICA | 62 |
| 5.1 Obiettivi dello studio..... | 62 |
| 5.2 Materiali e metodi | 62 |
| 5.2.1 Casistica clinica | 62 |
| 5.2.2 Protocollo chirurgico..... | 62 |
| 5.2.3 Analisi statistica..... | 64 |
| 5.3 Risultati..... | 65 |
| 6. DISCUSSIONE | 75 |
| 7. CONCLUSIONI | 85 |
| RINGRAZIAMENTI | 87 |
| Bibliografia..... | 89 |

ABSTRACT

Corneal sequestrum is a corneal disorder that is common among cats. It is characterized by an oval or circular pigmented lesion in the central or paracentral cornea. The aim of this retrospective study is to compare results that were obtained by using different surgical techniques to those reported in the literature, in order to identify the best surgical technique for reducing corneal sequestration recurrences.

175 eyes of cats of different breed, age and gender were included in the study. Persian cats were the most represented group (124/175; 70,86%), followed by Exotic breed (22/175; 12,57%), domestic short hair cats (22/175; 12,57%) and a minor group of 7 cases (7/175; 4%) of different breeds. A superficial or depth lamellar keratectomy, followed by a graft procedure, was performed in all eyes. The tectonic graft and/or protective support used were: eyelid's flap (n=84), conjunctival pedicle flap (n=51), corneoscleral transposition (n=7), corneoscleral transposition + conjunctival pedicle flap (n=6), bioSIS[®] graft (n=9), bioSIS[®]+ third eyelid's flap (n=4), bioSIS[®]+ third eyelid's flap + conjunctival pedicle graft (n=1), bioSIS[®]+ conjunctival pedicle graft (n=5), conjunctival free island graft (n=6), third eyelid's flap + conjunctival pedicle graft (n=1) and bridge conjunctival graft (n=1). Sequestra recurred in 20 eyes (20/175; 11,43%). No significant difference between incidence of recurrence was correlated to breed, sex or age. Moreover, there was no statistical difference in the rate of recurrence between the different graft procedures. However, the eyelid's flap (10,71%) and the conjunctival pedicle flap (11,76%) were linked to the least percentages of recurrence.

1. ANATOMIA E FISIOLOGIA DELL' OCCHIO

L'occhio, organo pari della vista, è costituito dal bulbo oculare e dagli annessi oculari. L'orbita è la componente ossea nella quale il globo oculare è contenuto assieme ad un'abbondante quantità di tessuto adiposo periorbitario. Essa è formata e delimitata dal processo orbitale (o zigomatico) dell'osso frontale dorsalmente e medialmente, dall'osso lacrimale e dal processo orbitale (o temporale) dell'osso zigomatico anteroventralmente, e dall'osso sfenoide che costituisce il pavimento dell'orbita.

Nel cane l'orbita ossea è incompleta ed il bulbo oculare viene protetto lateralmente da una struttura legamentosa di sostegno: il legamento orbitario (Dyce et al., 2009). Nel gatto, invece, l'orbita si presenta più ampia e con margini ossei più completi. Infatti, sul margine ovoidale tra i processi orbitali dell'osso frontale e dell'osso zigomatico è presente solo un piccolo spazio che viene chiuso dal legamento orbitario (Dyce et al., 2009). Le palpebre si inseriscono sui margini ossei dell'orbita e si chiudono ad intermittenza per proteggere la cornea e permettere la distribuzione del film lacrimale.

Poiché i carnivori sono predatori naturali, i loro occhi sono posizionati in modo da favorire un'ampia visione binoculare, e dunque una migliore percezione della profondità, nonché una miglior visualizzazione degli oggetti vicini (Slatter et al., 2008).

1.1 Il bulbo oculare

Il bulbo oculare presenta una forma quasi sferica. Il punto più sporgente della cornea è detto polo anteriore del bulbo oculare, il punto più sporgente sulla superficie posteriore dell'occhio è detto polo posteriore del bulbo oculare e la linea retta passante per questi due punti è l'asse ottico. L'equatore è la circonferenza immaginaria equidistante dai poli che circonda il bulbo oculare, mentre i meridiani sono circonferenze (sempre immaginarie) passanti per i poli (Dyce et al., 2009).

Il nervo ottico emerge in posizione leggermente ventrale al polo posteriore.

Il bulbo oculare è formato da tre tonache che, essendo strettamente connesse tra di loro, creano una guaina stratificata che avvolge e contiene la parte liquida e gelatinosa dell'occhio (Dyce et al., 2009). La tonaca esterna è la tonaca fibrosa che, essendo costituita da tessuto connettivo denso, permette di mantenere la forma e la rigidità dell'occhio. Essa consiste nella sclera e nella cornea che si raffrontano a livello di limbo corneale. La tonaca vascolare, anche detta uvea, è composta (in sequenza antero-posteriore) dall'iride, dal corpo ciliare e dalla corioidea. L'ultima tonaca, detta tonaca

interna o nervosa, è formata dalla retina che contiene i fotorecettori. Il bulbo oculare è costituito anche da una camera anteriore ed una posteriore che comunicano tra loro ed all'interno delle quali si raccoglie l'umor acqueo; posteriormente a queste è presente il corpo vitreo contenente un fluido gelatinoso detto umor vitreo (Dyce et al., 2009).

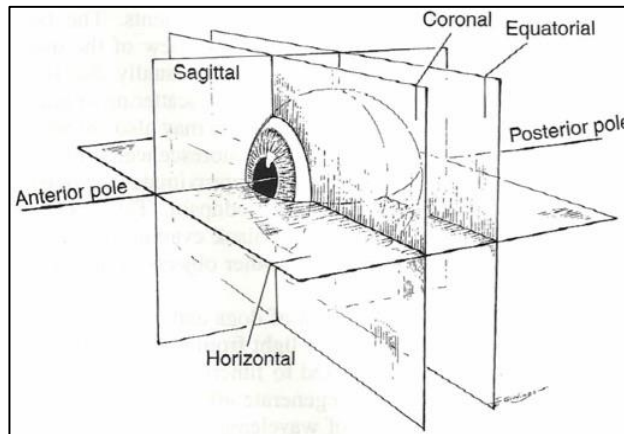


Figura 1: I piani dell'occhio (Slatter et al., 2008)

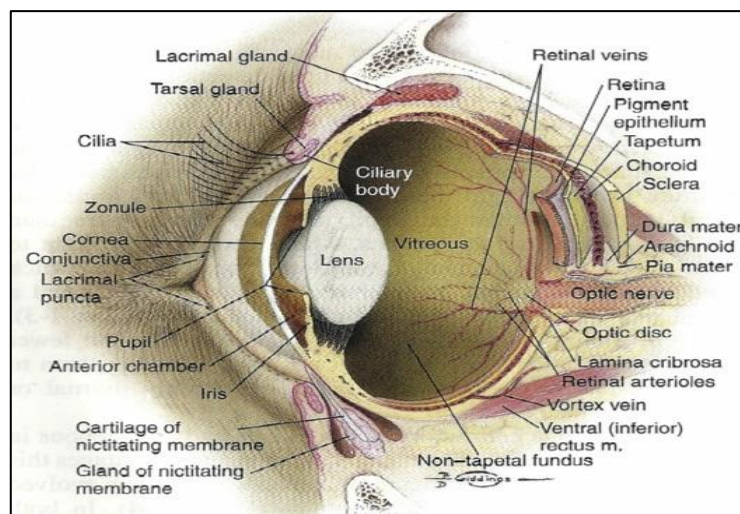


Figura 1.1: Le strutture interne dell'occhio (Slatter et al., 2008)

1.1.1 La cornea

La cornea costituisce il terzo anteriore della tonaca fibrosa e corrisponde alla superficie più esterna ed anteriore del globo oculare (McGavin e Donald M., 2010). Nel gatto ha una forma ellittica leggermente conica con un raggio di curvatura di 8-9 mm (Slatter et al., 2008); il diametro orizzontale misura 16-17 mm, mentre il diametro verticale è leggermente più corto e misura 15-16 mm (Gelatt, 2001). Lo spessore della cornea è circa di 0.58 mm sia perifericamente che centralmente (Gelatt, 2001).

La cornea è composta da quattro strati che, elencati in direzione antero-posteriore, sono: l'epitelio corneale con la lamina basale, lo strato stromale o sostanza propria, la membrana di Descemet e l'endotelio. L'epitelio corneale deriva embriologicamente dall'ectoderma del calice ottico, mentre il restante stroma (formato da fibre collagene di tipo I e fibronectina) deriva dal mesenchima compreso tra l'ectoderma e il neuroectoderma. Anche l'endotelio corneale deriva dal mesenchima situato tra la cornea in sviluppo e la vescicola del cristallino (McGavin e Donald M., 2010).

Il film lacrimale che copre e protegge l'occhio ha diverse funzioni: nutre la cornea, ne mantiene la superficie omogenea, lubrifica le aree oculari esposte e fa da protezione all'ingresso di patogeni o corpi estranei (FISIOLOGIA, C A E. 2009). Esso è costituito da uno strato lipidico più esterno secreto dalle ghiandole di Meibomio, da uno strato acquoso secreto dalla ghiandola lacrimale e da quella della terza palpebra, e uno strato mucoso prodotto dalle cellule globose della congiuntiva. La componente acquosa del film lacrimale contiene elettroliti, glucosio ed ossigeno che sono necessari al metabolismo corneale, oltre a proteine della risposta infiammatoria come albumine e IgA, IgG, IgD, IgM. Si stima che il film lacrimale misuri in media 7-10 micrometri, anche se nuovi studi con misurazione laser sembrano ipotizzare un valore molto maggiore attorno ai 35-40 micrometri (FISIOLOGIA, C A E. 2009).

L'*epitelio corneale* è di tipo stratificato, squamoso e non cheratinizzato; le cellule basali, di forma colonnare e responsabili della sintesi della lamina basale, sono ancorate a quest'ultima tramite emidesmosomi. La lamina basale è composta principalmente da laminina, fibronectina e collagene di tipo IV. È connessa al sottostante stroma tramite emidesmosomi e fibrille ancorate a placche proteiche stromali. Le cellule basali vengono continuamente rimpiazzate da cellule staminali provenienti per migrazione centripeta dal limbo corneale. Il fisiologico turnover epiteliale richiede circa sette giorni. Lo strato epiteliale intermedio è composto da cellule a forma di farfalla ("wing cells") che, rispetto allo strato basale, assumono una forma appiattita e perdono parte dei loro organelli intracellulari. Lo strato superficiale squamoso, costituito da due o tre strati di cellule, presenta dei microvilli dotati di glicocalice che ancorano lo strato mucinoso del film lacrimale. L'epitelio superficiale e la congiuntiva bulbare si incontrano a livello di limbo, mentre la superficie posteriore si unisce con la parte anteriore dell'iride nell'angolo irido-corneale. La presenza di giunzioni strette, o tight junction, tra le cellule epiteliali

permette di creare una vera e propria barriera locale che evita il passaggio di diverse sostanze, tra cui farmaci non liposolubili ad uso topico (Slatter et al., 2008).

Lo stroma, o sostanza propria, è formata da cheratociti, matrice extracellulare, fibre collagene di tipo I e, in minor parte, di tipo IV. Esso rappresenta il 90% dello spessore della cornea e dà rigidità al globo (Slatter et al., 2008). Le fibre di collagene si dispongono in foglietti o lamelle ortogonali che hanno un diametro uniforme e sono delimitate da una membrana anteriore, una posteriore e si fondono a livello di limbo con le lamelle sclerali. La particolare disposizione delle lamelle corneali permette il passaggio delle onde elettromagnetiche del campo della luce visibile; è necessario che la distanza tra le fibre collagene non superi la metà della lunghezza delle onde assorbite (Guandalini et al., 2006). I cheratociti, fibroblasti modificati, sono presenti in modo sparso tra le lamelle ma mantengono connessioni l'uno con l'altro tramite prolungamenti cellulari. La loro funzione è quella di produrre la matrice extracellulare che va a riempire gli spazi tra le lamelle di collagene. La matrice è costituita da proteoglicani, GAG e glicoproteine. Una particolare glicoproteina, chiamata lumicano, sembra essere maggiormente coinvolta nel meccanismo del mantenimento della trasparenza corneale (Kao e Liu., 2002). Leucociti, macrofagi e linfociti sono raramente presenti nello stroma corneale sano, mentre si trovano più spesso a livello di epitelio.

La membrana di Descemet è la lamina basale dell'endotelio corneale che si trova tra lo stroma posteriore e l'endotelio stesso. Viene prodotta in modo continuo dalle cellule endoteliali durante tutta la vita dell'animale, motivo per cui con l'avanzare dell'età questa membrana aumenta di spessore. Essa è molto resistente ed elastica, ma la sua rottura può avvenire in seguito a traumi penetranti, ulcere, o per aumento della pressione del bulbo oculare (glaucoma) (Slatter et al., 2008).

L'endotelio corneale è monostratificato, costituito da cellule esagonali legate tra loro tramite giunzioni serrate ed è situato posteriormente alla membrana di Descemet. Il suo compito è mantenere lo stroma corneale disidratato, condizione necessaria al fine di preservare la trasparenza della cornea stessa, tramite un meccanismo di pompaggio attivo di sodio e bicarbonato dalla cornea all'umor acqueo. Il flusso di ioni crea così un gradiente osmotico per cui l'acqua dallo stroma corneale è trasportata nell'umor acqueo (Slatter et al., 2008). L'endotelio con il progredire dell'età si assottiglia, come conseguenza della limitata capacità replicativa delle cellule endoteliali, portando allo sviluppo di edema corneale; la soglia critica di densità cellulare per mantenere la

disidratazione della cornea è di 1500 cellule/mm², mentre normalmente in un animale sano tale valore di densità si aggira attorno a 2500-3000 cellule/mm² (Gelatt, 2001). La cornea rappresenta il mezzo diottrico con il maggior potere di rifrazione e tale capacità è data dal grado di curvatura e dalla trasparenza della cornea stessa (Slatter et al., 2008). La trasparenza corneale è permessa da una serie di accorgimenti fisiologici: l'assenza di vasi sanguigni, la bassa densità cellulare, l'assenza di pigmentazione, la disidratazione corneale, una superficie ottica liscia grazie alla presenza del film lacrimale e l'assenza di cheratizzazione (Slatter et al., 2008). Il metabolismo corneale è di tipo glucidico e si ha la produzione, sia aerobia che anaerobia, di ATP e NADPH (Guandalini et al., 2006). Le sostanze nutritive, mancando la componente vascolare, vengono portate dal film lacrimale, dall'umor acqueo o per diffusione dai vasi del limbo. L'innervazione è molto sviluppata e numerose sono le terminazioni sensoriali libere all'interno dell'epitelio anteriore (che si è visto essere la parte più innervata della cornea). L'innervazione deriva dai nervi ciliari lunghi, diramazioni della branca oftalmica del nervo trigemino (Dyce et al., 2009). Tali fibre nervose costituiscono la via efferente sensitiva.

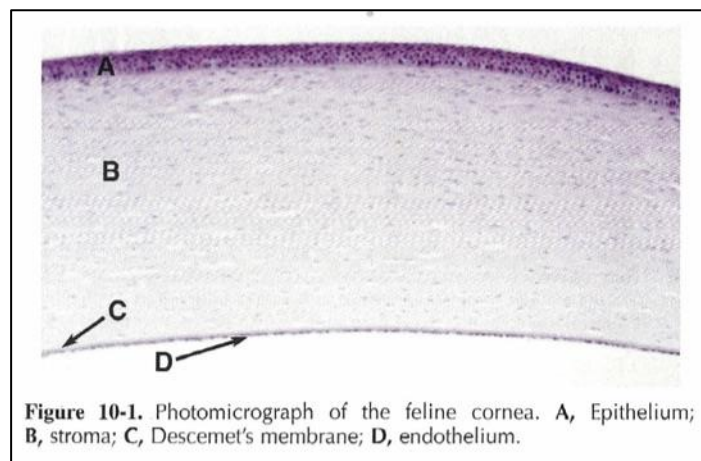


Figura 1.2: Struttura microscopica della cornea (Slatter et al., 2008).

1.1.2 La sclera

La sclera è la parte posteriore della tonaca fibrosa ed è formata da fibre collagene che le conferiscono il tipico aspetto bianco opaco. Cornea e sclera si congiungono ed incontrano a livello di limbo corneosclerale. Da qui la sclera prosegue fino a terminare posteriormente a livello di lamina cribrosa, mentre l'epitelio corneale si trasforma e si continua con l'epitelio congiuntivale (Slatter et al., 2008). Il limbo appare come un'area

di circa 0.5-1 mm, poco pigmentata, in cui sono presenti melanociti e cellule epiteliali staminali (Gelatt, 2001). La lamina cribrosa è posta ventralmente al polo posteriore della sclera ed è la sede di passaggio degli assoni delle cellule gangliari retiniche. In questo punto la porzione intrabulbare del nervo ottico viene circondata da una guaina connettivale che congiunge la dura madre alla sclera. Negli animali giovani la sclera è sottile e lascia intravedere la sottostante corioide che le conferisce una colorazione leggermente bluastra (Dyce et al., 2009).

Anatomicamente, dall'esterno verso l'interno la sclera si divide in quattro strati: la capsula di Tenone, l'episclera, lo stroma e la lamina fusca. La capsula di Tenone, o guaina del bulbo oculare, è un sottile strato di tessuto connettivo fibroso che riveste il bulbo oculare fino al limbo. Posteriormente la capsula avvolge i muscoli retti e si fonde con il perimio e le fasce durali del nervo ottico. L'episclera è un sottile strato di tessuto connettivo, costituito prevalentemente da collagene, che connette la capsula di Tenone alla sclera sottostante. È molto vascolarizzata e più spessa nella porzione anteriore del globo oculare (Slatter et al., 2008).

Lo stroma è formato da fibre collagene, fibrociti e melanociti. La parte più interna della sclera, o lamina fusca, è la zona di transizione tra la sclera e le strutture interne della corioide e del cristallino. Molti nervi, piccole arterie e vene (dette vene vorticosi) perforano la sclera in più punti (Slatter et al., 2008).

1.1.3 L'iride

L'iride fa parte della tonaca vascolare dell'occhio ed è sospesa tra cornea e cristallino (Dyce et al., 2009). È un diaframma anulare ed appiattito che si lega alla sclera tramite il legamento pettinato ed il corpo ciliare. L'apertura centrale è detta pupilla e permette alla luce di raggiungere il fondo dell'occhio, mentre la parte periferica pigmentata è denominata ciliare. L'iride divide la porzione compresa tra la cornea e il cristallino in una camera anteriore ed una posteriore, entrambe riempite di umor acqueo (Dyce et al., 2009).

È formata da tre strati: l'epitelio anteriore, lo stroma e l'epitelio posteriore pigmentato. L'epitelio anteriore, contenente fibroblasti, si estende fino all'angolo irido-corneo-sclerale e si continua con l'epitelio posteriore. Quest'ultimo è formato da due strati di cellule pigmentate e si continua, a sua volta, con l'epitelio del corpo ciliare. Lo stroma

rappresenta la parte intermedia ed è formato da collagene, fibroblasti, melanociti, vasi, fibre nervose e la muscolatura liscia (Slatter et al., 2008).

La colorazione dell'iride dipende dalla quantità di cellule stromali contenenti pigmento: più sono le cellule pigmentate e più l'iride assume una colorazione bruna. Se le cellule pigmentate sono in minima quantità, l'iride si colora di blu (Dyce et al., 2009). All'interno dello strato stromale sono presenti i due muscoli dell'iride: il muscolo dilatatore della pupilla e il muscolo sfintere. Il primo è sotto il controllo dell'innervazione simpatica ed il secondo sotto controllo del sistema parasimpatico (nervo oculomotore). In miosi, il muscolo sfintere della pupilla si contrae e il dilatatore si rilassa. Ciò permette di ridurre la dimensione della pupilla e di conseguenza ridurre la quantità di luce che vi entra. Al contrario, durante la midriasi la pupilla aumenta di diametro per il rilassamento del muscolo sfintere e la contrazione del muscolo dilatatore. In questo caso la quantità di luce che attraversa la pupilla aumenta (Slatter et al., 2008).

L'innervazione dell'iride è assicurata dalle arterie ciliari anteriori e dalle arterie posteriori lunghe che si anastomizzano dorsalmente e ventralmente formando il circolo arterioso maggiore dell'iride (Dyce et al., 2009).

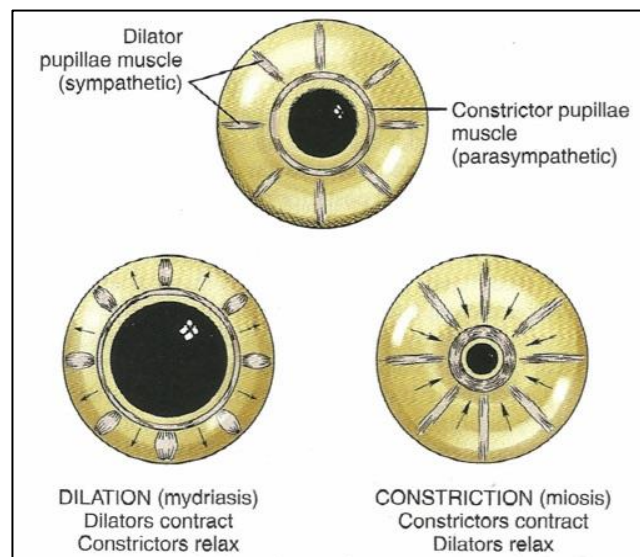


Figura 1.3: Dilatazione e costrizione dell'iride (Slatter et al., 2001).

1.1.4 Il corpo ciliare

Il corpo ciliare appare come un anello sporgente ed è localizzato a livello dell'angolo irido-corneo-sclerale. Presenta dei rilievi radiali, o processi ciliari, che convergono

verso il cristallino (Dyce et al., 2009). La parte di corpo ciliare contenente tali rilievi prende il nome di pars plicata, mentre la restante parte posteriore appiattita è chiamata pars plana. Dai processi ciliari si dipartono le fibre zonulari, dirette all'equatore del cristallino, che sostengono la lente (Dyce et al., 2009). Visto in sezione, il corpo ciliare appare di forma triangolare con una faccia in continuità con la sclera, l'altra volta verso il corpo vitreo e la base verso l'iride a formare l'angolo irido-corneale (Slatter et al., 2008). Il corpo ciliare è formato anteriormente da due strati di epitelio: il più interno pigmentato, continuazione dell'epitelio della retina, e uno strato epiteliale esterno in continuità con quello posteriore dell'iride. Lo stroma sottostante è formato da fibroblasti, tessuto connettivo, nervi e vasi.

I processi ciliari sono deputati alla produzione dell'umor acqueo ed a livello della pars plicata sono presenti dei capillari fenestrati.

Tra il corpo ciliare e la sclera è presente il muscolo ciliare la cui funzione è l'accomodazione dell'immagine. Tale meccanismo è controllato da fibre nervose sia del sistema simpatico, che del sistema parasimpatico in modo da poter mettere a fuoco oggetti lontani e vicini (Dyce et al., 2009).

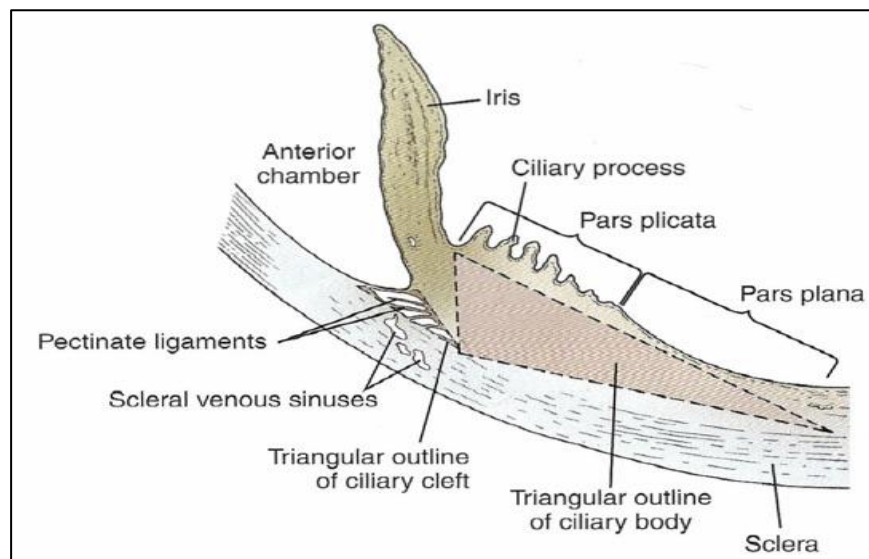


Figura 1.4: Anatomia del corpo ciliare (Slatter et al., 2001).

1.1.5 La corioide

La corioidea consiste in una densa rete di vasi sanguigni inclusi all'interno di un tessuto connettivo pigmentato (Dyce et al., 2009). Le arterie ciliari posteriori e le vene vorticosi alimentano e drenano questa fitta rete. La corioide costituisce la parte posteriore

dell'uvea, o tonaca vascolare dell'occhio, che è formata anteriormente dai corpi ciliari e dall'iride. La corioide presenta tre strati visibili istologicamente: la sopracorioide, lo strato superficiale, quello intermedio e lo strato profondo.

La sopracorioide è una zona avascolare e pigmentata di tessuto connettivo posta adiacente alla sclera; lo strato superficiale sottostante contiene i vasi sanguigni più grandi ed i melanociti; lo strato intermedio presenta capillari di medie dimensioni e racchiude il tappeto lucido; quello più profondo è costituito da una fitta rete di capillari di piccolo calibro che aderisce alla retina (Slatter et al., 2001). I capillari della corioide sono fenestrati ma grazie alla presenza della barriera emato-retinica, non vi è alcun passaggio di sostanze.

Il tappeto lucido, nei carnivori, è uno strato avascolare e cellulare posto tra il letto capillare e la rete di vasi superficiale. Le cellule qui presenti contengono all'interno del citoplasma dei cristalli di zinco e riboflavina che scompongono la luce, dando luogo alla caratteristica iridescenza (Dyce et al., 2009). Tale meccanismo, importante durante la visione notturna, permette alla luce scomposta e riflessa dai cristalli di attivare un maggior numero di fotorecettori della retina (Dyce et al., 2009).

1.1.6 L'umor acqueo

L'umor acqueo è il liquido chiaro ed acquoso contenuto nella camera anteriore e posteriore dell'occhio (Gelatt, 2001). È prodotto dai corpi ciliari sia tramite processi di trasporto attivo, sia per diffusione passiva secondo gradiente osmotico ed ultrafiltrazione (Slatter et al., 2008). Con il meccanismo di trasporto attivo, molecole cariche positivamente e ioni vengono portati dall'epitelio dei corpi ciliari nell'umor acqueo. Na^+ e Cl^- sono pompate attivamente dalle membrane cellulari dei corpi ciliari all'interno della camera posteriore dell'occhio, creando un gradiente osmotico che richiama l'acqua. L'enzima anidrasi carbonica produce, a partire da anidride carbonica ed acqua, l'acido carbonico che si dissocia in bicarbonato. Essendo carico negativamente, il bicarbonato richiama sodio e di conseguenza acqua all'interno della camera. Le pompe Na^+/K^+ ATPasi nello strato interno dell'epitelio dei corpi ciliari servono per mantenere il gradiente osmotico necessario per richiamare acqua nell'umor. Piccole molecole lipofile possono passare per diffusione passiva dalle membrane cellulari dei corpi ciliari all'umor acqueo (Slatter et al., 2008).

L'umor acqueo apporta nutrienti a cornea e cristallino, rimuove i cataboliti e fluisce dalla camera posteriore verso la camera anteriore attraversando il foro pupillare. Viene per la maggior parte drenato a livello di angolo irido-corneo-sclerale, da cui passa attraverso i vasi della sclera nelle vene ciliari anteriori e vorticosi (Slatter et al., 2008). Solo una piccola percentuale di umor (tra il 5% e il 15%) viene drenata per via uveo-sclerale; in questo caso il fluido passa dagli spazi sopraciliari e sopracorioidei alla sclera, poi nell'orbita e viene drenato dalle vene e dai vasi linfatici orbitali. L'equilibrio tra la produzione e il drenaggio dell'umor acqueo determina la pressione intraoculare (IAP) (Slatter et al., 2008).

1.1.7 Il cristallino

Il cristallino, o lente, è una struttura biconvessa, avascolare e trasparente (Slatter et al., 2008). Ha una forma variabile ed è elastica, caratteristica necessaria per permetterne la modificazione in base al rilassamento o alla contrazione del muscolo dei corpi ciliari. La lente è tenuta in posizione dalle fibre zonulari che si estendono dall'equatore della lente al corpo ciliare (Slatter et al., 2008). È posta a contatto con l'iride e con l'umor vitreo. Si distinguono anatomicamente un polo anteriore poco convesso, un polo posteriore, un equatore ed un asse centrale che coincide con l'asse ottico dell'equatore (Dyce et al., 2009).

La lente è formata da una spessa capsula elastica di collagene di tipo VI prodotta dall'epitelio cubico del cristallino. Tale epitelio è monostratificato, cuboidale e posizionato solo sulla superficie anteriore, appena al di sotto della capsula. A livello di equatore le cellule epiteliali modificano la loro forma allungandosi e migrano verso l'interno della lente. Durante la migrazione si trasformano, perdendo gli organelli intracitoplasmatici ed i nuclei (Slatter et al., 2008). In questo modo vanno a formare le fibre lenticolari secondarie, o sostanza propria del cristallino, mentre le fibre primarie che si sviluppano dall'epitelio durante la fase embrionale danno origine al nucleo centrale del cristallino. Le fibre secondarie si dispongono in strati concentrici attorno al nucleo (Slatter et al., 2008).

Il cristallino si forma embriologicamente dall'ectoderma inspessito del calice ottico, anche chiamato placode del cristallino. Durante la formazione della vescicola ottica, il placode del cristallino si invagina dando origine a una struttura isolata e rotondeggiante posta all'apertura del calice ottico (Dyce et al., 2009).

La funzione del cristallino è di permettere l'accomodazione dell'immagine. L'accomodazione, ovvero la messa a fuoco di immagini poste a diversa distanza, dipende dal cambiamento di forma del cristallino. La forma è influenzata dall'elasticità della capsula e dalla trazione esercitata dal muscolo ciliare sulle fibre zonulari: il rilassamento del muscolo ciliare mette in tensione le fibre zonulari conferendo al cristallino una forma appiattita per la messa a fuoco di oggetti lontani; al contrario, la contrazione del muscolo crea un rilassamento delle fibre zonulari e la lente assume una forma sferica per la messa a fuoco di oggetti vicini. Nel cane, rispetto all'uomo, il muscolo ciliare è meno sviluppato e la capacità di accomodazione è minore, ma la maggiore curvatura della cornea compensa in parte tale problema (Dyce et al., 2009). La trasparenza della lente è frutto della sua struttura altamente organizzata, della scarsità di organelli intracitoplasmatici e dello stato di disidratazione (Slatter et al., 2008). Il metabolismo del cristallino si basa essenzialmente sulla glicolisi anaerobica ed il glucosio è fornito dall'umor acqueo (McGavin, 2010).

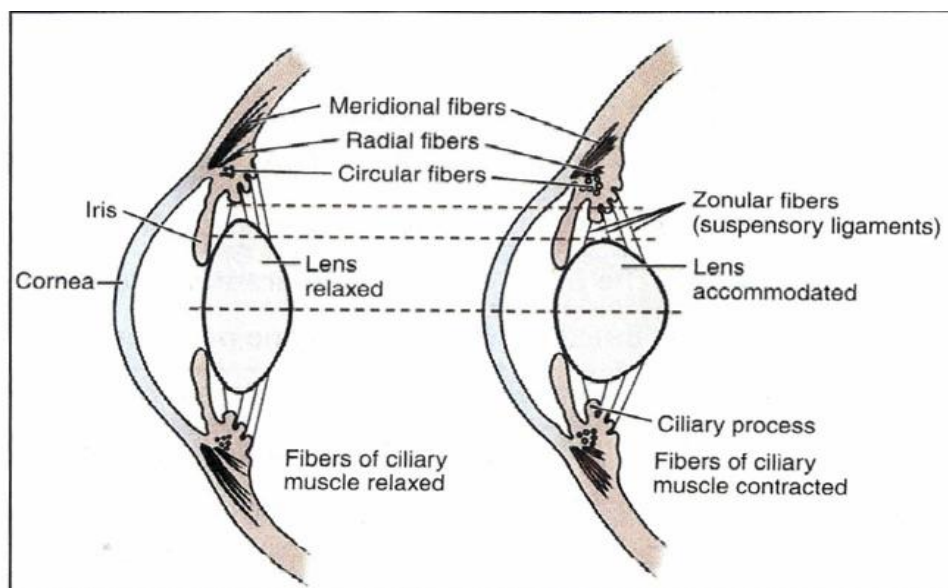


Figura 1.5: meccanismo di accomodazione della lente. A sinistra: accomodazione per visione di oggetti lontani. A destra: accomodazione per visione di oggetti vicini.

1.1.8 Umor vitreo

L'umor vitreo è un idrogel trasparente contenuto nella camera posteriore dell'occhio ed occupa circa l'80% del volume del bulbo oculare (Slatter et al., 2008). Anteriormente è in contatto con il cristallino, lateralmente con il corpo ciliare e le fibre zonulari,

posteriormente con la retina e il nervo ottico. È composta dal 99% di acqua e dal restante 1% di fibre collagene, acido ialuronico e ialociti (Slatter et al., 2008). La sua funzione principale è di sostenere e proteggere le strutture oculari, inoltre grazie alla sua trasparenza permette il passaggio della luce alla retina (McGavin, 2010).

Per quanto riguarda lo sviluppo embrionale, si riconoscono tre tipi di vitreo: il vitreo primario, il vitreo secondario e quello terziario. Il vitreo primario deriva da fibre ectodermiche e mesodermiche che si sviluppano tra l'abbozzo della lente e il calice ottico; il vitreo secondario si sviluppa tra il disco ottico e la superficie anteriore della retina, spostando il vitreo primario verso la porzione assiale della cavità vitreale. I residui del vitreo primario costituiscono un canale, denominato canale di Cloquet, che si estende dal calice ottico alla superficie posteriore della lente. Il sistema ialoideo, che vascolarizza il cristallino nella fase fetale, è incluso nel vitreo primario ed il suo processo di atrofizzazione inizia attorno al quarantacinquesimo giorno di gestazione e si completa tra le due e le quattro settimane post natali. Il vitreo secondario si divide in una zona corticale ed una centrale, che contiene acido ialuronico (prodotto dagli ialociti) e monociti. Il vitreo terziario è costituito da fibre di collagene e si forma tra l'equatore della lente e il calice ottico, dando origine alle fibre zonulari ed alla base del vitreo (Slatter et al., 2008).

La parte esterna del corpo vitreo, chiamata corteccia, è formata da una fitta rete di fibre collagene che sostiene il corpo vitreo e ne permette l'ancoraggio alle strutture circostanti. La corteccia dà origine alla base del vitreo, alla membrana ialoidea anteriore che lo connette alla capsula posteriore del cristallino ed alla membrana ialoidea posteriore che aderisce alla retina. La matrice interna del corpo vitreo è formata da mucopolisaccaridi ricchi di acido ialuronico. Gli ialociti, cellule deputate alla sintesi di acido ialuronico e con attività fagocitaria, sono presenti specialmente a livello del vitreo corticale, in prossimità dei corpi ciliari (Slatter et al., 2008). L'acido ialuronico è un glucosamminoglicano che determina la viscosità dell'umor vitreo, il quale può essere allo stato di gel o allo stato di fluido. Le molecole di acido ialuronico hanno la capacità di assorbire o espellere acqua tramite un meccanismo dipendente da cariche elettriche. In condizioni normali le cariche negative dell'acido ialuronico sono in equilibrio con le cariche positive degli ioni sodio e delle molecole proteiche. La perdita di cariche positive determina un'espansione dell'acido ialuronico perché le cariche negative tendono a respingersi tra loro assorbendo un maggior numero di molecole d'acqua. La

perdita, invece, di cariche negative determina l'effetto opposto (Slatter et al., 2008). Negli animali anziani c'è un fisiologico aumento di fluidità del vitro.

1.1.9 Retina e fondo oculare

La retina è l'organo responsabile della trasduzione della luce in segnale neuronale (Slatter et al., 2008). Il fondo oculare è una parte del segmento posteriore, valutabile tramite esame oftalmoscopico, costituito da retina, coroide e papilla ottica.

La retina origina dal neuroectoderma che riveste il calice ottico embrionale. Il calice ottico deriva dalla vescicola ottica, estroflessione dell'encefalo anteriore: per questo motivo la retina è considerata parte del sistema nervoso centrale (McGavin, 2010).

La retina è suddivisa in due parti: una retina cieca ed una retina ottica. La retina cieca, che rappresenta circa 1/3 della retina totale, è un sottile strato pigmentato che riveste i corpi ciliari e la faccia posteriore dell'iride (Dyce et al., 2009). Non presenta fotorecettori e non viene raggiunta dalla luce. La retina ottica, o neuroretina, invece è l'unica parte ad essere raggiunta dalla luce ed a presentare i fotorecettori. Costituisce i 2/3 della retina ed è formata da dieci strati (Slatter et al., 2008).

La neuroretina, o retina, è composta da 10 strati: l'epitelio pigmentato retinico esterno, uno strato di fotorecettori, una membrana limitante esterna, uno strato nucleare esterno, uno strato plessiforme esterno, uno strato nucleare interno, uno strato plessiforme interno, uno strato di cellule gangliari, uno strato di fibre del nervo ottico ed una membrana limitante interna (Figura 1-5).

L'*epitelio pigmentato retinico* è costituito da cellule di forma esagonale, connesse tra loro da giunzioni serrate che fungono da barriera emato-retinica, e si trova adeso alla corioide. È pigmentato (per la presenza di granuli di melanina) nella parte non tappetale del fondo e permette alla luce non assorbita dai fotorecettori di essere riflessa dal tappeto verso i recettori stessi, meccanismo importante nel caso di visione in condizioni di scarsa illuminazione. L'EPR trasporta le sostanze metaboliche necessarie alla retina ottica, ne rimuove i metaboliti e svolge un'attività di fagocitosi nei confronti dei dischi che esfoliano dai fotorecettori, riciclando la vitamina A ed i lipidi polinsaturi (Slatter et al., 2008).

I *fotorecettori*, denominati coni e bastoncelli, sono cellule sensibili alla luce e costituiscono il primo neurone della via ottica. Presentano un segmento esterno, un ciglio connettore, un segmento interno, un nucleo e una terminazione sinaptica che si

connette con lo strato sottostante di cellule bipolari. Il segmento esterno è costituito da dischi membranosi impilati contenenti i pigmenti visivi, che hanno la funzione di trasdurre gli stimoli luminosi in segnali elettrici. Ogni fotopigmento risponde ad una specifica lunghezza d'onda, alla quale corrisponde la visione di un colore. Nei coni sono presenti quattro diversi tipi di fotopigmenti, ognuno dei quali assorbe una determinata lunghezza d'onda. Le onde assorbite corrispondono al colore blu, verde, rosso e ultravioletto. Nei bastoncelli è presente un solo pigmento, la rodopsina, costituito dall'opsina, una glicoproteina, e dal retinale, ossia un'aldeide della vitamina A. I coni permettono la visione a colori ed in condizioni di buona illuminazione, mentre i bastoncelli servono per la visione scotopica, ossia in condizioni di scarsa luminosità. Coni e bastoncelli presentano una diversa distribuzione all'interno della retina: nelle zone periferiche sono presenti quasi esclusivamente bastoncelli (low resolution vision), mentre, spostandosi verso il centro della retina, aumenta la concentrazione dei coni (light sensitive vision) (Slatter et al., 2008). I fotorecettori sono assenti a livello di emergenza del nervo ottico e la densità maggiore si trova nella cosiddetta area centrale (macula), situata a lato del nervo ottico stesso (Dyce al., 2009).

La *membrana limitante esterna* è formata dalle zonule aderenti che si trovano tra i processi delle cellule gliali radiali, o cellule di Müller, e quelli delle cellule fotorecetrici.

Lo strato *nucleare esterno*, o strato dei granuli esterno, è formato dai nuclei dei coni e dei bastoncelli.

Lo strato *plexiforme esterno* è costituito dalle terminazioni assoniche dei fotorecettori, altresì chiamate sferule nei bastoncelli e pedicelli nei coni, che contraggono sinapsi con i processi delle cellule orizzontali e con i dendriti delle cellule bipolari (Slatter et al., 2008).

Lo strato *nucleare interno*, o strato dei granuli interno, è formato da altri quattro strati: il primo contiene i nuclei delle cellule bipolari, il secondo delle cellule orizzontali, il terzo quello delle cellule amacrine e l'ultimo contiene le cellule di Müller. Queste sono astrociti fibrosi e dalla forma allungata che si estendono dalla membrana limitante esterna a quella interna con funzione di sostegno e nutrizione della retina (Slatter et al., 2008).

Lo strato *plexiforme interno* è sede di contatti sinaptici tra le cellule sopra elencate.

Lo strato delle cellule gangliari, che rappresentano il terzo neurone della via ottica, è formato dai pirenofori delle cellule gangliari e dai loro assoni che vanno a formare il nervo ottico.

La membrana limitante interna è formata dall'espansione dei processi delle cellule di Müller che si uniscono a formare uno strato continuo.

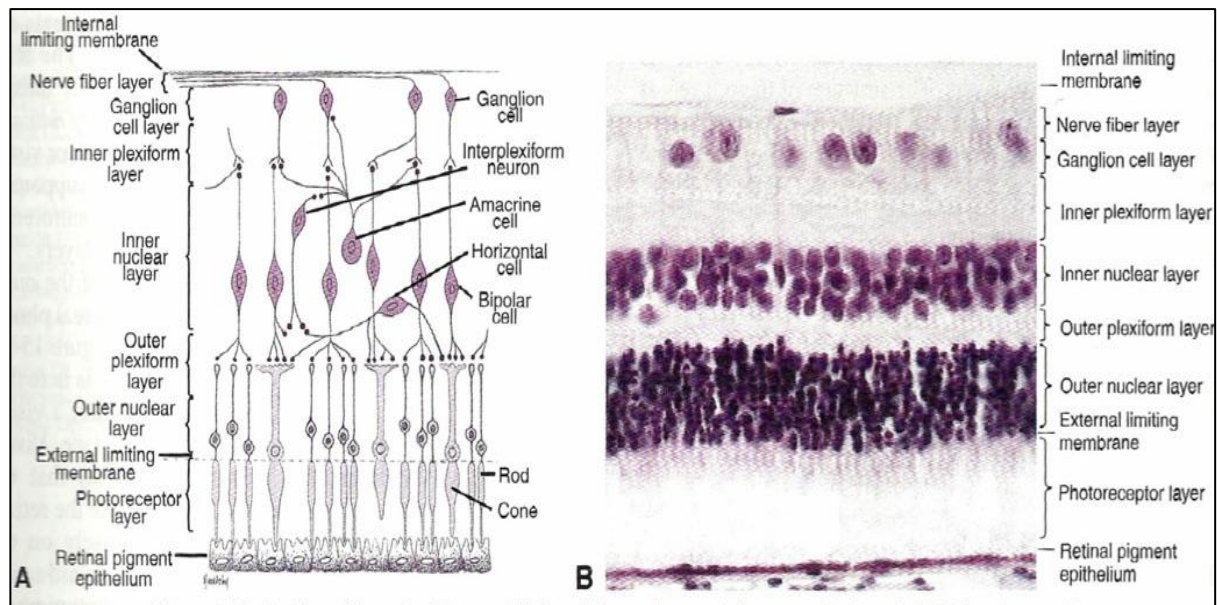


Figura 1.6, A: Schema degli strati della retina; B: immagine della retina al microscopio ottico.

La vascolarizzazione della retina è olangiotica sia nel cane che nel gatto, ovvero tutta la superficie retinica riceve una vascolarizzazione diretta. La parte più esterna della retina è vascolarizzata dai vasi della corioide, mentre la parte interna è vascolarizzata dai vasi retinici. Tali vasi presentano una barriera ematoretinica che permette al circolo retinico di non subire variazioni pressorie e mantenere una perfusione costante (Slatter et al., 2008).

Tramite esame oftalmoscopico è possibile vedere il fondo dell'occhio che presenta: il tappeto lucido, la papilla ottica, i vasi sanguigni e l'area non tappetale della retina (Slatter et al., 2008).

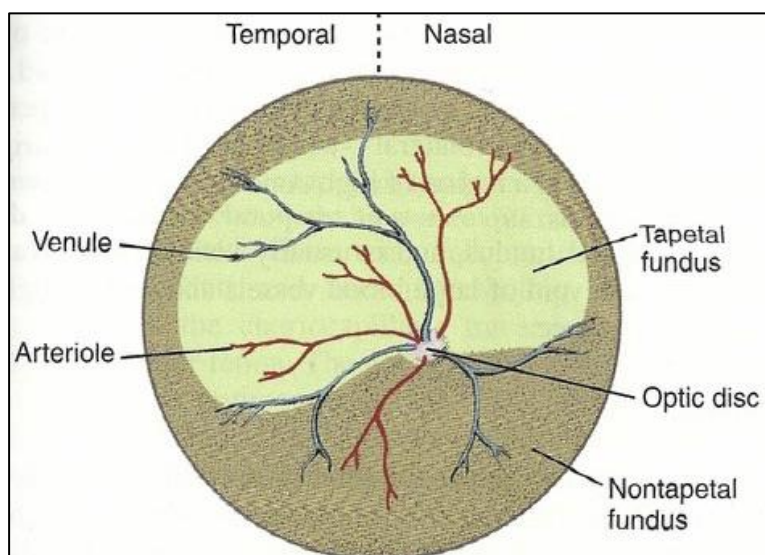


Figura 1.7: Disegno del fondo oculare (Slatter et al., 2008).

1.2 Meccanismo della visione

La visione è un meccanismo complesso che richiede l'indirizzamento della luce verso la retina, la corretta messa a fuoco dell'immagine, la percezione di quest'ultima a livello di retina e la trasmissione dell'informazione tramite le vie ottiche al cervello, dove subirà una rielaborazione (Slatter et al., 2008).

Il *campo visivo* è la porzione di spazio, misurata in gradi, che viene visualizzata da un occhio quando questo è fisso su un unico punto. In base al posizionamento dei globi oculari ed alla loro altezza da terra, l'animale avrà una percezione diversa dell'ambiente circostante. L'occhio destro e l'occhio sinistro visualizzano sia delle aree di campo visivo che non si sovrappongono, dove ho la cosiddetta *visione monoculare*, sia un'area comune in cui i due campi sovrapponendosi danno origine alla *visione binoculare*. L'estensione del campo visivo e della visione binoculare variano da specie a specie. Per quanto riguarda il gatto, l'area di visione monoculare è pari a 30 gradi per entrambi gli occhi e quella di visione binoculare è pari a 140 gradi. In totale il campo visivo raggiunge i 200 gradi. L'area cieca, pari ai restanti 160 gradi, rappresenta la parte di spazio non visualizzata (Dyce et al., 2009).

La visione binoculare permette la percezione della *profondità* tramite un meccanismo chiamato stereopsia. La *stereopsia* è la capacità di unire due punti di vista differenti dello stesso oggetto (dato il posizionamento degli occhi in punti diversi del viso) in un'unica immagine tridimensionale (Slatter et al., 2008). Se due immagini dello stesso

oggetto, provenienti da due punti di vista differenti, non si uniscono in un'unica immagine si ha una visione doppia.

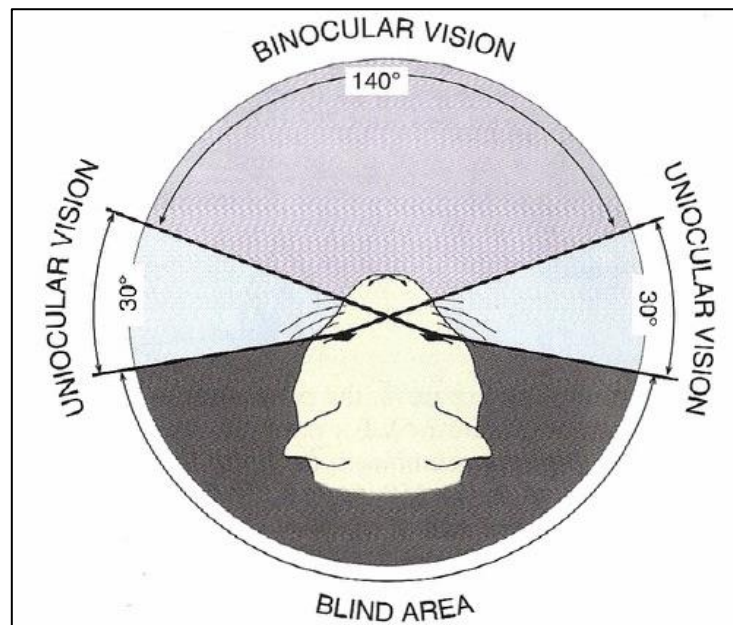


Figura 1.8: Campo visivo del gatto (Slatter et al., 2008)

L'*acuità visiva* rappresenta la capacità di distinguere visivamente due punti molto vicini l'uno all'altro, permettendo la visione dei dettagli e la loro corretta messa a fuoco (Sjaastad et al., 2010). Questa capacità dipende dalla retina, dalle proprietà di messa a fuoco dei mezzi ottici e dall'abilità interpretativa delle vie visive superiori. La retina svolge la maggior parte del lavoro di acuità visiva negli animali domestici: meno fotorecettori retinici convergono le loro sinapsi su un unico ganglio (che a sua volta trasmetterà l'informazione alla corteccia visiva) e maggiore è la capacità di distinguere visivamente due punti diversi ma molto vicini (Sjaastad et al., 2010). Nel gatto il rapporto tra cellule gangliari e fotorecettori retinici è di 1:4 (ossia ad un unico ganglio convergono le informazioni visive provenienti da quattro fotorecettori) nella zona della fovea, mentre si riduce a 1:20 nelle zone marginali della retina (motivo per cui le immagini diventano meno dettagliate ai margini del campo visivo) (Slatter et al., 2008). La *rifrazione* è il meccanismo responsabile della messa a fuoco dell'immagine. La cornea e, in minor parte, il cristallino sono le strutture oculari responsabili della deviazione dei raggi luminosi in modo da permetterne la convergenza sulla retina. Tale capacità dipende dal raggio di curvatura di queste strutture convesse e dalla differenza degli

indici di rifrazione tra l'aria e i tessuti oculari. I raggi luminosi viaggiando dall'aria (meno densa) alla cornea (struttura a densità maggiore) subiscono il maggior grado di rifrazione, data l'elevata differenza di densità tra i due mezzi (Dyce et al., 2009).

La convergenza dei raggi luminosi in un unico punto sulla retina permette la messa a fuoco dell'immagine. I raggi luminosi provenienti dagli oggetti più vicini tendono a divergere maggiormente rispetto a quelli provenienti da un oggetto più lontano all'occhio, necessitando di uno sforzo maggiore per essere messi a fuoco. Tale lavoro viene svolto dal cristallino che, tramite accomodazione, permette la messa a fuoco sia di oggetti vicini che lontani (Slatter et al., 2008). Infatti per visualizzare un oggetto lontano i muscoli ciliari si rilassano, sotto stimolazione delle fibre nervose simpatiche, aumentando la tensione a livello dei legamenti sospensori del cristallino (zonule) e la lente assume una forma appiattita; al contrario per visualizzare oggetti vicini i muscoli ciliari si contraggono (grazie alla stimolazione parasimpatica), i legamenti sospensori si rilassano e la lente assume una forma più sferica aumentando il suo potere di rifrazione. La luce visibile arriva alla retina sotto forma di onda elettromagnetica ed è caratterizzata da una lunghezza d'onda compresa tra i 700 e i 400 nanometri e da un'ampiezza variabile (Slatter et al., 2008). Ad ogni specifica lunghezza d'onda corrisponde un particolare colore, mentre alla variazione d'ampiezza delle radiazioni corrisponde una variazione nell'intensità del colore percepito (Sjaastad et al., 2010).

La luce, raggiunta la retina, incontra lo strato di *fotorecettori* in cui si trovano i coni ed i bastoncelli; questi ultimi a loro volta sono costituiti da fotopigmenti che presentano una parte proteica con funzione enzimatica (appartenente alla famiglia dei recettori G legati a proteine transmembrana), chiamata opsina, ed una parte chiamata retinale, sintetizzata a partire dal retinolo (Slatter et al., 2008; Sjaastad et al., 2010). Mentre il retinale è presente in modo invariato in entrambi i tipi di fotorecettore, l'opsina varia da coni a bastoncelli ed anche all'interno dei coni stessi, permettendo l'assorbimento di diverse lunghezze d'onda (Slatter et al., 2008; Sjaastad et al., 2010).

Quando la luce incontra la parte del retinale, questa modifica il suo legame con l'opsina che passa da una configurazione chiamata 11-cis-retinale a una configurazione con un solo legame, detta trans-retinale. Questo cambiamento nella configurazione chimica e fisica del retinale porta all'attivazione dell'opsina che attiva la transducina. Questa a sua volta attiva un enzima chiamato fosfodiesterasi. Con l'attivazione della fosfodiesterasi inizia il processo di idrolisi del secondo messaggero intracellulare (cGMP), presente in

elevate quantità quando la retina si trova al buio. Il cGMP, legandosi ai canali del sodio presenti sulla membrana del segmento esterno dei fotorecettori, permette l'entrata dello ione depolarizzante. Al contrario, con l'arrivo dei raggi luminosi e l'attivazione della fosfodiesterasi, si ha l'idrolisi del secondo messaggero e la conseguente chiusura dei canali al sodio. Ne consegue un'iperpolarizzazione dei fotorecettori e la chiusura dei canali al calcio presinaptici. Con la chiusura di tali canali il glutammato, neurotrasmettitore inibitorio, non viene più rilasciato e si sviluppano dei potenziali d'azione graduati nelle cellule bipolari (Sjaastad et al., 2010). Ogni cellula bipolare connette un solo cono ad una sola cellula gangliare, mentre più bastoncelli mandano segnali ad una singola cellula gangliare. Raggiunto il valore soglia di depolarizzazione, le cellule bipolari innescano un potenziale d'azione a livello delle cellule gangliari. Tale valore soglia può essere raggiunto solo da uno stimolo luminoso di una certa intensità (come la luce solare o artificiale) nei coni (Slatter et al., 2008). Nei bastoncelli, dove più fotorecettori convergono i loro potenziali su una singola cellula gangliare, si ha il raggiungimento del valore soglia tramite sommazione dei vari potenziali e ciò permette l'attivazione delle cellule gangliari anche in caso di scarsa luminosità.

In condizione di scarsa luminosità (visione scotopica) si innesca il meccanismo della visione dato dall'attivazione dei bastoncelli (Slatter et al., 2008). Come già affermato in precedenza, i bastoncelli sono tutti costituiti da una proteina chiamata rodopsina che è in grado di assorbire in modo non selettivo tutte le lunghezze d'onda, permettendo così solo la visione nei toni del grigio. I coni invece contengono la iodopsina che permette l'assorbimento di una sola lunghezza d'onda. Ci sono tre tipi di coni negli animali domestici: il cono che percepisce il colore blu ha un pigmento chiamato cianolabo che assorbe le lunghezze d'onda del rosso e del verde; il cono che percepisce il rosso invece contiene il pigmento eritrolabo che assorbe tutte le lunghezze d'onda eccetto quelle del rosso, ed il cono del verde che assorbe le lunghezze del rosso e del blu grazie al pigmento chiamato clorolabo (Slatter et al., 2008).

Il gatto presenta tutte e tre le tipologie di coni ed avrebbe "biologicamente" la capacità di una visione tricromatica come l'uomo, ma studi comportamentali non hanno dimostrato la presenza di tale effettiva abilità nel gatto (Slatter et al., 2008).

Dopo l'attivazione dei coni, dei bastoncelli e delle cellule bipolari, le cellule gangliari dello strato esterno convergono i loro assoni a livello di disco ottico, dove acquisiscono la guaina mielinica. Il fascio di assoni attraversa la lamina cribrosa della sclera, che è

posta ventralmente al polo posteriore del globo oculare, dando origine al nervo ottico (Il paio di nervi cranici)(Dyce et al., 2009). Tale nervo, dopo aver oltrepassato la cavità cranica attraverso il forame ottico, prosegue il suo tragitto dirigendosi verso il chiasma ottico che si trova anteriormente all'ipofisi. A questo livello le fibre dei due nervi ottici s'incontrano e decussano verso le vie nervose controlaterali. Il grado di decussazione dipende dalla posizione degli occhi: negli animali i cui gli occhi hanno una posizione più laterale ed un grado di visione binoculare ridotto, ci sarà un maggior numero di fibre che decussano; al contrario, il grado di decussazione sarà minore negli animali con occhi posizionati frontalmente. Nel gatto si stima che il 67% delle fibre si incrocino a livello di chiasma ottico. Nel cane tale valore raggiunge il 70%, mentre si ritiene che bovini e cavalli abbiano rispettivamente l'87% e l'83% di fibre che decussano controlateralmente. L'uomo, avendo gli occhi posizionati più frontalmente rispetto agli altri animali, ha solo il 50% di fibre nervose che decussano (Slatter et al., 2008).

Oltrepassato il chiasma ottico, le fibre che non hanno decussato si dirigono verso il nucleo genicolato ipsilaterale, quelle che si sono incrociate si dirigono verso il nucleo controlaterale. Alcune fibre lasciano il nervo ottico prima di raggiungere il nucleo genicolato laterale e si dirigono verso l'area pretettale, andando a formare la via afferente del riflesso pupillare. Allo stesso modo alcune fibre si dirigono verso il collicolo superiore, dove poi prenderanno contatto con il nucleo del nervo oculomotore (III paio di nervi cranici) (Slatter et al., 2008).

Da nucleo genicolato laterale, dove prendono sinapsi con il terzo neurone ascendente (il primo rappresentato dai fotorecettori, il secondo dall'interfaccia cellule bipolari-gangliari), le fibre ottiche proseguono alla corteccia del lobo occipitale, deputato alla rielaborazione delle immagini visive, tramite la cosiddetta radiazione ottica.

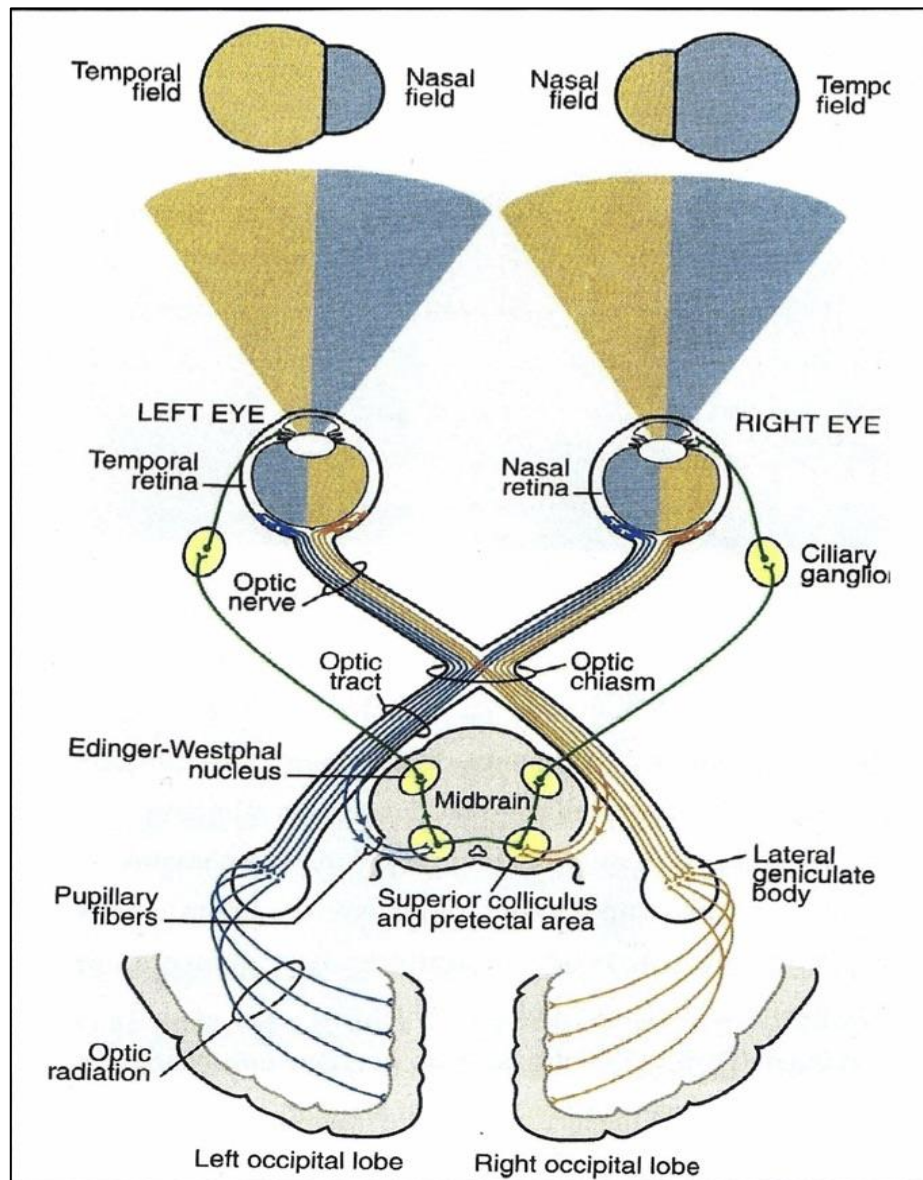


Figura 1.9: Le vie nervose della visione (Slatter et al., 2001).

1.3 Gli annessi oculari

1.3.1 L'orbita e le fasce orbitarie

L'orbita è una struttura ossea cavitaria conica all'interno della quale si trovano il bulbo oculare e la maggior parte degli annessi oculari. È localizzata sulla superficie laterale del cranio ed è delimitata da pareti ossee, muscoli e tessuto connettivo che si organizza a formare le fasce orbitarie (Dyce et al., 2009).

Nel cane e nel gatto le pareti anteroventrale, mediale e una minima porzione della volta superiore orbitale sono di natura ossea: l'osso frontale costituisce la parete mediale e il margine orbitale dorsale, l'osso zigomatico con il lacrimale e mascellare costituiscono

invece le pareti anteroventrali, mentre l'osso sfenoide costituisce il pavimento dell'orbita. Data l'incompleta chiusura del margine laterale dell'orbita, è presente un legamento orbitario che si estende dal processo sopraorbitale dell'osso frontale al processo frontale dell'osso zigomatico. Nel gatto l'orbita è più ampia ed ha margini ossei più completi, infatti tra il processo orbitale dell'osso frontale e il processo dell'osso zigomatico è presente solo un piccolo spazio chiuso dal legamento orbitario (Dyce et al., 2009).

I tessuti molli che delimitano l'orbita sono il muscolo temporale posteromedialmente, il muscolo pterigoideo medioventralmente e il muscolo massetere lateralmente. A livello dell'apice dell'orbita vi è il passaggio del nervo ottico, dei nervi destinati ai muscoli oculari e dei nervi sensitivi destinati al bulbo oculare (Dyce et al., 2009).

L'occhio è circondato da tre strati di fasce orbitarie: la più esterna chiamata periorbita, l'intermedia detta fascia muscolare superficiale e la più interna detta fascia muscolare profonda. La *periorbita* si inserisce all'apice dell'orbita, vicino al foro ottico. Al margine dell'orbita e sulle pareti mediale e dorsale si fonde col periostio, mentre lateralmente e ventralmente resta libera e forma un consistente setto fibroso, che va a separare le strutture orbitarie da quelle extraorbitarie (Dyce et al., 2009). Al margine dell'orbita la periorbita si sdoppia: una parte si continua nel periostio delle ossa della faccia, l'altra forma il setto orbitario (Dyce et al., 2009). Il setto orbitario dà origine a due pieghe semilunari dai margini liberi ispessiti, detti tarsi, che danno consistenza ai margini palpebrali. Inclusa nella parete dorso-mediale dell'orbita si trova la troclea, un frammento cartilagineo attorno al quale fa perno il muscolo obliquo dorsale (Dyce et al., 2009).

La *fascia muscolare superficiale* è posta dentro la periorbita, è formata da tessuto connettivo lasso e tessuto adiposo infiltrato. Avvolge il muscolo elevatore della palpebra superiore e la ghiandola lacrimale (Dyce et al., 2009).

La *fascia muscolare profonda* è più fibrosa, deriva dalle palpebre e, partendo dal limbo corneale, si riflette attorno ai muscoli del bulbo oculare. A questo livello costituisce la guaina del bulbo oculare, o capsula di Tenone, sottile e fibrosa che riveste intimamente il globo oculare dal limbo corneosclerale all'emergenza del nervo ottico (Dyce et al., 2009). Essa è separata dalla sclera tramite un piccolo spazio, lo spazio di Tenone, che divide il bulbo oculare dal contenuto orbitale (Slatter et al., 2008).

Il grasso periorbitale riempie gli spazi restanti e dà sostegno e protezione al globo oculare, facilitandone i movimenti di rotazione.

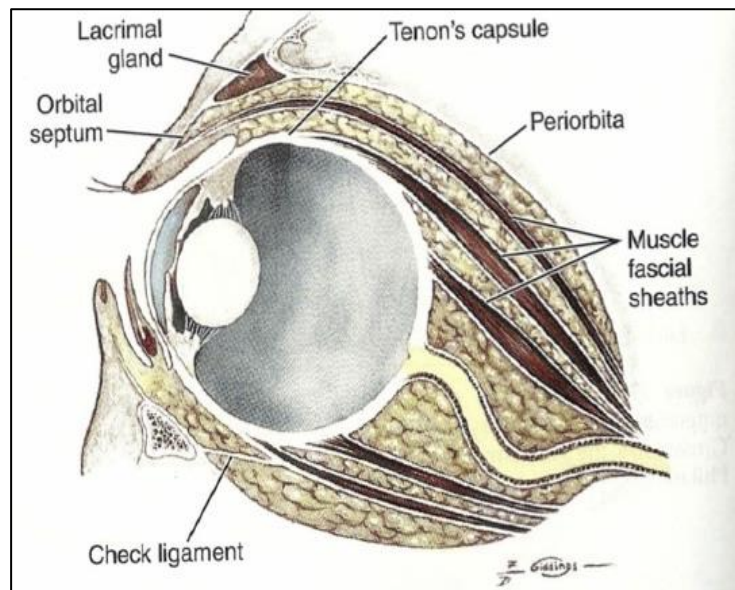


Figura 1.10: La periorbita (Slatter et al., 2008).

1.3.2 Le palpebre

Le palpebre sono pliche cutanee pari che delimitano un'apertura, detta rima palpebrale. Sono formate da muscoli e da una lamina fibrosa, il tarso, che conferisce solidità al margine palpebrale (Slatter et al., 2008). La cute che ricopre la superficie esterna è sottile, mentre la superficie interna è rivestita da epitelio congiuntivale. La palpebra superiore è mobile, più estesa di quella inferiore e la porzione in cui le due si uniscono viene detta canto. Il canto mediale o nasale è sostenuto da un legamento che s'inserisce sul periostio delle ossa nasali; lateralmente un altro legamento àncora le palpebre al periostio delle ossa temporali, costituendo il canto laterale o temporale dell'occhio. Nel cane tale legamento è sostituito dal muscolo retrattore del bulbo (Slatter et al., 2008).

Le palpebre hanno il compito di proteggere l'occhio dai traumi e dall'essiccazione, contribuendo alla produzione ed alla distribuzione del film lacrimale (Slatter et al., 2008). Sono costituite da tre strati che, visti in sezione, sono: la cute, lo stroma fibromuscolare e la congiuntiva palpebrale (Dyce et al., 2009). Il margine palpebrale superiore presenta da due a quattro fila di ciglia nel cane, mentre nel gatto è presente un'unica linea di peli modificati (Slatter et al., 2008). Il margine palpebrale inferiore è privo di ciglia. Alle ciglia sono associate due strutture ghiandolari: le ghiandole di Zeis e

le ghiandole di Moll. Le ghiandole di Zeis si trovano alla base delle ciglia e sono ghiandole sebacee rudimentali che contribuiscono alla produzione della parte lipidica del film lacrimale superficiale; le ghiandole di Moll sono ghiandole sudoripare modificate e si trovano anch'esse alla base delle ciglia. Profondamente al tarso sono localizzate le ghiandole di Meibomio, ghiandole sebacee modificate che sboccano lungo il margine palpebrale (Slatter et al., 2008). La loro funzione è quella di formare lo strato lipidico esterno del film lacrimale, che permette di ridurre l'evaporazione dello strato acquoso sottostante.

Lo strato fibromuscolare della palpebra contiene il muscolo orbicolare dell'occhio, l'aponeurosi del muscolo elevatore delle palpebre e il muscolo tarsale di Mueller. La chiusura della rima palpebrale dipende dall'azione del muscolo orbicolare palpebrale, che è innervato dal nervo facciale (VI nervo cranico), mentre la sua apertura è data dalla contrazione del muscolo elevatore della palpebra (innervato dal III paio di nervi cranici)(Slatter et al., 2008).

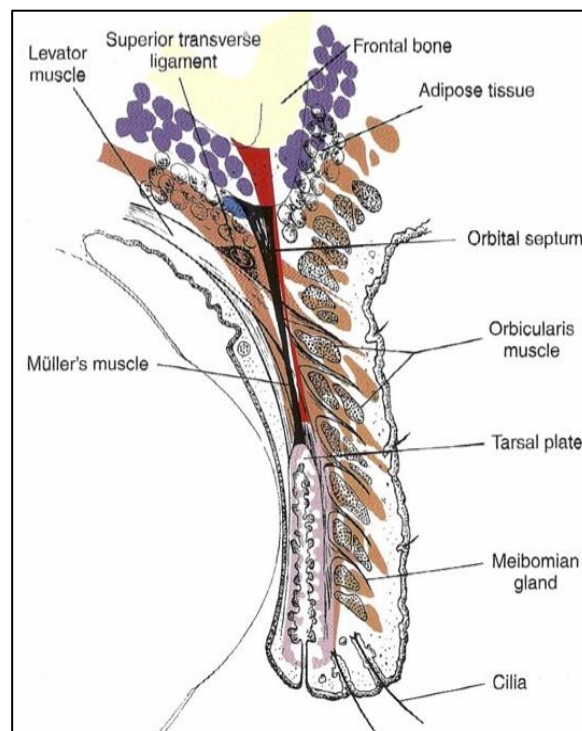


Figura 1.11: Anatomia della palpebra (Slatter et al., 2008).

1.3.3 La congiuntiva

La congiuntiva è una membrana mucosa che ricopre il bulbo oculare e la superficie interna delle palpebre. Ha la funzione di proteggere il bulbo, specialmente la cornea, nonché di facilitare il suo scorrimento e quello delle palpebre nelle fasi di ammiccamento (Slatter et al., 2008). La congiuntiva origina dalla rima palpebrale e prosegue nella parte posteriore delle palpebre, dove si riflette continuando come congiuntiva bulbare fino al limbo. Lo spazio virtuale tra le palpebre e il bulbo oculare è detto sacco congiuntivale e le sue estremità, dorsale e ventrale, sono denominate fornici congiuntivali (Dyce et al., 2009). L'epitelio congiuntivale differisce in base alla regione dell'occhio in cui si trova: è di tipo pluristratificato cuboidale a livello tarsale, è colonnare in prossimità del fornice congiuntivale e squamoso a livello del globo (Gelatt, 2001). Molte cellule mucipare caliciformi, che contribuiscono alla formazione dello strato mucoso del film lacrimale, sono contenute all'interno dell'epitelio e si concentrano in particolare nel fornice congiuntivale. Lo stroma congiuntivale presenta tessuto connettivo lasso, molto vascularizzato e ricco di fibrociti, linfociti e plasmacellule. Si trovano anche rari mastociti, macrofagi e linfonodi aggregati o solitari (Slatter et al., 2008).

I vasi congiuntivali, visibili in trasparenza, derivano dalle arterie ciliari anteriori ed il drenaggio linfatico è deputato ai linfonodi sottomascellari (Dyce et al., 2009).

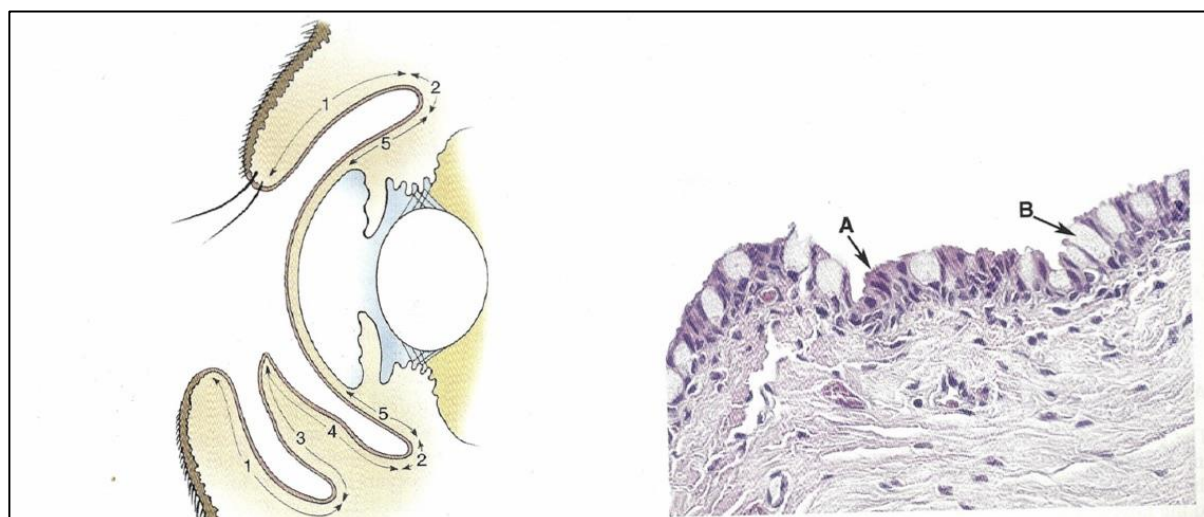


Figura 1.12: Parti della congiuntiva oculare 1, congiuntiva palpebrale; 2, fornice; 3, parte anteriore della terza palpebra; 4, parte posteriore della terza palpebra; 5, congiuntiva bulbare. Nella seconda immagine sono indicati: A, epitelio colonnare; B, cellule mucipare caliciformi. (Slatter et al., 2008)

1.3.4 I muscoli del bulbo oculare

I muscoli che permettono all'occhio di muoversi sono localizzati posteriormente al bulbo oculare e per la maggior parte originano all'apice del cono orbitario.

Vi sono quattro muscoli retti, due obliqui ed un retrattore (Dyce et al., 2009). I muscoli retti dorsale, ventrale, mediale e laterale si portano all'equatore del bulbo oculare, dove si inseriscono tramite tendini larghi ma sottili. I muscoli obliqui dorsale e ventrale si posizionano lateralmente all'inserzione dei muscoli retti all'equatore, e la loro contrazione permette di ruotare il bulbo oculare attorno al suo asse visivo. Il muscolo obliquo ventrale non origina vicino al foro ottico, come tutti gli altri, ma da una depressione sulla parete ventro-mediale dell'orbita. Il muscolo retrattore del bulbo è un muscolo striato formato da 4 ventri e si inserisce vicino all'equatore, formando un cono muscolare che avvolge il nervo ottico (Dyce et al., 2009).

All'interno dell'orbita è presente un altro muscolo striato, il muscolo elevatore della palpebra superiore, il cui compito è quello, come dice il nome stesso, di sollevare la palpebra superiore (Dyce et al., 2009).

Un muscolo liscio localizzato sulla superficie interna periorbitaria e dall'aspetto laminare è il muscolo orbitario. A questo si aggiungono altri due muscoli lisci, il tarsale superiore e inferiore, che hanno il compito di mantenere la posizione protrusa del bulbo e la posizione retratta delle palpebre. Il tarsale superiore origina dalla guaina del muscolo retto mediale e si estende fino alla palpebra superiore ed alla terza palpebra; il tarsale inferiore va dalla guaina del muscolo retto ventrale alla palpebra inferiore (Dyce et al., 2009).

1.3.5 La terza palpebra

La terza palpebra, anche detta membrana nittitante, è una struttura mobile e ghiandolare posta tra la cornea e la palpebra inferiore, nella porzione mediale del sacco congiuntivale inferiore (Slatter et al., 2008). Presenta una cartilagine a forma di T che le conferisce una certa rigidità, una ghiandola lacrimale accessoria, una congiuntiva che ricopre la superficie bulbare e palpebrale. Il margine libero della terza palpebra, concavo ventro-medialmente e posto a stretto contatto con il bulbo, è generalmente pigmentato nel cane ma non nel gatto (Dyce et al., 2009).

La ghiandola della membrana nittante è responsabile della produzione di circa il 50% della componente sierosa del film lacrimale (Slatter et al., 2008). Normalmente la terza

palpebra non è visibile perché è mantenuta in posizione ventromediale da fasci di muscolatura liscia. La sua superficie palpebrale può essere esaminata applicando una pressione digitale sul globo attraverso la palpebra superiore, mentre la superficie bulbare deve essere esaminata tramite utilizzo di una pinza (pinza di Von Graefe), previa instillazione di un collirio anestetico.

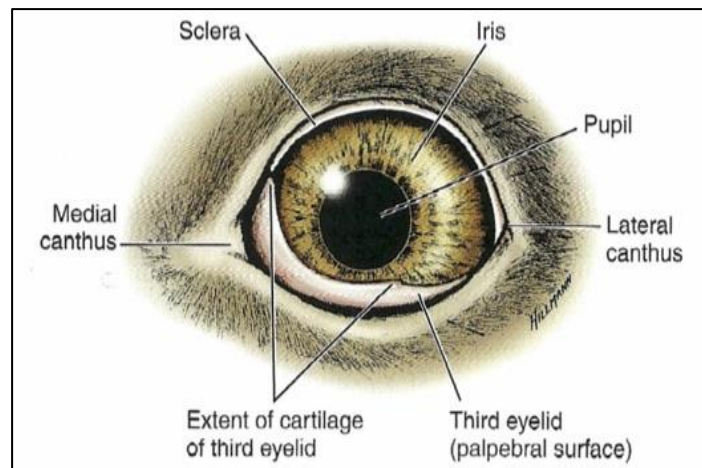


Figura 1.13: Immagine esterna dell'occhio con visione della terza palpebre.

La protrusione della terza palpebra è regolata da un meccanismo passivo: con la retrazione del globo oculare, si favorisce il movimento anteriore e in direzione dorsolaterale della membrana nittitante che risulta, a questo punto, visibile (Slatter et al., 2008). La sua vascolarizzazione è deputata ad un ramo dell'arteria mascellare interna e l'innervazione proviene dal nervo infratrocleare (Slatter et al., 2008).

1.4 La vascolarizzazione dell'occhio

L'arteria oftalmica esterna e l'arteria malare, rami dell'arteria mascellare interna, rappresentano la maggior fonte di vascolarizzazione dell'occhio. L'arteria oftalmica esterna anastomizza con l'arteria oftalmica interna, rudimentale negli animali domestici, ed entra nell'orbita seguendo il decorso del nervo ottico. Le sue ramificazioni destinate al bulbo oculare sono le arterie ciliari posteriori brevi, le arterie ciliari posteriori lunghe e le arterie ciliari anteriori (Dyce et al., 2009).

Le *a.ciliari posteriori brevi* entrano in prossimità del nervo ottico e sono destinate alla coroide, al nervo ottico e alla retina. Le *a.ciliari posteriori lunghe* perforano la sclera vicino all'equatore e vascolarizzano il corpo ciliare. Le *a.ciliari anteriori* entrano a livello del limbo e sono destinate al corpo ciliare, all'iride ed alla porzione anteriore della

coroide (Dyce et al., 2009). La cornea viene nutrita per diffusione dai capillari del lembo corneale (Dyce et al., 2009). Queste arterie anastomizzano per formare il circolo arterioso maggiore dell'iride ed inviano rami anche alla congiuntiva. Rami dell'arteria orbitale sono destinati ai muscoli extra-oculari (Dyce et al., 2009).

L'arteria lacrimale, ramo dell'a. oftalmica esterna, vascolarizza la ghiandola lacrimale e attraversa la parete dorsolaterale del margine orbitario per vascolarizzare lateralmente le palpebre e la congiuntiva. L'arteria sopraorbitale decorre dorsalmente ed abbandona l'occhio attraversando il foro sopraorbitale. L'arteria malare, ramo dell'a. mascellare, decorre lungo il margine ventrale dell'orbita per dirigersi verso il canto mediale dell'occhio dove vascolarizza le palpebre e parte della faccia. L'arteria etmoidale esterna, ramo dell'a. oftalmica, lascia l'orbita passando dal foro omonimo e vascolarizza il labirinto etmoidale del naso (Dyce et al., 2009).

Il principale ritorno venoso è a carico delle vene vorticosose che fuoriescono dalla sclera sempre in vicinanza dell'equatore. Esse confluiscono nella vena oftalmica inferiore e superiore, che si continuano nel plesso venoso orbitale che a sua volta confluisce nel seno venoso cavernoso (Dyce et al., 2009).

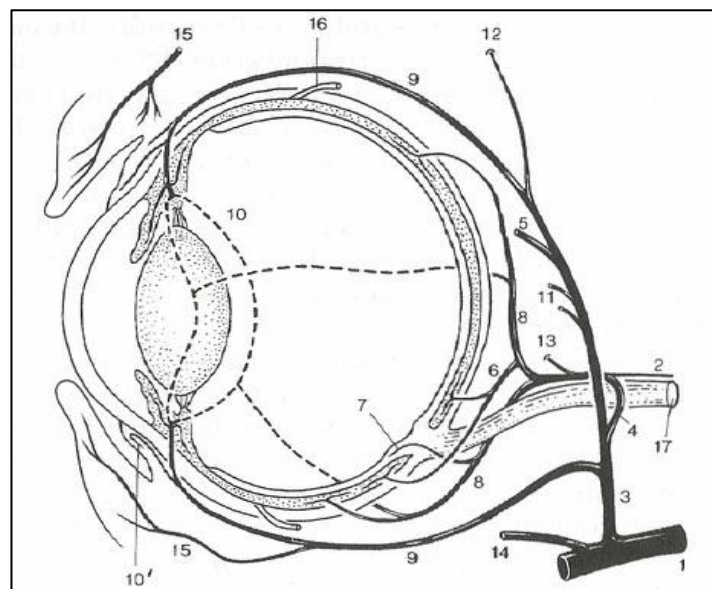


Figura 1.14: Schema delle arterie principali dell'occhio: 1. A.mascellare; 2. A.oftalmica interna rudimentale; 3. A oftalmica esterna; 4. Anastomosi tra a.esterna e a.interna; 6. Aa.ciliari posteriori brevi; 8. Aa. ciliari posteriori lunghe; 14. A. malare; 15. rami palpebrali; 16. Vene vorticosose (Dyce et al., 2009)

1.5 L'innervazione dell'occhio ed i riflessi oculari

L'innervazione dell'occhio e degli annessi oculari è sotto il controllo di sei nervi cranici:

- il nervo ottico (II nervo cranico), formato dagli assoni dei neuroni dello strato gangliare della retina, penetra nel cranio tramite il canale ottico e si incrocia con il nervo ottico controlaterale a livello del chiasma ottico. È formato da fibre nervose mieliniche ed è avvolto dalle meningi, pertanto viene considerato un vero e proprio tratto del sistema nervoso centrale più che un nervo periferico (Dyce et al., 2009);
- il nervo oculomotore (III nervo cranico) innerva i muscoli retto dorsale, retto ventrale e retto mediale, il muscolo obliquo ventrale e il muscolo elevatore della palpebra superiore (Dyce et al., 2009);
- il nervo trocleare (IV n. cranico) è un nervo motore destinato all'innervazione del muscolo obliquo dorsale; origina dal tronco encefalico e penetra all'interno dell'orbita tramite la fessura orbitaria;
- il nervo trigemino (V nervo cranico) è un nervo misto e si divide in tre branche che sono l'oftalmica, la mascellare e la mandibolare, tutte originanti dal ganglio del nervo trigemino (Dyce et al., 2009). La branca oftalmica si suddivide a sua volta nel nervo sopraorbitario che innerva la parte centrale della palpebra superiore, nel nervo lacrimale per l'innervazione della ghiandola lacrimale, e nei nervi naso-ciliari; questi ultimi danno origine a loro volta al n. etmoidale, che innerva l'etmoide e la mucosa delle cavità nasali, ed al n. infratrocleare per l'innervazione del canto mediale dell'occhio, della terza palpebra e del sistema lacrimale. Da esso derivano i nervi ciliari lunghi che vanno ad innervare il bulbo oculare ed in particolare la cornea. La branca mascellare possiede solo un ramo di rilievo, il n. zigomatico, che si divide in n.zigomatico temporale e n.zigomatico facciale. Il primo innerva la parte laterale della palpebra superiore e l'area temporale rostrale, mentre il secondo innerva il canto laterale dell'occhio e la parte laterale della palpebra inferiore (Dyce et al., 2009);
- il nervo abducente (VI nervo cranico) innerva il muscolo retto laterale e il muscolo retrattore del bulbo. La sua azione porta ad una contrazione del muscolo retto laterale con la rotazione lungo l'asse visivo del globo oculare. Un suo deficit causa strabismo, ovvero una deviazione dell'asse del bulbo rispetto alla sua normale direzione (Slatter et al., 2008);

- il nervo facciale (VII nervo cranico) è un nervo misto che contiene sia fibre motorie somatiche che fibre parasimpatiche; con il suo ramo auricolo-palpebrale innerva il muscolo orbicolare dell'occhio e la ghiandola lacrimale.
- fibre simpatiche, che originano dal ganglio cervicale superiore, seguono le arterie nell'orbita e vanno ad innervare il muscolo orbitario e il dilatatore della pupilla (Dyce et al., 2009);
- fibre parasimpatiche entrano nell'orbita con il nervo oculomotore e contraggono sinapsi con il ganglio ciliare. Le fibre postgangliari, che formano i nervi cigliari brevi, innervano il muscolo ciliare e costrittore della pupilla (Dyce et al., 2009).

I riflessi oculari dipendono da un circuito nervoso costituito da un recettore, un neurone afferente, delle connessioni interneuronali, un neurone efferente ed un neurone effettore. Tramite la valutazione di tali riflessi è possibile verificare l'integrità delle strutture nervose coinvolte. Una risposta positiva indica la corretta funzionalità dell'intero meccanismo del riflesso, mentre una risposta negativa indica un problema a livello di una delle strutture coinvolte.

Il test di *risposta alla minaccia* non è un riflesso, ma una reazione conscia che richiede l'integrità di moltissime aree corticali. Si esegue avvicinando la mano ad ogni occhio e la reazione prevista è l'ammiccamento. Le strutture coinvolte in questa reazione sono molte: abbiamo la via afferente del nervo ottico, la decussazione delle fibre a livello del chiasma ottico, il trasporto dell'informazione alla corteccia occipitale visiva, alla corteccia parietale associativa ed alla corteccia frontale motoria, da cui si diparte la via efferente del nervo facciale (VII paio di nervi cranici). È possibile che alcuni soggetti non rispondano al gesto della minaccia in assenza di alterazioni patologiche. Infatti, animali molto giovani, stoici o abituati alla presenza dell'uomo potrebbero rispondere negativamente a tale test (Slatter et al., 2008).

Nei gatti al test della risposta alla minaccia si sostituisce il test del batuffolo di cotone, che consiste nel lasciar cadere del cotone nel campo visivo di un solo occhio alla volta. La risposta normale prevede che l'animale segua con gli occhi la traiettoria del batuffolo.

Il test *del riflesso pupillare* si effettua proiettando un fascio di luce puntiforme (usando il transilluminatore di Finoff o la fonte luminosa dell'endoscopio) verso la retina. Si valutano sia il riflesso pupillare diretto, sia il riflesso pupillare consensuale. Il riflesso pupillare diretto induce una rapida miosi nell'occhio stimolato, cui segue una risposta

consensuale nell'occhio opposto a dove si è puntato il fascio luminoso. Quest'ultimo è meno evidente nei nostri animali a causa dello scarso grado di decussazione delle fibre nervose del n. ottico a livello di chiasma ottico. Il riflesso pupillare prevede l'integrità della retina, dei nervi ottici, dei nervi oculomotori (nella componente parasimpatica), del nucleo pretettale mesencefalico e del muscolo sfintere irideo. È un riflesso subcorticale utile per indagare la funzionalità delle strutture sopracitate, ma non per la visione (Slatter et al., 2008).

Il *dazzle reflex* si apprezza causando una forte stimolazione luminosa verso la retina, a cui l'animale risponderà con l'ammicciamento; tale riflesso è dato dalla connessione diretta del nucleo pretettale con il nervo facciale (Slatter et al., 2008).

Il *riflesso corneale* è valutato toccando delicatamente la cornea non anestetizzata e la risposta positiva consiste in un immediato ammicciamento e retrazione del globo oculare. È un riflesso subcorticale che coinvolge le vie afferenti del nervo trigemino tramite la branca oftalmica e quelle efferenti del facciale ed abducente (Slatter et al., 2008).

Il test del *riflesso palpebrale* consiste nel toccare con una pinza emostatica atraumatica il canto mediale o laterale dell'occhio; tale stimolo dovrebbe provocare l'ammicciamento dell'occhio coinvolto. Il riflesso si compone di una via afferente trigeminale (tramite la branca mascellare in caso di stimolazione del canto laterale o tramite la branca oftalmica se si stimola il canto mediale) e di una via efferente facciale, le quali si integrano a livello di tronco encefalico (Slatter et al., 2008).

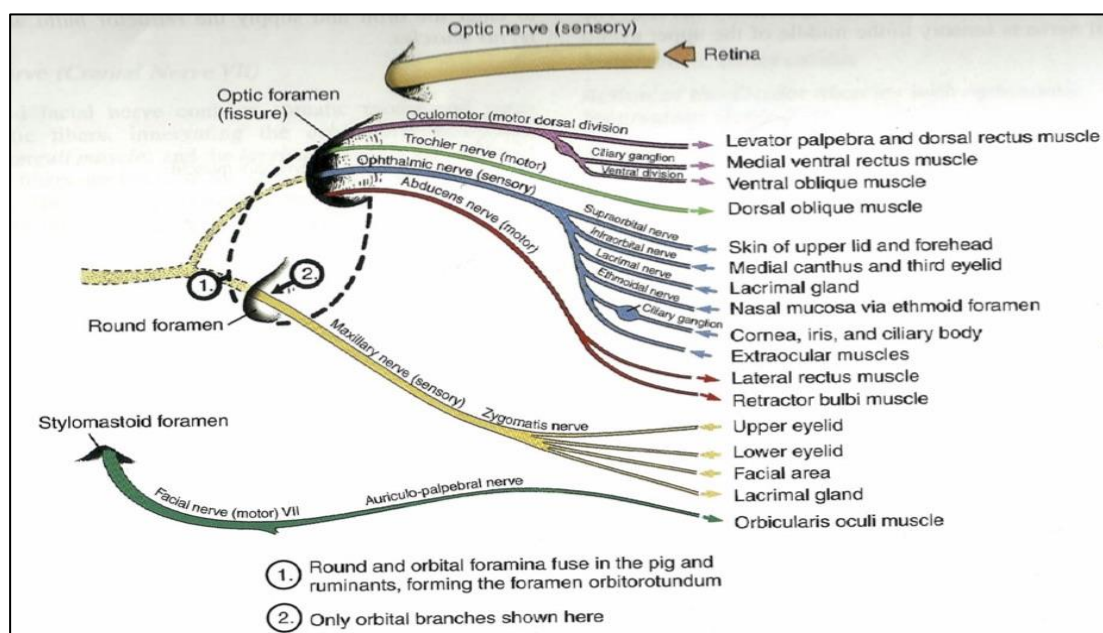


Figura 1.15: Innervazione dell'occhio (Slatter et al., 2008)

1.6 Le ghiandole lacrimali e l'apparato lacrimale

L'apparato lacrimale è composto da una componente secretoria ed escretoria. La componente secretoria è costituita dalla ghiandola lacrimale, dalla ghiandola della terza palpebra e dalle ghiandole lacrimali accessorie. La parte escretoria si compone dei punti lacrimali e dei dotti, che trasportano le lacrime in eccesso dall'occhio alla cavità nasale (Gelatt, 2001).

La ghiandola lacrimale, situata nella parte superiore temporale del globo oculare, è di tipo tubulo alveolare ed assieme alla ghiandola della terza palpebra, sita nello stroma dell'omonima palpebra, secernono la componente acquosa del film lacrimale (Slatter et al., 2008). Le ghiandole lacrimali accessorie, situate nella congiuntiva palpebrale e nelle palpebre stesse, sono: le ghiandole tarsali che producono la parte superficiale lipidica del film lacrimale e sboccano a livello del margine palpebrale, le ghiandole di Moll che sono ghiandole sudoripare modificate e le ghiandole di Zeis. Queste ultime sono delle ghiandole sebacee modificate associate alle ciglia che, assieme alle ghiandole tarsali, secernono lo strato lipidico esterno del film precorneale. Altre ghiandole mucipare, o goblet cells, sono presenti nella congiuntiva che riveste lo strato interno delle palpebre ed il bulbo oculare (Slatter et al., 2008).

La parte acquosa secreta dalla ghiandola lacrimale entra a livello di fornice superiore della congiuntiva attraverso i dotti lacrimali ghiandolari e si mescola con la componente prodotta dalla ghiandola della terza palpebra, rilasciata anch'essa da un sistema di dotti che si aprono sulla superficie bulbare della ghiandola stessa. La sintesi del film lacrimale è sotto il controllo del sistema simpatico e parasimpatico: la stimolazione adrenergica porta ad un aumento delle macromolecole prodotte, mentre una stimolazione colinergica aumenta la quantità di fluido ed il contenuto di elettroliti (FISIOLOGIA, C A E. 2009).

Le lacrime vengono continuamente drenate dalla componente escretoria che si compone dei punti lacrimali, dei canalicoli e del dotto nasolacrimale. I punti lacrimali, uno superiore ed uno inferiore, sono piccole aperture situate nella congiuntiva che ricopre il margine interno delle palpebre a circa 2-5 mm dal canto mediale dell'occhio (Gelatt, 2001). Essi si continuano nei canalicoli lacrimali, che originano perpendicolarmente al margine palpebrale e si estendono nel muscolo orbicolare dell'occhio. Ogni canalicolo si continua nel dotto nasolacrimale, la cui parte iniziale

presenta una dilatazione detta sacco nasolacrimale. Il dotto prosegue il suo percorso all'interno del canale lacrimale dell'osso nasale e termina nel meato nasale ventrolaterale (punto nasale). Il 25% del film lacrimale è rimosso per evaporazione, mentre il restante 75% è drenato dal sistema escretore nasolacrimale (Slatter et al., 2008).

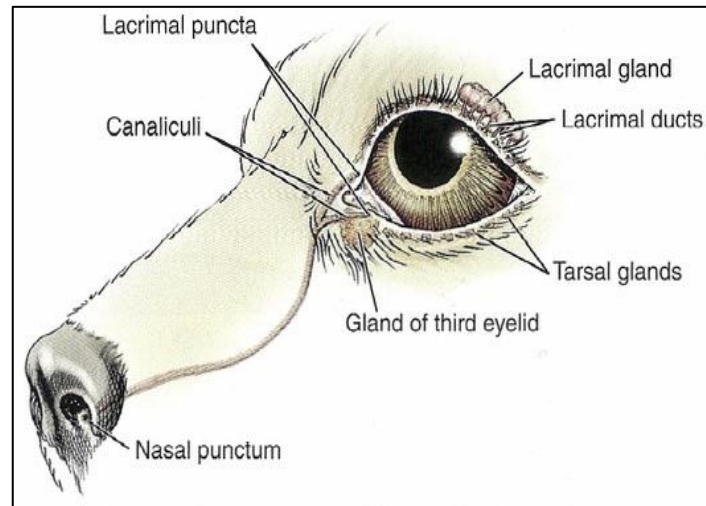


Figura 1.16: Schema dell'apparato lacrimale

Il fluido lacrimale prodotto si raccoglie a livello dell'angolo mediale dell'occhio; durante l'ammiccamento la contrazione del muscolo orbicolare occlude i punti lacrimali, favorendo il passaggio del fluido dai canalicoli al sacco lacrimale e da qui lungo il dotto nasolacrimale (Dyce et al., 2009).

1.7 Il film lacrimale precorneale

Il film lacrimale, che ricopre la cornea e la congiuntiva bulbare, è composto da tre strati differenti: lo strato lipidico, lo strato acquoso e lo strato mucoso. Lo spessore totale è di circa 8-9 μm (Slatter et al., 2008). La funzione del film precorneale consiste nella lubrificazione delle aree oculari esposte, nel mantenimento di una superficie corneale omogenea, nella rimozione di materiale estraneo dalle superfici oculari, nella difesa da agenti infettivi esterni e nella nutrizione della cornea (FISIOLOGIA, C A E. 2009).

Lo strato lipidico più esterno è costituito da mebo, un composto di esteri di colesterolo, esteri cerosi e da lipidi a varia polarità prodotti dalle ghiandole di Meibonio e di Zeis. La sua funzione è quella di limitare l'evaporazione del sottostante strato acquoso e di mantenere il film precorneale adeso alla cornea. Con uno spessore di circa 0,013-0,581

μm , il film lipidico è considerato il più sottile degli strati del film lacrimale (FISIOLOGIA, C A E. 2009).

Lo strato acquoso, che si trova tra quello lipidico e mucoso, rappresenta il 60% dello spessore del film lacrimale ed è costituito per il 98% da acqua; la restante parte contiene elettroliti, urea, glucosio ed ossigeno che sono indispensabili al metabolismo corneale. Sono presenti anche glicoproteine e proteine sieriche come le immunoglobuline (IgA per la maggior parte, poi IgG e IgM), l'albumina, il lisozima, la lattoferrina, la lipocalina, la transferrina, la ceruloplasmina, vari fattori di crescita e le interleuchine. A tali proteine si attribuisce la funzione protettiva ed antimicrobica del film lacrimale. Lo strato acquoso provvede anche alla rimozione dei prodotti catabolici corneali, quali acido lattico e anidride carbonica, e del materiale estraneo e microbico che si accumula sulla superficie oculare (Slatter et al., 2001). La produzione di lacrime è conseguente alla stimolazione simpatica e parasimpatica della ghiandola lacrimale, fornita dal nervo lacrimale in conseguenza a stimoli recepiti dalle terminazioni sensitive del nervo trigemino. La ghiandola della terza palpebra possiede anch'essa un'innervazione parasimpatica derivante dal nervo infratrocleare (FISIOLOGIA, C A E. 2009).

Lo strato mucoso, il più profondo del film lacrimale, è adeso alla cornea ed il suo spessore si aggira intorno ai 0,2-2 μm , tuttavia nuovi e più recenti studi ne ipotizzano uno spessore molto maggiore, intorno ai 30 μm (FISIOLOGIA, C A E. 2009). Tale strato è composto da mucine (che sono delle glicoproteine idrofile), immunoglobuline, urea, sali, glucosio, leucociti, detriti cellulari e enzimi. La sua funzione è quella di aderire alla cornea, il cui epitelio è idrofobico, e di permettere la distribuzione uniforme del film lacrimale. L'architettura dello strato mucoso si articola in un glicocalice, composto dalle mucine cosiddette membrana-associate, e di mucine secretorie. Le cellule dell'epitelio corneale presentano dei microvilli di membrana cui si ancorano le mucine membrana-associate del glicocalice (il quale raggiunge uno spessore di 200-500 nm) (FISIOLOGIA, C A E. 2009). Lo strato di mucine secretorie, che invece aderisce al glicocalice, permette di creare una sorta di gel idrofilico che ospita anticorpi ed enzimi battericidi. Esso ha il compito di intrappolare materiale estraneo, detriti cellulari ed eventuali microrganismi. Le proprietà dello strato mucoso permettono di facilitare lo scorrimento reciproco delle superfici epiteliali oculari, evitando fenomeni di frizione, e garantisce un livellamento della superficie corneale in modo da mantenerla otticamente uniforme (FISIOLOGIA, C A

E. 2009). La secrezione di mucina da parte delle goblet cell è attivata dalla stimolazione di terminazioni nervose simpatiche e parasimpatiche in risposta a diversi stimoli sensitivi corneali e congiuntivali.

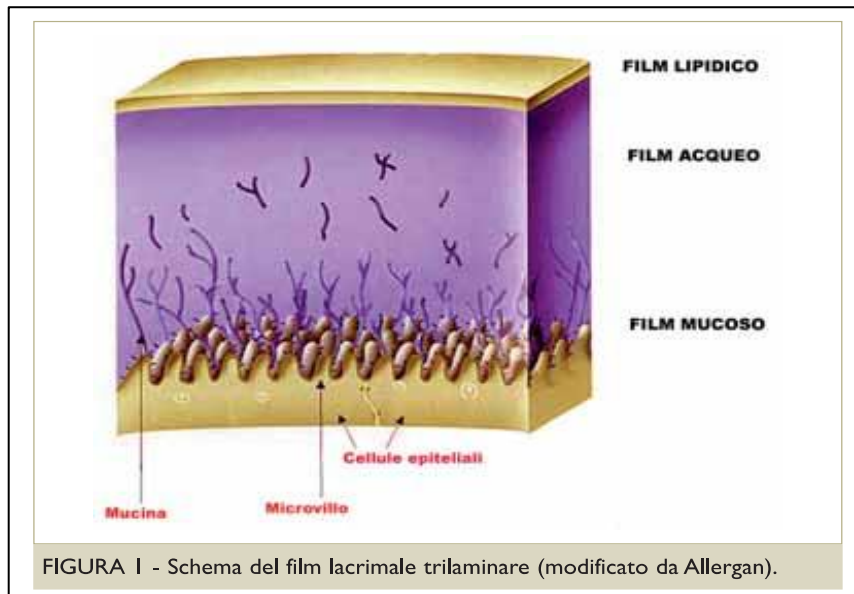


Figura 1.17: Schema del film lacrimale (FISIOLOGICA, C.A.E 2009).

2. MECCANISMI DI RISPOSTA DELLA CORNEA AD AGENTI LESIVI

Molti sono i meccanismi che concorrono alla difesa delle cornea in caso di insulti irritativi o lesivi. Le ciglia e le palpebre, se stimolate dal contatto con materiale estraneo o forti correnti d'aria, rispondono all'insulto con il riflesso palpebrale (McGavin e Donald M., 2010). Infatti, grazie alla presenza dei riflessi oculari, i potenziali insulti irritativi diretti alla cornea vengono bloccati con l'ammiccamento. Il film lacrimale stesso costituisce un meccanismo di difesa per la cornea, fornendo antibatterici solubili e permettendo il continuo dilavamento delle superfici dell'occhio.

I più comuni danni all'epitelio corneale sono causati da agenti lesivi chimici o fisici, da deficit quantitativi del film corneale, dalla presenza di agenti infettivi o corpi estranei nel sacco congiuntivale. Al danno epiteliale nella maggior parte delle volte seguono lesioni allo stroma corneale, il quale può essere danneggiato anche direttamente da corpi estranei penetranti, lacerazioni o microrganismi provenienti dai vasi sanguigni del limbo (McGavin e Donald M., 2010).

La cornea risponde agli stimoli cui è soggetta in diversi modi: in caso di stimoli irritativi lievi ma persistenti si ha una metaplasia epiteliale adattativa, in caso di danni corneali gravi e rapidi si ha la necrosi delle strutture coinvolte, mentre in caso di danni limitati si attiva il processo di riparazione.

La *metaplasia epiteliale* è una risposta messa in atto dall'epitelio corneale in seguito a stimoli irritativi persistenti ma di lieve entità. Essa prevede l'iperplasia, la cheratinizzazione e la pigmentazione dell'epitelio corneale, cui seguono processi di fibrosi subepiteliale e vascolarizzazione della cornea. Le cause più comuni di queste risposte adattative sono l'essiccazione della cornea per deficit del film lacrimale o l'irritazione cronica per patologie palpebrali, come nel caso di ciglia ectopiche, distichiasi o entropion. In caso di alterazioni del film lacrimale, se l'essiccazione avviene molto rapidamente, la cornea risponderà con l'ulcerazione; se l'essiccazione occorre lentamente, la cornea risponderà con la metaplasia epiteliale. Quando uno stimolo irritativo persiste, la capacità replicativa dell'epitelio corneale non riesce a far fronte alla richiesta rigenerativa. Di conseguenza, le cellule germinali della congiuntiva bulbare perilimbare si attivano e migrano verso il centro della cornea per riparare la lesione. Durante la loro migrazione, le cellule germinali non acquisiscono le caratteristiche fenotipiche delle cellule epiteliali corneali e vanno incontro a cheratinizzazione e pigmentazione (come succederebbe in un normale epitelio). Allo stesso modo, se anche

lo stroma è stato lesionato, si ha la migrazione di fibroblasti dalla sclera perilimbare e dalla lamina propria della congiuntiva con conseguente fibrosi stromale. Tale fibrosi porta ad un'alterazione permanente dello stroma corneale che perde la trasparenza che lo caratterizza. Nonostante la metaplasia possa sembrare un processo patologico indesiderato, è un'importante riposta "salva-occhio" che permette alla cornea di non andare incontro a necrosi e di evitare la distruzione degli altri tessuti intraoculari (McGavin e Donald M., 2010).

In caso di danni corneali gravi e che si sviluppano troppo rapidamente rispetto alla capacità rigenerativa corneale, si ha la *necrosi dell'epitelio* e dello stroma sottostante. Le cause che portano a necrosi ciò sono numerose: l'essiccazione rapida per evaporazione del film lacrimale, gravi lesioni meccaniche, lesioni chimiche e agenti infettivi come Herpesvirus nei gatti. Con la necrosi dell'epitelio viene meno lo stato di disidratazione cui lo stroma è mantenuto e si ha la formazione di edema corneale. L'assorbimento di acqua aumenta lo spazio tra le fibre dello stroma e porta alla dispersione della luce, che si manifesta clinicamente con l'opacità corneale. In caso d'infezioni causate da microrganismi, l'arrivo di leucociti dai vasi del limbo e l'esocitosi dei granuli litiici provocano una vasta distruzione stromale, cui segue la formazione di una cheratomalacia suppurativa e necrotizzante (McGavin e Donald M., 2010). Tale condizione è tipica di ulcere che progrediscono rapidamente perché aggravate da infezioni secondarie. Il descemetocèle è un'ulcera che ha portato alla distruzione dell'epitelio e dello stroma con l'esposizione della membrana di Descemet; si può diagnosticare mediante l'utilizzo di fluoresceina, colorante idrofilico che si lega allo stroma corneale ma non all'epitelio ed alla membrana di Descemet. In caso di ulcere epiteliali che lasciano scoperto lo stroma corneale avremmo la colorazione dello stroma stesso, mentre in caso di descemetocèle il test risulta negativo perché il colorante non aderisce alla membrana. L'ulcera può diventare perforante se non s'interviene tempestivamente. Alla formazione dell'ulcera l'organo risponde attivando il processo di riparazione per seconda intenzione (McGavin e Donald M., 2010).

La *riparazione* di una lesione corneale che avviene, come detto, in seguito a lesioni all'epitelio ed allo stroma corneale, può essere di diverso tipo in base al danno subito. L'epitelio corneale, come tutti gli epitelii, ha una certa capacità rigenerativa. Le cellule epiteliali danneggiate rilasciano citochine e fattori di crescita, come quello piastrinico ed epidermico, che stimolano la migrazione e la proliferazione delle cellule che circondano

i margini della lesione. Durante la migrazione anche alcuni melanociti possono muoversi dalla zona limbare verso quella danneggiata, causando la pigmentazione della cornea. La produzione di nuovo epitelio avviene in 12-24 ore, anche se la completa riepitelizzazione richiede alcuni giorni (4-7 giorni)(Gelatt, 2001).

La riparazione della componente stromale può avvenire in due modi: o tramite guarigione con vascolarizzazione o tramite guarigione avascolare. Nel primo caso dal limbo, in seguito a stimolo angiogenico soprattutto in corso di infezioni o di lesioni distruttive, si diramano dei capillari che si dirigono verso la zona di cornea danneggiata. Con la componente vascolare arrivano i fibroblasti e si ha la formazione del tessuto di granulazione (guarigione per seconda intenzione). I fibroblasti migrati producono collagene in maniera disorganizzata. I cheratociti della zona lesionata si attivano producendo collagene, glicosamminoglicani e mucoproteine, e si differenziano in fibroblasti. Con il tempo questa matrice fibroblastica-angioblastica del tessuto di granulazione matura e diventa istologicamente simile allo stroma normale (McGavin e Donald M., 2010). Tuttavia il collagene della zona lesionata non acquisisce più la sua tipica struttura lamellare e la cicatrice corneale resta visibile. Con il passare del tempo la vascolarizzazione diminuisce gradualmente ed i nervi lesionati si rigenerano (Slatter et al., 2008).

Nella riparazione avascolare di lesioni stromali non complicate si ha lo scorrimento dell'epitelio al di sopra dello stroma rimasto e, grazie ad un richiamo chemiotattico, arrivano neutrofilii dal film lacrimale o per diapedesi dai vicini vasi limbari. Nel frattempo, nuova matrice extracellulare e nuove fibre collagene vengono prodotte dai cheratociti migrati nella zona della lesione per sostituire quelli morti. Dopo circa quarantotto ore dall'insulto, i macrofagi raggiungono la zona lesionata per ripulirla dai detriti presenti (McGavin e Donald M., 2010). Con il tempo la cicatrice, grazie alla riorganizzazione della matrice e delle fibre collagene, diventa meno spessa ed otticamente chiara, anche se non sarà più possibile ripristinarne la trasparenza iniziale. In caso di danneggiamento dell'endotelio, le cellule attorno alla zona lesionata migrano e vanno in mitosi per ricoprire l'area danneggiata. Essendo la capacità rigenerativa dell'endotelio limitata, danni importanti a questa struttura esitano irrimediabilmente in edema stromale (Slatter et al., 2008).

3. IL SEQUESTRO CORNEALE

3.1 Eziopatogenesi, predisposizioni e sintomi clinici

I primi casi di sequestro corneale, o nigrum corneale, nella specie felina sono stati descritti nella letteratura scientifica a partire dagli anni sessanta (Startup et al., 1988). Nonostante tale patologia sia tipica del gatto, si sono riscontrati due casi di sequestro corneale anche nel cane. In entrambi i casi, l'insorgenza del sequestro sembra essere secondaria ad altre patologie oculari (Bouhanna et al., 2008; Dubin et al., 2013). Anche nel cavallo è stato riportato un caso di sequestro stromale associato a cheratocongiuntivite secca (McLellan e Archer, 2000).

Il sequestro corneale si presenta clinicamente come una placca necrotica dura, ovoidale o circolare, situata centralmente o paracentralmente nella cornea; è pigmentata ed assume una colorazione che varia dal bruno chiaro fino al nero (Cullen et al., 2005; Featherstone e Sansom, 2004; Ragozzino et al., 2012). Con il progredire della patologia la placca si presenta più densa, i bordi diventano rilevati e separati dallo stroma circostante, che assume una colorazione giallo-ambrata (Andrew et al., 2001). È associato a sintomi clinici quali edema corneale (Cullen et al., 2005; Featherstone e Sansom, 2004), dolore oculare, secrezioni oculari o epifora, blefarospasmo, iperemia della congiuntiva (Andrew et al., 2001), neovascolarizzazione più o meno evidente, ulcerazione (Featherstone e Sansom, 2004), enoftalmo e procidenza della terza palpebra (Dalla et al., 2007). In un caso è stata riscontrata anche la mineralizzazione della zona colpita da sequestro (Gemensky e Wilkie, 2001).

La razza che sembra essere maggiormente predisposta a tale patologia è quella persiana (Ragozzino et al., 2012; Featherstone e Sansom, 2004; Andrew et al., 2001; Laguna et al., 2015; White et al., 2012; Graham et al., 2016), a cui seguono le razze British Colorpoint, gatto europeo a pelo corto, burmese, himalaiana, esotica e Devon Rex (Featherstone e Sansom, 2004; Andrew et al., 2001; Laguna et al., 2015). Il sequestro si presenta nella maggior parte dei casi monolateralmente, sebbene esso tenda a svilupparsi bilateralmente nei persiani e nelle altre razze brachicefale. Studi successivi hanno evidenziato un coinvolgimento bilaterale anche nel gatto domestico a pelo corto (Startup et al., 1988; Featherstone e Sansom, 2004).

Il sequestro corneale è una lesione caratterizzata da necrosi coagulativa focale dell'epitelio e dello stroma corneale che può interessare da meno della metà fino ad oltre i due terzi dello stroma, raggiungendo la membrana di Descemet (Ragazzoli et al.,

2012). In risposta alla lesione, le cellule infiammatorie invadono lo stroma circostante al sequestro e le lamelle necrotiche si separano le une dalle altre andando incontro al disseccamento. La lesione può svilupparsi e restare statica per diversi anni, o peggiorare velocemente nel giro di pochi giorni o settimane; in diversi casi l'area sequestrata è stata espulsa naturalmente dalla cornea (Startup et al., 1988).

Nello studio al TEM (microscopio elettronico a trasmissione) eseguito da Cullen et al. (2005), lo stroma coinvolto nel sequestro corneale si presenta ulcerato, necrotico e acellulare. Sono presenti leucociti (soprattutto neutrofili e macrofagi), alcuni fibroblasti ai margini della lesione e residui di cheratociti morti con segni di apoptosi, come cromatina marginale e citoplasma diminuito. Al posto della tipica struttura stromale con fibre collagene organizzate in lamelle e orientate secondo diversi piani, si evidenziano fibre disarrangiate e disseccate con cellule infiammatorie ai margini della lesione. Sopra lo strato stromale è visibile al TEM una sostanza amorfa elettrondensa compatibile con la degradazione della membrana basale epiteliale.



Figura 3: Caso di sequestro corneale in un gatto di razza esotica.

La natura della pigmentazione che caratterizza il sequestro corneale è tuttora discussa. Avendo riscontrato la tipica colorazione del sequestro non solo nella zona della cornea affetta, ma anche nello scolo oculare e nella lente utilizzata come bendaggio (posta a contatto con la cornea), Featherstone e Sansom (2004) hanno ipotizzato che uno dei

componenti del film lacrimale possa essere coinvolto nella pigmentazione. Anche Newkirk et al. (2011) hanno sostenuto questa tesi, evidenziando il possibile ruolo della porfirina. Tuttavia, nei casi di sequestro corneale da lui analizzati, Newkirk non ha riscontrato porfirina né nelle ghiandole lacrimali, né nella zona del sequestro. In un altro studio Featherstone et al. (2004) hanno indagato, tramite microscopia elettronica a scansione, alcuni casi di nigrum senza evidenziare la presenza né di elementi inorganici, come il ferro, né di emosiderina. Nello stesso studio, analizzando alla spettroscopia UV/visibile due casi di sequestro corneale, si è rilevata la presenza di gruppi cromofori compatibili con granuli di melanina. Tuttavia, successivi studi realizzati al TEM non sono stati in grado di evidenziare, e dunque di confermare, la presenza di melanina (Cullen et al., 2005). Tuttora l'ipotesi più plausibile riguardo all'origine della pigmentazione sembra essere il disseccamento dello stroma necrotico (Andrew et al., 2001).

L'eziopatogenesi del sequestro corneale non è stata tuttora chiarita (Ragozzino et al., 2012). Molti sono i fattori che possono contribuire alla formazione del nigrum: traumi corneali, cheratiti ulcerative croniche, predisposizioni di razza, irritazioni corneali croniche, distrofia corneale primaria, deficit quantitativo di lacrime, herpesvirus felino e l'alterazione del metabolismo stromale.

La Croix et al. (2001) riportano casi di sequestro corneale sviluppatosi in seguito a traumi iatrogeni associati a cheratotomia a griglia di ulcere indolenti.

Cullen et al. (1999) riferiscono, in un caso di sequestro corneale, una riduzione del numero di cellule caliciformi nella congiuntiva oculare. Secondo l'autore, la riduzione della componente mucosa del film lacrimale potrebbe essere una delle cause del sequestro corneale e non si esclude che tale carenza possa essere di origine idiopatica. Uno studio successivo non ha rilevato alcuna differenza significativa nel numero di cellule caliciformi fra gatti con sequestro corneale e gatti sani, né alcuna differenza rilevante nel Break Up Time (BUT) tra animali sani ed animali affetti da sequestro (Grahn et al., 2005). La riduzione del numero di cellule caliciformi evidenziata da Cullen et al. (1999) dovrebbe pertanto essere vista non come una delle cause eziologiche, bensì come una conseguenza dell'infiammazione corneale e congiuntivale, in risposta allo sviluppo del sequestro (Grahn et al., 2005). In conclusione, non esiste un collegamento certo tra la diminuzione del numero di cellule caliciformi e lo sviluppo di un sequestro corneale.

Sempre riguardo alle anomalie del film lacrimale, lo studio di Featherstone et al. (2004) ha evidenziato una carenza di lipidi nelle lacrime di occhi affetti da sequestro corneale. Nessuna differenza significativa (né qualitativa, né quantitativa) è emersa, invece, nella composizione proteica del film lacrimale di gatti affetti e di gatti sani (Davidson et al., 1992). La riduzione del contenuto lipidico e di mucine nelle lacrime, evidenziata da Featherstone et al. (2004) e da Cullen et al. (1999), supporta la teoria secondo la quale il sequestro corneale può formarsi a causa di difetti del film lacrimale; tuttavia non esiste un numero sufficiente di studi che possa confermare tale teoria.

Un altro fattore coinvolto nella patogenesi del nigrum è la riduzione di sensibilità corneale nei gatti brachicefali rispetto ai gatti domestici europei a pelo corto (Blocker et al., 2001). In uno studio sperimentale eseguito da Blocker et al. (2001) su un campione di 50 gatti domestici a pelo corto e 40 gatti di razza brachicefala, si è potuto dimostrare che la Contact Corneal Threshold (CCT) nella porzione centrale della cornea è più elevata nei gatti brachicefali che nei gatti domestici. La CCT è inversamente proporzionale alla sensibilità: più tale soglia è elevata, minore è la sensibilità della cornea stimolata. Una riduzione significativa nell'innervazione sub-epiteliale e sub-basale dell'epitelio corneale rispetto ai gatti domestici a pelo corto è stata rilevata nei gatti brachicefali, così come nei persiani (Afarnick et al., 2008). È dunque possibile affermare che esiste una relazione tra la prominente fisiologica del bulbo oculare nelle razze brachicefale e la conseguente riduzione di sensibilità corneale; tale combinazione porta queste razze ad essere più suscettibili a cheratiti croniche, ulcere corneali e sequestri (Blocker et al., 2001).

Tra le cause di nigrum, gioca un ruolo importante anche l'azione irritativa cronica sulla cornea causata da entropion, un'inversione della rima palpebrale verso il globo oculare che porta a distichiasi (White et al., 2012). Tale difetto anatomico sembra essere un reperto clinico rilevato in più casi di sequestro corneale (Ragozzino et al., 2012; Barachetti et al., 2010; Andrew et al., 2001; White et al., 2012), tanto da essere considerato una potenziale causa eziologica. Non è raro che i gatti persiani siano affetti da entropion primario e ciò fa sospettare la presenza di un fattore ereditario in questa specie, anche se tale teoria non è mai stata confermata ma solo ipotizzata (Narfstrom et al., 1999). In uno studio di Williams et al. (2009), invece, l'entropion è risultato un reperto secondario all'infiammazione causata dallo sviluppo del sequestro corneale; ciò

porta a prendere in considerazione l'entropion sia come causa primaria di nigrum, sia come conseguenza del sequestro stesso.

Un'altra causa eziologica da prendere in considerazione è l'Herpesvirus. Si sono, infatti, riscontrati casi di sequestro corneale proprio in seguito a congiuntivite, cheratite virale e ulcerazioni superficiali erpetiche della cornea (Stiles et al., 1997; Malik et al., 2009).

Nell'infezione primaria da FHV predominano lesioni alle vie respiratorie superiori. Si ha una diffusa replicazione del virus all'interno dell'epitelio della mucosa nasale, dei turbinati nasali, del nasofaringe e delle tonsille. Gengiviti e stimatiti sono lesioni molto meno comuni, mentre lo sviluppo di congiuntiviti e cheratiti si associa molto spesso alla sintomatologia respiratoria primaria. I sintomi clinici si sviluppano in 2-6 giorni dopo l'infezione (Nasisse et al., 1998; Malik et al., 2009). Nasisse et al. (1998), hanno inoculato sperimentalmente il virus erpetico nell'occhio di alcuni gatti e quello che hanno riscontrato è stato inizialmente una cheratite dendritica, ossia una lesione patognomica ramificata dell'epitelio corneale che ricorda le venature di una foglia e che è causata dall'effetto replicativo del virus. A questa è seguita la lisi cellulare e la formazione di ulcere epiteliali. Solo in seguito, come risposta alla presenza del virus all'interno dell'epitelio e dello strato superficiale dello stroma stesso, si è sviluppata una cheratite stromale (Nasisse et al., 1989; Stiles et al., 2003). Il 50% degli animali infettati da FHV e trattati con corticosteroidi ad uso topico o sub-congiuntivale hanno sviluppato sequestro corneale (Nasisse et al., 1989). Si è visto, infatti, che l'utilizzo dei corticosteroidi inibisce la sintesi di collagene e GAGs, e promuove la riattivazione e la replicazione virale.

Durante la ricerca di antigeni virali di FHV nella congiuntiva e nell'epitelio corneale dei gatti infettati sperimentalmente, si è osservata tramite immunofluorescenza un'elevata quantità di antigeni in tali tessuti, dato indicativo di un elevato grado di replicazione epiteliale del virus. Nello stroma corneale, invece, Nasisse et al. (1989) hanno rinvenuto solo una minima quantità di antigeni. Inoltre, non in tutti i casi in cui si è inoculato sperimentalmente il virus si è sviluppata poi una cheratite. Ciò ha portato l'autore a ritenere che le lesioni corneali non siano reperti poi così frequenti in corso di infezione erpetica. Ad avvalorare tale ipotesi ci sono altri due studi di Stiles et al. (1997; 2008) in cui, dopo aver effettuato la ricerca di DNA virale tramite nPCR, è risultato non esserci una significativa differenza tra la percentuale di positività all'HV in campioni corneali di gatti clinicamente sani e in campioni di sequestro corneale.

La presenza di herpes virus in corso di sequestro corneale è stata comunque confermata da analisi di laboratorio effettuate su biopsie di sequestri asportati chirurgicamente. Nello studio di Nassise et al. (1998) su un campione di 128 gatti affetti da sequestro l'88% di questi, sottoposti a PCR, è risultato positivo al FHV. La prevalenza di FHV nei gatti persiani e Himalaiani è risultata significativamente minore (43%) rispetto a quella rilevata nei domestici europei (80%). Questi risultati supportano l'ipotesi degli autori, secondo i quali nei gatti brachicefali le cause più frequenti di sequestro sono i difetti anatomici, come il lagoftalmo e l'entropion, piuttosto che l'infezione erpetica. In un altro studio di Stiles et al. (1997) il 18% dei casi di sequestro è risultato positivo a FHV, mentre nello studio di Volopich et al. (2005) sono risultati positivi il 25% dei casi. Anche Grahn et al. (2005) hanno riscontrato alcune positività a FHV. Dai risultati degli studi effettuati negli ultimi decenni sulle cause eziologiche del sequestro corneale, si può confermare la presenza di FHV tra gli agenti patogenetici. In conclusione, nonostante il ruolo patogenetico di FHV sia tuttora discusso, sembra che i mediatori solubili rilasciati dalle lesioni erpetiche epiteliali promuovano l'apoptosi dei cheratociti dello strato stromale anteriore. L'apoptosi stessa sembra essere il meccanismo conservativo messo in atto dalla cornea lesionata per limitare parzialmente l'estensione del virus agli strati sottostanti.

Per quanto riguarda altri agenti patogeni, non si è mai rinvenuta la presenza di Calicivirus (Garriets et al., 2012), che causa congiuntiviti e scolo sieromucoso oculare ma non cheratiti. Cullen et al. (2005) hanno trovato positivi a *Toxoplasma gondii* 4 dei 9 sequestri analizzati al TEM, due dei quali sono risultati positivi anche sierologicamente. Nonostante la presenza di *Toxoplasma gondii*, non è possibile provare l'effettivo coinvolgimento di tale agente eziologico nella patogenesi. Sono state rinvenute anche infezioni secondarie da *Stafilococcus aureus* (Cullen et al., 2005) in alcuni casi di nigrum. Herring et al. (2001) hanno riscontrato la presenza, tramite PCR, di FeLV nella cornea. Non essendo quest'ultimo un virus citopatico e non essendo mai stati riportati casi di lesioni corneali in seguito a FeLV, tale patogeno non sembra rivestire alcuna importanza dal punto di vista eziologico.

4 TERAPIA DEL SEQUESTRO CORNEALE

4.1 Terapia medica

La terapia medica è un'opzione conservativa utilizzata in casi di sequestro corneale superficiale ed associato ad un lieve discomfort oculare. Essa prevede la somministrazione di una terapia antibiotica topica ad ampio spettro effettuata per almeno dieci giorni, l'uso di lacrime artificiali somministrate giornalmente e una dieta ricca di vitamine, minerali e proteine (Dalla et al., 2007). L'antibiotico è somministrato al fine di trattare infezioni concomitanti o per prevenire infezioni secondarie, sebbene esso sembri essere superfluo o inefficace nella maggior parte dei casi (Startup et al., 1988; Dalla et al., 2007). La terapia con antibiotici ad ampio spettro deve essere poi sostituita da una terapia mirata nel caso in cui l'esame batteriologico, effettuato su campioni lacrimali e corneali, evidenzi la presenza di batteri specifici (Dalla et al., 2007). Herrera e Weichsler (2006) hanno utilizzato, in casi di sequestro corneale, una terapia medica a base di antibiotici, come la tobramicina ed il cloramfenicolo, e di cortisonici, quali il desametasone ed il prednisolone. Non è stato però possibile recuperare i dati sull'efficacia di tale trattamento medico per via dell'assenza dei follow-up. Nonostante questi autori abbiano utilizzato dei corticosteroidi per il trattamento del sequestro, la terapia cortisonica è controindicata per via dello stato dell'epitelio corneale, lesionato e ulcerato nella zona del nigrum (Startup et al., 1988; Slatter, 2008). Infatti, i corticosteroidi inibiscono la rigenerazione dell'epitelio, riducono l'attivazione dei fibroblasti, potenziano l'attività delle collagenasi ed aumentano il rischio di infezioni secondarie (Slatter et al., 2008). Riducendo l'opacità corneale e la diapedesi delle cellule infiammatorie, i cortisonici sono utili nel periodo post chirurgico per ridurre l'infiammazione e migliorare la guarigione delle cicatrici corneali iatrogene, ma non come terapia medica per il sequestro (Slatter et al., 2008). L'animale deve essere monitorato regolarmente e si possono utilizzare delle protezioni, come lenti a contatto, per proteggere la zona del sequestro da potenziali traumi e dall'evaporazione del film lacrimale (Featherstone et al., 2004). Anche una terapia a base d'interferone alfa-2b può rivelarsi utile poiché sembra ridurre la pigmentazione del sequestro (Boydell e Roxburgh, 1999).

Nel loro studio Dalla et al. (2007) riportano un tempo di guarigione variabile da 1 a 12 mesi, ma è opportuno sottolineare come il 59,1% dei soggetti sia guarito entro 2 mesi dall'inizio della terapia medica. Ciononostante, la terapia chirurgica è generalmente

considerata la scelta migliore, sia per l'incostanza dei proprietari nella somministrazione dei farmaci, sia per l'elevata percentuale di gatti che arrivano in visita mostrando già segni clinici importanti di discomfort oculare (Startup et al., 1988). Inoltre, non ci sono ancora studi in letteratura sull'effettiva efficacia o indicazioni sulla durata della terapia medica (Dalla et al., 2007).

In alcuni casi clinici riportati da Malik et al (2009), gli animali affetti da infezione di herpesvirus sono migliorati ed hanno espulso naturalmente il sequestro dopo una terapia medica antivirale a base di famciclovir e L-lisina.

4.2 Terapia chirurgica

Fin dai primi casi riportati in letteratura, la cheratectomia lamellare superficiale o profonda (in base all'estensione della necrosi stromale) è stata indicata come la tecnica chirurgica migliore per il trattamento del sequestro corneale (Startup et al., 1988; Blogg et al., 1989). Già nei primi studi di Startup et al. (1988) e di Blogg et al. (1989), si riporta l'utilizzo di supporti, come la terza palpebra o la congiuntiva bulbare, per proteggere la zona di cornea operata.

In caso di cheratectomia superficiale, eseguita quando lo spessore della cornea lesionata è pari a meno della metà dello spessore totale, si può coprire la zona operata mediante flap della terza palpebra (Ragozzino et al., 2012). Il contatto tra la zona corneale danneggiata e la congiuntiva palpebrale, che è ricca di vasi e follicoli linfatici, promuove, infatti, la vascolarizzazione ed accelera il processo di riparazione corneale (Ragozzino et al., 2012). La copertura offre protezione alla cornea assiale, riduce il dolore e previene ulteriori traumi (Ragozzino et al., 2012). Uno studio di Jègou e Tromeur (2015) mostra come, nell'85% dei casi operati per ulcere superficiali con cheratectomia superficiale e trasposizione della terza palpebra, si sia recuperata un'eccellente trasparenza corneale nel giro di quattro settimane.

Nei casi di cheratectomia profonda, in cui si asporta più della metà dello spessore corneale, la zona operata s'indebolisce strutturalmente e necessita di un supporto tettonico, che può essere associato o meno ad un altro supporto protettivo. Il supporto ha la funzione di rendere la cornea più resistente e di facilitarne la guarigione (Gelatt, 2001). Secondo la letteratura, le tecniche chirurgiche più utilizzate a tale scopo sono (a) il flap peduncolato congiuntivale, (b) la trasposizione corneo-sclerale o corneo-congiuntivale, (c) la cheratoplastica lamellare autologa/eterologa/omologa e (d) gli

xenoinnesti. La guarigione post-operatoria richiede mediamente da uno a tre mesi (Dalla et al., 2007).

4.2.1 Cheratectomia superficiale con trasposizione della terza palpebra

In casi di sequestro corneale che coinvolgono lo stroma anteriore o meno della metà dello spessore corneale, la tecnica chirurgica più comunemente utilizzata è la cheratectomia superficiale che prevede l'asportazione degli strati di lamelle stromali necrotiche (Blogg et al., 1989).

Una volta anestetizzato il paziente e preparato il campo chirurgico, si procede all'asportazione, tramite raschiamento, dello strato di epitelio lesionato attorno al sequestro (Chow e Westermeyer., 2015). Si prosegue tracciando sulla cornea i margini di escissione tramite una lama da bisturi Beaver n.64 o 69 (Gelatt, 2001). Con l'apposita pinza oftalmologica si afferra uno dei margini di escissione e si inizia la dissezione dello stroma, utilizzando un dissetto di Martinez o la lama da bisturi. Per mantenere il piano di dissezione parallelo alle lamelle, la lama del Beaver deve essere tenuta tangente alla cornea (Gelatt, 2001). Una volta terminata l'escissione, si asporta la lesione e si regolarizzano i margini chirurgici con delle microforbici.

Terminata la cheratectomia, la superficie corneale viene ricoperta con la terza palpebra. La scarificazione della superficie bulbare della terza palpebra prima della fissazione del flap permette l'afflusso diretto di sangue, di fibroblasti e cellule infiammatorie alla lesione (Gelatt, 2001; Ragozzino et al., 2012). Infatti, il contatto tra la superficie congiuntivale della membrana nittante, ricca in follicoli linfatici e vasi sanguigni, e la cornea lesionata promuove il processo di guarigione (Gelatt, 2001). La terza palpebra viene poi suturata con più punti staccati a materasso orizzontale al margine dorsolaterale della congiuntiva palpebrale superiore o all'episclera. I punti vengono posti a circa 2 mm dal margine della palpebra (Gelatt, 2001; Ragozzino et al., 2012). Scegliendo la fissazione della terza palpebra all'episclera dorsolaterale, si permette il movimento simultaneo della palpebra e dell'occhio, ma tale tecnica chirurgica risulta più difficile da eseguire (Gelatt, 2001). Il filo utilizzato per la sutura può essere in nylon 5-0 o in propilene (Gelatt, 2001; Ragozzino et al., 2012). Molto spesso si utilizza un bottone, posto sulla superficie esterna delle palpebra superiore, per distribuire meglio la tensione della sutura e prevenire la necrosi palpebrale (Gelatt, 2001). Nella versione

modificata di Helper-Blogg dell'intervento con copertura della terza palpebra, un solo punto staccato a materassino orizzontale viene utilizzato per fissare il margine della membrana nittante alla palpebra superiore (Gelatt, 2001).

La copertura viene mantenuta per almeno 7 giorni (Ragozzino et al., 2012), ossia per il tempo necessario ad assicurare la completa riepitelizzazione della zona operata. Ragozzino et al. (2012) consigliano questo tipo di intervento chirurgico data l'assenza di complicanze post operatorie e la buona trasparenza corneale recuperata al termine del trattamento. Inoltre, gli autori hanno riportato la guarigione di tutti i soggetti a 30 giorni post intervento (Ragozzino et al., 2012).

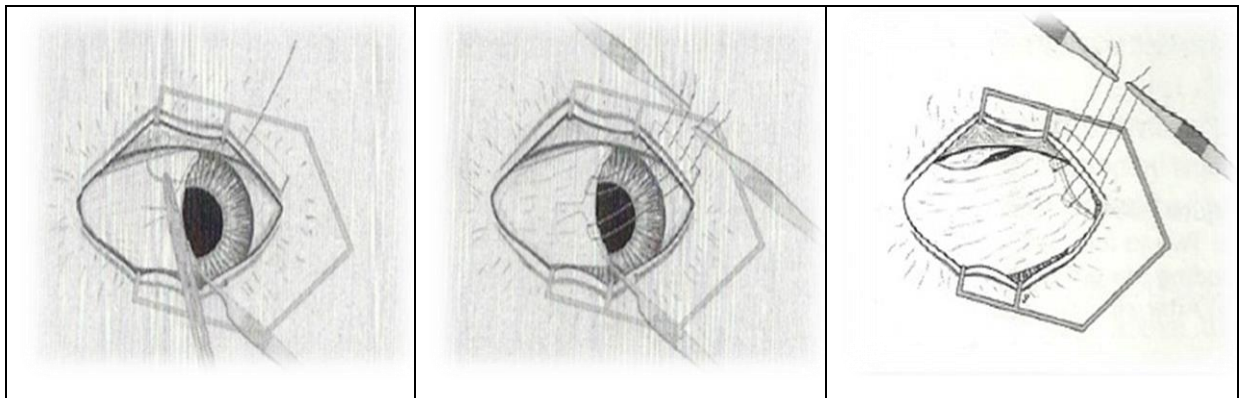


Figura 4: Trasposizione della terza palpebra (Gelatt, 2001).

4.2.2 Cheratectomia profonda e copertura con peduncolo congiuntivale, flap congiuntivale libero ed a ponte

Questa tecnica chirurgica prevede la creazione di un lembo congiuntivale (più ampio di almeno 1 o 2 mm rispetto alla lesione da coprire) da collocare sulla zona della cheratectomia (Gelatt, 2001).

Si inizia l'intervento delineando i margini di incisione del flap peduncolato sulla congiuntiva bulbare dorsolaterale. Al fine di permettere una corretta vascolarizzazione di tutto il flap, la base del peduncolo viene incisa in modo da essere leggermente più ampia della sua estremità (Blogg et al., 1989). Aiutandosi con una pinza, si sollevano i margini e si disseziona la congiuntiva separandola dalla sottostante capsula di Tenone (Gelatt, 2001). Creato il flap, si esegue la cheratectomia profonda. In questo caso, rispetto all'intervento di cheratectomia superficiale, è necessario approfondire la dissezione oltre la metà dello spessore stromale per asportare una maggior quantità di lamelle necrotiche.

Terminata la cheratectomia, si fissa l'estremità del peduncolo congiuntivale alla zona di cornea da coprire, eseguendo una sutura riassorbibile a punti semplici staccati (Gelatt, 2001). Quando si esegue la sutura, l'ago deve essere fatto passare prima attraverso il lembo congiuntivale, e poi attraverso la cornea. In questo modo, il nodo resterà posizionato sulla congiuntiva. La parte di peduncolo che non copre la lesione stromale non viene suturata alla cornea (Blogg et al., 1989). Al flap peduncolato si può associare una copertura temporanea con la terza palpebra (Blogg et al., 1989).

Per la creazione del flap congiuntivale libero (o isola congiuntivale), la tecnica chirurgica utilizzata è simile a quella eseguita per il lembo congiuntivale. Effettuata la cheratectomia, si provvede a incidere un'isola circolare del diametro di 8-9 mm dalla congiuntiva tarsopalpebrale della palpebra superiore (Gelatt, 2001). Il flap viene scollato dai tessuti sottostanti con delle microforbici e, dopo essere stato asportato completamente, viene posto a copertura della zona lesionata. Si provvede a suturare il flap alla cornea tramite una sutura a punti staccati (da 10 a 20 punti), utilizzando un filo in polyglactin 8-0 o 9-0 (Gelatt, 2001). Tale tecnica chirurgica viene utilizzata in caso di ulcere corneali profonde con descemetocèle o perforazione corneale (Gelatt, 2001).

La creazione di un flap congiuntivale a ponte è raccomandata, invece, in caso di lesioni centrali, paracentrali laterali e dorsali della cornea (Gelatt, 2001). Anche questa tecnica chirurgica prevede la creazione di una striscia (per questo il flap viene chiamato "a

ponte”), dello spessore di circa 10 mm, dalla congiuntiva bulbare dorsolaterale (Figura 4-3). Le basi della striscia restano collegate al resto della congiuntiva, mentre i bordi del ponte vengono incisi e separati dall’episclera sottostante (Gelatt, 2001). La striscia di congiuntiva, ora mobile, viene posizionata a ponte sulla cornea da coprire e suturata lungo entrambi i bordi. La sutura utilizzata è sempre di tipo semplice a punti staccati con filo in polyglactin 5-0 o 7-0 (Gelatt, 2001).

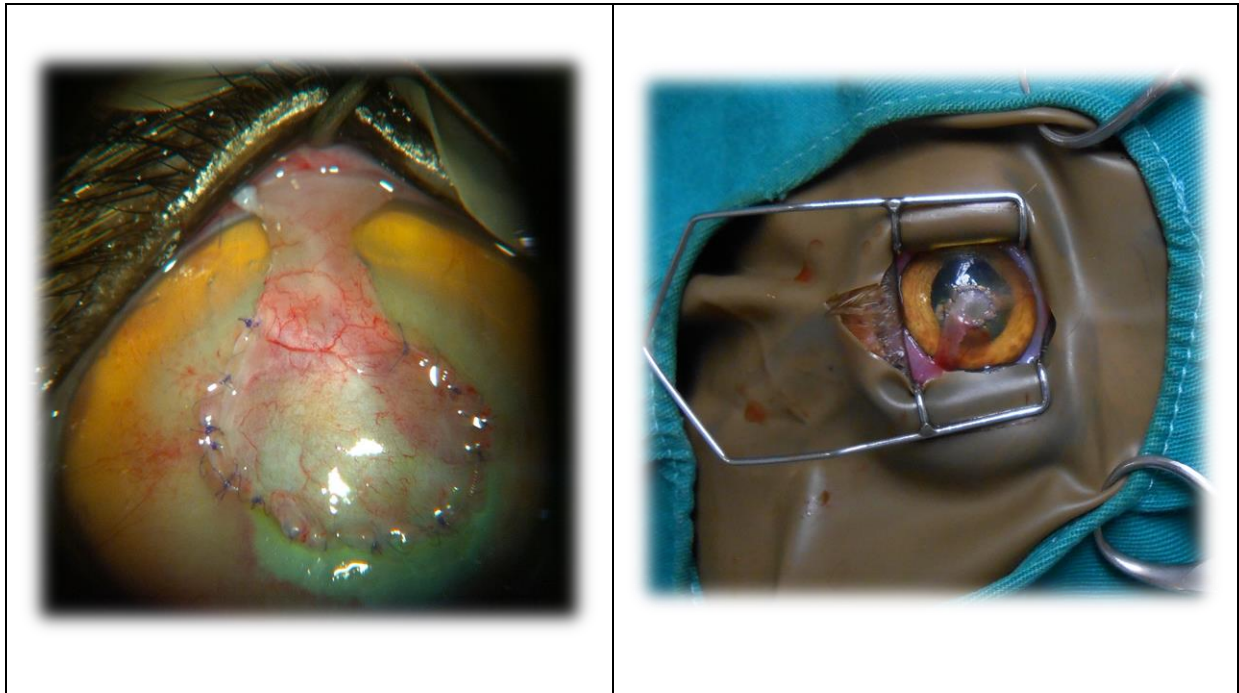


Figura 4.1: Cheratectomia e copertura con peduncolo congiuntivale; immagini scattate al termine della chirurgia.

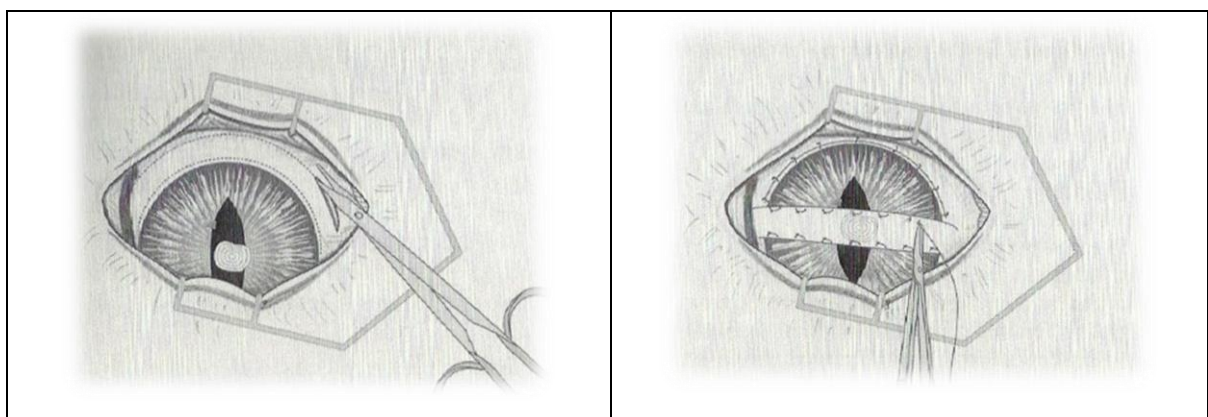


Figura 4.2: Flap congiuntivale a ponte (Gelatt, 2001).

4.2.3 Cheratectomia profonda con trasposizione corneo-congiuntivale o corneo-sclerale

La trasposizione corneo-congiuntivale, o sclerale, è un tipo di cheratoplastica lamellare, mobile, autologa, che prevede l'avanzamento della cornea periferica sana fino al punto del sequestro (Ragozzino et al., 2012). Dopo aver eseguito la cheratectomia, si effettuano due incisioni lineari divergenti sulla cornea fino a raggiungere il limbo. Le incisioni devono essere della profondità necessaria a coprire il letto dell'ulcera iatrogena rimasta in seguito all'asportazione del sequestro (Gelatt, 2001). Il lembo così creato viene separato dallo stroma sottostante e l'incisione viene continuata dalla zona limbare a quella congiuntivale (Gelatt, 2001). In caso di trasposizione corneo-sclerale, tramite un tenotomo si provvede all'incisione della congiuntiva bulbare e della capsula di Tenone per esporre la sclera sottostante; le incisioni vengono continuate sulla sclera superficiale (Gelatt, 2001). Si prosegue trascinando in avanti, verso la zona della cheratectomia, il lembo inciso di cornea e di congiuntiva in modo da coprire il difetto lasciato dalla chirurgia. I margini del lembo vengono suturati con punti semplici staccati, o con una combinazione di sutura a punti staccati e sutura continua utilizzando fili in polyglactin 9-0 o in acido poliglicolico 8-0 (Graham et al., 2016; Gelatt 2001). In caso di trasposizione corneo-sclerale, la base del lembo corneo-sclerale viene tagliata con delle microforbici (Gelatt, 2001). Si prosegue trascinando in avanti il graft e suturandolo alla cornea. Si sutura anche l'incisione precedentemente effettuata su congiuntiva ed episclera (Gelatt, 2001).

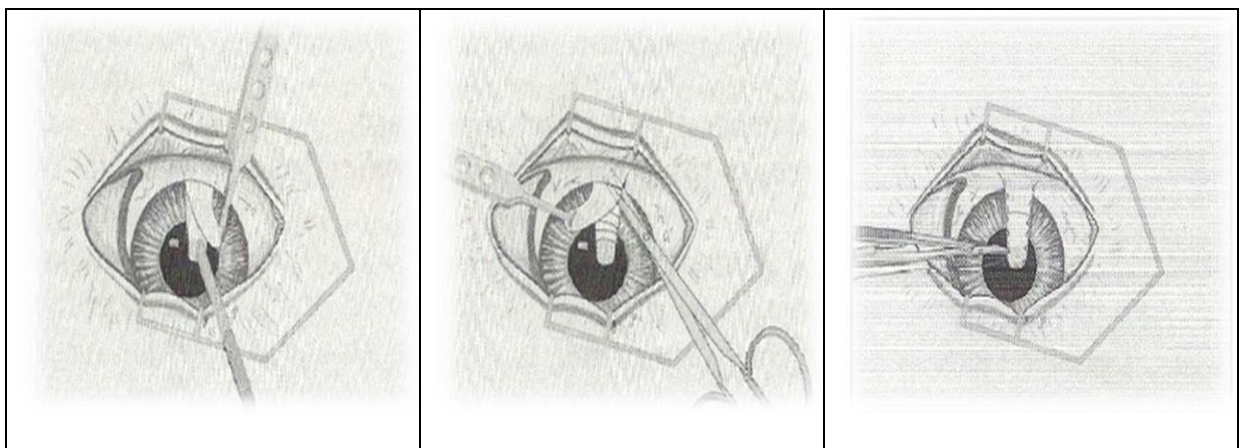


Figura 4.3: Trasposizione corneo congiuntivale (Gelatt, 2001). Da sinistra a destra: incisioni divergenti sulla cornea fino al limbo; incisione e scollamento della congiuntiva; trasposizione del lembo corneo-congiuntivale.

La guarigione media post intervento, riportata nello studio di Andrew et al. (2001), è di 4/5 settimane. Nel luogo della trasposizione corneo-congiuntivale, la cornea acquisisce nuovamente la trasparenza fisiologica, e solo una piccola cicatrice lineare e opaca, causata dalla trasposizione del limbo, resta visibile a livello della cornea periferica (Andrew et al., 2001; Graham et al., 2016; Laguna et al., 2015). Il recupero della trasparenza corneale è il principale motivo per il quale si consiglia tale tecnica (Andrew et al., 2001; Graham et al., 2016).

4.2.4 Cheratoplastica lamellare omologa ed eterologa

La cheratoplastica è un intervento chirurgico che consiste in un trapianto di cornea e che prevede la sostituzione della parte di cornea lesionata con un innesto corneale ottenuto da altri soggetti. I trapianti corneali possono essere omologhi, se ottenuti da occhi di animali della stessa specie, o eterologhi, se derivanti da occhi di specie diverse (Gelatt, 2001).

Si inizia l'intervento delimitando i margini di escissione della cornea da asportare mediante un apposito strumento, chiamato trephine, che permette di incidere un disco di cornea con una profondità che va da 0.25 a 0.35 mm (Gelatt, 2001). Con una pinza si sollevano i margini di escissione e si asporta la lesione tramite dissezione delle lamelle stromali; in seguito, dall'occhio del donatore si estrae, sempre tramite trephine, l'innesto di cornea da trapiantare. L'occhio del donatore deve essere stato prima enucleato, poi posto in una soluzione antisettica, immerso in una soluzione antibiotata all'interno di un contenitore sterile ed infine congelato a una temperatura di -20°C (Giminez et al., 1998). L'innesto deve essere tagliato in modo da risultare più largo di 0.5 mm rispetto alla lesione da coprire (Laguna et al., 2015). Una volta posto sulla zona lesionata, si fissa l'innesto con una sutura a punti staccati semplici e filo in nylon 8-0 o 10-0 (Gelatt, 2001).

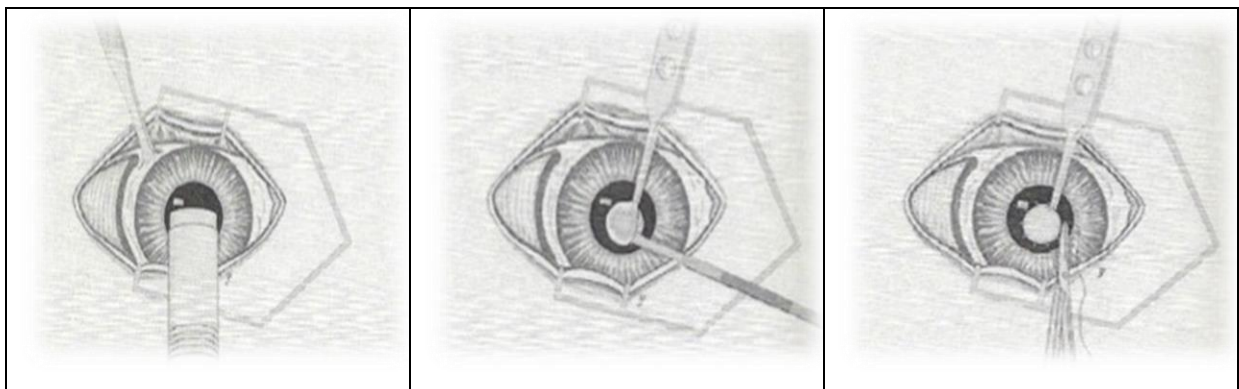


Figura 4.4: Cheratoplastica omologa/eterologa. Da sinistra a destra: asportazione della lesione corneale tramite trephine; inserimento dell'innesto corneale da trapiantare nella zona della lesione; sutura dell'innesto a punti semplici staccati.

Giminez et al (1998) hanno evidenziato nel loro studio un leggero grado di leucosi ai margini dell'innesto nel periodo post operatorio ed il completo recupero della trasparenza corneale è avvenuto a distanza di tre/quattro settimane dall'intervento. Laguna et al. (2015) suggeriscono la cheratoplastica come valida tecnica chirurgica in casi di sequestro corneale perché, nell'88% dei casi del loro studio, hanno ottenuto un

eccellente recupero della trasparenza corneale e della visione assiale. Tuttavia, la cheratoplastica lamellare resta tuttora poco utilizzata per la scarsa disponibilità di cornee e l'assenza di banche d'organi in medicina veterinaria (Laguna et al., 2015).

4.2.5 Cheratectomia e copertura con xenoinnesti

Questa tecnica chirurgica, eseguita in casi di sequestro corneale, prevede l'utilizzo di xenoinnesti a sostituzione della cornea asportata. Come dice la parola stessa, gli xenoinnesti sono innesti costituiti da biomateriali derivanti da tessuti di animali di specie diversa da quella del ricevente. Il biomateriale ideale per la riparazione dei difetti corneali dovrebbe permettere il recupero della trasparenza, supportare meccanicamente lo stroma, aiutare la riparazione del tessuto e dimostrarsi stabile all'azione di collagenasi batteriche e leucocitarie (Featherstone et al., 2001).

Il biomateriale che più si avvicina a tali caratteristiche è il bioSIS[®] (VET BIOSIST, Cook (UK) Limited, Hertfordshire, UK). Ottenuto dalla sottomucosa e dalla muscolaris mucosae dell'intestino tenue (digiuno) di suino (Bussieres et al., 2004), il SIS è a base di collagene ed è biodegradabile, acellulare e non immunogenico (Featherstone et al., 2001). Rispetto ai trapianti di cornea, la sottomucosa di suino è più facile da reperire, oltre che più maneggevole ed economica; inoltre, i produttori di bioSIS[®] assicurano la sterilità e l'assenza di patogeni nel prodotto, riducendo così il rischio di trasmissione di patologie (Bussieres et al., 2004). È consigliato l'utilizzo di tale supporto soprattutto in caso di lesioni a tutto spessore della cornea (Bussieres et al., 2004).

Effettuata la cheratectomia, il bioSIS[®] viene tagliato in modo da coprire e combaciare con la lesione. Dopo essere stato reidratato in soluzione salina sterile per tre minuti (Featherstone et al., 2001), l'innesto viene posto sulla cornea lesionata e suturato. Prima di tutto vengono messi quattro punti staccati in posizione dei quattro punti cardinali, poi si completa la sutura proseguendo con i punti staccati e/o effettuando una sutura semplice continua (Bussiere et al., 2004). Il filo utilizzato è in polyglactin 8-0 o 9-0 (Gelatt, 2001). Studi recenti, focalizzati sull'utilizzo del bioSIS[®] per la riparazione di diversi organi, hanno riportato che l'organismo del ricevente è in grado di utilizzare tale materiale come base per ricostruire la struttura del tessuto originario (Featherstone et al., 2001).

Un altro biomateriale utilizzato come xenoinnesto è il pericardio di bovino (Tutopatch[®]). Il Tutopatch[®] (Tutogen, Metz, France) è composto unicamente da

collagene ed elastina (Dulaurent et al., 2014). Dopo l'asportazione tramite trephine della cornea lesionata, si procede a tagliare il Tutopatch® per ottenere un innesto circolare della stessa dimensione e forma della lesione asportata. L'innesto viene posto sulla zona della cheratectomia, disponendo la faccia rugosa a contatto con lo stroma. Tale posizione sembra facilitare la migrazione cellulare e promuovere la neovascolarizzazione (Dulaurent et al., 2014). Il Tutopatch® viene poi fissato alla cornea con quattro punti staccati posti ai quattro punti cardinali, e suturato mediante sutura continua e/o a punti staccati (Dulaurent et al., 2014).

L'utilizzo della membrana amniotica (o AM) di equino come xenoinnesto in casi di nigrum è stato descritto da Barachetti et al. (2010). Essa si ottiene asportando una parte di corion dalle placente di cavalle sottoposte a taglio cesareo. Dopo lavaggi multipli alternati in soluzione salina, soluzione a base di iodopovidone e di gentamicina, la membrana viene posta su di un foglio di nitrocellulosa e conservata in nitroglicerina (Barachetti et al., 2010). Per la fissazione dell'AM sulla cornea si utilizza la stessa tecnica già descritta per il bioSISSt®.

Altri biomateriali sperimentati in caso di sequestro corneale è l'ACell (ACell Corneal Discs™; Lafayette, USA), ottenuto dalla matrice acellulare di sottomucosa di vescica di suino (Chow e Westermeyer., 2015; Balland et al., 2015). La tecnica chirurgica utilizzata è la stessa per gli altri biomateriali: si effettua la cheratectomia, si reidratano i dischi e si taglia l'ACell™ in modo da ottenere innesti di circa un millimetro più ampi della lesione da coprire (Chow e Westermeyer., 2015; Balland et al., 2015). L'ACell™ viene posizionato con la tunica propria della sottomucosa rivolta verso lo stroma (Chow e Westermeyer., 2015) e si provvede a suturare l'innesto alla cornea seguendo le tecniche già precedentemente descritte.

5 STUDIO RETROSPETTIVO DELLA CASISTICA

5.1 Obiettivi dello studio

L'obiettivo di questo studio è di confrontare i risultati ottenuti dalla rielaborazione statistica della nostra casistica con i dati disponibili in letteratura riguardo al sequestro corneale. In particolare, saranno confrontati gli esiti delle varie tecniche chirurgiche al fine di poter vedere le percentuali di successo dei vari trattamenti, individuare la miglior terapia chirurgica per il recupero della trasparenza corneale e la riduzione dell'incidenza di recidiva.

5.2 Materiali e metodi

5.2.1 Casistica clinica

In questo studio retrospettivo sono stati inclusi 175 casi di sequestro corneale felino. Tale numero di casi è da intendersi come numero di occhi, e non come numero di soggetti, affetti dalla patologia. I soggetti inclusi nello studio sono tutti gatti, maschi e femmine, di età e razza differenti, interi e sterilizzati, afferenti al Centro Veterinario Oculistico Fontane (Treviso) in un periodo compreso tra il giugno 2000 e l'aprile 2016. Nessuno dei 175 soggetti presentava patologie sistemiche concomitanti. I soggetti inseriti nel presente studio sono stati sottoposti a trattamento chirurgico finalizzato ad asportare il sequestro corneale e ad offrire un supporto tettonico e/o protettivo alla cornea trattata, cercando inoltre di ridurre le possibili recidive. Le tecniche chirurgiche utilizzate verranno di seguito descritte dettagliatamente.

5.2.2 Protocollo chirurgico

Tutti i soggetti sono stati premedicati utilizzando dexmedetomidina (Dexdomitor® 5 µg/kg i.m), ketamina (1 mg/kg i.m) e butorfanolo (Dolorex® 0.2 mg/kg i.m). In seguito, l'anestesia è stata indotta con propofol (2-4 mg/kg e.v) ad effetto e quindi intubati. Per il mantenimento gassoso dell'anestesia è stato utilizzato isofluorano. Indotta l'anestesia, i soggetti sono stati posti supini sul tavolo operatorio, mantenendo la testa estesa e rialzata tramite un cuscino gonfiabile (Figura 5b). Nell'occhio da operare è stata somministrata una goccia di Oxibuprocaina cloridrato ed una goccia di Tropicamide. L'utilizzo del midriatico permette di dilatare la pupilla e di aumentare il riflesso del

fondo oculare, che promuove una migliore visualizzazione dell'estensione e della profondità del sequestro sulla cornea durante l'esecuzione della cheratectomia.

Il campo operatorio è stato preparato tagliando le ciglia, lavando abbondantemente congiuntiva e cornea con una soluzione di iodopovidone al 10% e soluzione fisiologica sterile e asciugando la superficie con cotton fioc sterili. Si è dunque sistemato un telo plastico adesivo attorno al bulbo oculare e sopra è stato posizionato un telo sterile forato in stoffa tramite l'uso di pinze fissateli. I lembi palpebrali sono stati infine divaricati con un blefarostato. La chirurgia è stata effettuata con l'ausilio di un microscopio operatorio a pavimento (Zeiss, OPMI – 6). Durante la procedura chirurgica si è ottenuta l'immobilizzazione del bulbo oculare fissando la congiuntiva sclerale con delle pinze bulldog mediante filo di propilene 5-0; si è poi provveduto ad asportare lo strato epiteliale ulcerato e lesionato, nella zona attorno al sequestro, mediante cotton fioc sterile. È stata poi eseguita una cheratectomia lamellare, superficiale o profonda. La scelta del tipo di tecnica da adottare è stata fatta sulla base dell'estensione e della profondità del sequestro stesso. Tracciati sulla cornea i margini di escissione attorno all'area "sequestrata" tramite una lama da bisturi Beaver n. 69 o n. 64, si è dissezionato lo stroma e si è asportata la parte di cornea interessata dal sequestro, più una parte di cornea sana in modo da assicurare la completa escissione dello spessore di tessuto necrotico. In alcuni casi è stato impiegato un dissertore corneale di Martinez per facilitare la cheratectomia; infine con una microforbice si è completata l'asportazione del sequestro tagliando lungo i margini del letto iatrogeno. Terminata la cheratectomia, è stato poi scelto il tipo di supporto da adottare per favorire la protezione e la guarigione del tessuto corneale. Nei casi in cui si è eseguita una cheratectomia superficiale si è utilizzato un supporto i tipo protettivo, ossia il flap della terza palpebra; in casi di cheratectomia profonda o di infezione o di recidiva del sequestro si sono utilizzati dei supporti tettonici, associati o meno al supporto protettivo. I supporti tettonici utilizzati sono stati (a) il bioSIS[®] (VET BIOSIST, Cook (UK) Limited, Hertfordshire, UK), (b) la trasposizione corneo-sclerale e (c) il flap congiuntivale peduncolato, a ponte o libero. Terminata la chirurgia, i pazienti sono stati risvegliati ed estubati. A tutti i soggetti è stato somministrato un antinfiammatorio non steroideo (Meloxicam 0,1 mg/kg i.m), ed un antibiotico ad ampio spettro (Amoxicillina e Ac. Clavulanico 12,5 mg/kg e.v o Cefovecina 8 mg/kg s.c). La terapia antibiotica è stata decisa in base alle necessità dei proprietari: qualora i proprietari si siano mostrati

collaborativi, è stato prescritto Synulox® BID per bocca per 8 giorni, altrimenti si è optato per un'unica iniezione sottocutanea di Convenia® somministrata al termine della chirurgia. Inoltre, a tutti i pazienti è stato applicato un collare elisabetta da tenere nelle settimane successive alla chirurgia



Figura 5a: Posizionamento del paziente



Figura 5b: Posizionamento della testa del paziente

5.2.3 Analisi statistica

I dati raccolti tra il 2000 e il 2016, su gatti affetti da sequestro corneale, sono stati analizzati per studiare la probabilità di recidiva in funzione di vari fattori di rischio. I fattori predisponenti considerati sono stati la razza, l'età, il sesso, la tecnica chirurgica e i supporti utilizzati. Le percentuali di recidiva calcolate in corrispondenza dei diversi livelli di ogni fattore di rischio sono state confrontate utilizzando il test statistico chi-quadro (SAS 9.2, Institute Inc., Cary, NC). Per il fattore sesso è stato calcolato il rischio relativo (RR) di recidiva delle femmine rispetto ai maschi.

Il livello di significatività statistica è stato definito per $P < 0,05$.

5.3 Risultati

La casistica di questo studio retrospettivo è stata analizzata al fine di ottenere alcune valutazioni statistiche sulle caratteristiche del campione stesso, quali incidenza della patologia per razza, età e sesso dei casi raccolti. In seguito si è presa in considerazione la tecnica chirurgica eseguita ed i tipi di supporti ad essa associati, al fine di valutare il numero di esiti positivi e la percentuale di recidiva correlata all'intervento ed al supporto utilizzato.

Esaminando innanzitutto la frequenza di insorgenza del sequestro corneale nelle diverse razze raccolte nella nostra casistica, è stato osservato che le razze più colpite sono la persiana, l'esotica ed i soggetti europei. La razza persiana rappresenta il 70,9% del nostro campione, con 124 casi su 175, mentre i gatti esotici ed europei contano 22 casi entrambi, pari al 12,8% del nostro campione. Infine, i soggetti presenti in numero minore ed appartenenti a varie razze (Certosino, Ragdoll, Sfinx, Siamese, British e Siberiano) contano un totale di 7 casi e rappresentano il 4% della casistica (vedi Figura 5.1).

| RAZZA | NUMERO DI CASI |
|------------------|----------------|
| Persiano | 124 |
| Europeo | 22 |
| Esotico | 22 |
| Certosino | 2 |
| Ragdoll | 1 |
| Sfinx | 1 |
| Siamese | 1 |
| Siberiano | 1 |
| British | 1 |

Tabella 5: Razze rappresentate nel campione

Per facilitare l'elaborazione statistica dei dati, il campione è stato suddiviso in 4 gruppi in base alla razza di appartenenza: il gruppo Persiano, il gruppo Esotico, il gruppo Europeo ed il gruppo Altro. In quest'ultimo gruppo sono stati raccolti quei soggetti appartenenti a diverse razze e presenti in numero minore nel campione. Una differenza statisticamente significativa nell'incidenza della patologia si è registrata nei diversi

gruppi: il gruppo Persiano ha riportato l'incidenza maggiore, pari al 70,9%, mentre il gruppo Europeo ed Esotico hanno registrato un'incidenza dell' 12,8%. Le razze raggruppate nel gruppo "ALTRO" hanno riportato l'incidenza più bassa, pari al 4% (chi quadro 266, $p < 0.0001$).

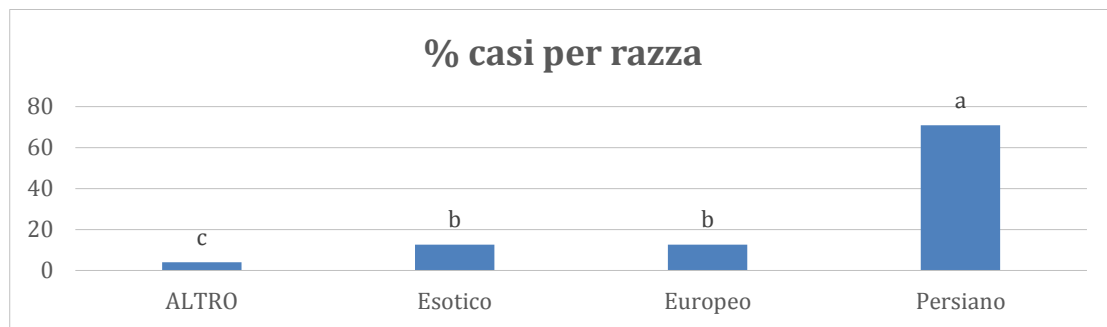


Figura 5.1: Incidenza della patologia nelle varie razze della nostra casistica

L'età di presentazione della patologia è nota in 150 soggetti su 175. Il 70,6% dei pazienti (106/150) presentava un'età pari o inferiore a 5 anni, il 16% (24/150) dei soggetti un'età compresa tra i 6 e gli 8 anni e il restante 13,4% un'età superiore a 8 anni. L'età media del campione è risultata di 4,75 anni, con soggetti da un minimo di 8 mesi ad un massimo di 15 anni.

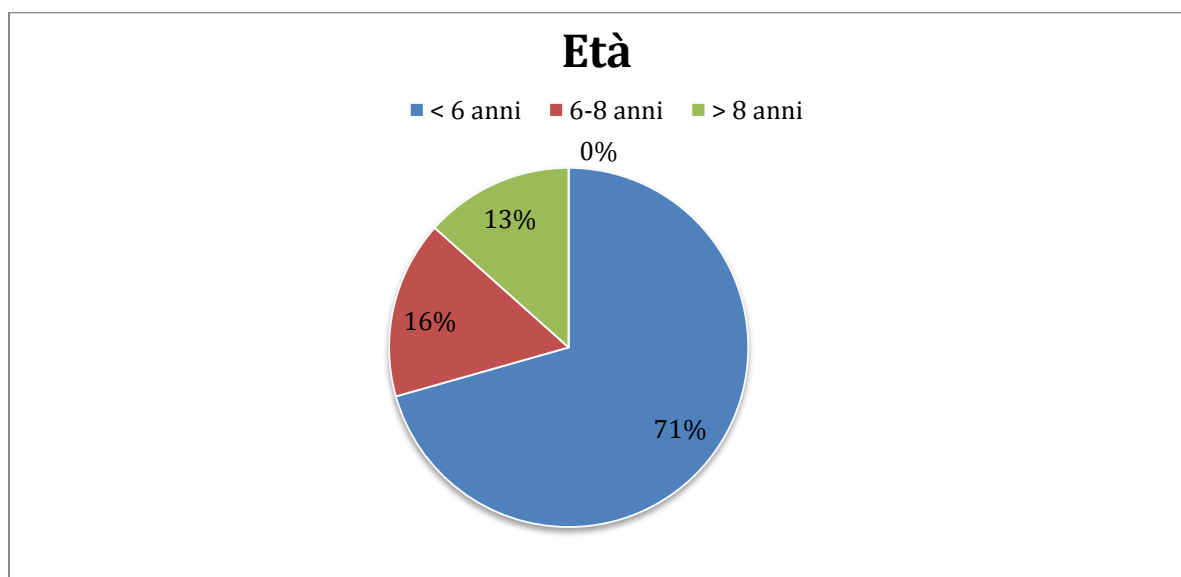


Figura 5.2: Numero di casi di sequestro corneale per età di presentazione

Per la razza persiana, che conta la maggiore incidenza della patologia, si sono confrontati i casi (pari a 103, dato che di 21 soggetti non è stato possibile recuperare il

dato sull'età) con l'età di presentazione. Anche nei persiani, il maggior numero dei soggetti (83 su 103 casi) presentava un'età compresa tra gli 8 mesi ed i 6 anni.

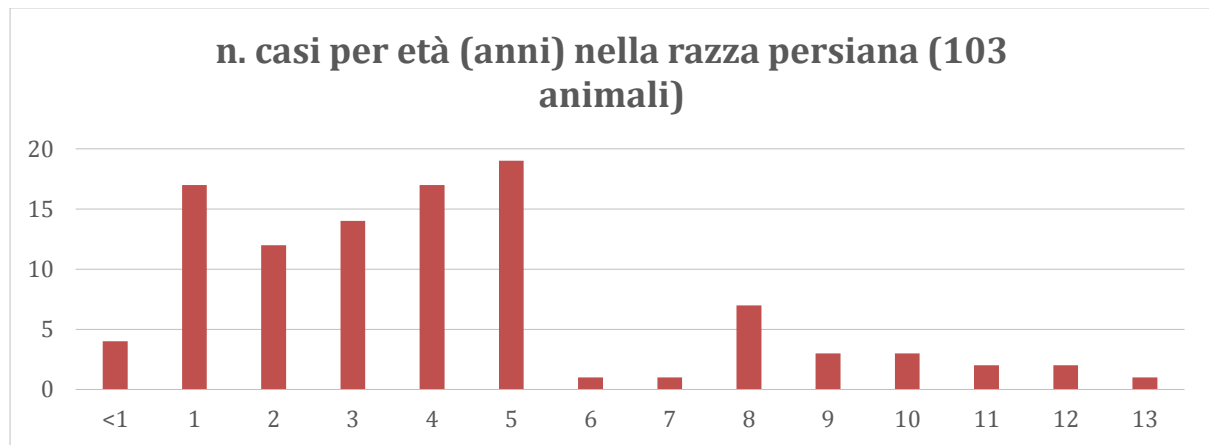


Figura 5.3: Numero di casi nella razza persiana per età di presentazione

In 172 occhi il sequestro corneale si è presentato monolateralmente al momento della visita, con 92 casi di nigrum registrati nell'occhio destro e 80 casi nell'occhio sinistro. La presentazione bilaterale del sequestro, intesa come presentazione contestuale della patologia, si è registrata in 3 soggetti (uno di razza esotica, uno di razza europea ed uno di razza persiana). In 6 casi (4 di razza persiana e 2 di razza esotica) il sequestro si è sviluppato bilateralmente a distanza di tempo e l'intervento per la sua rimozione, effettuato prima in un occhio e successivamente nell'altro occhio al momento dell'insorgenza bilaterale della patologia, è stato eseguito a distanza di alcuni mesi (con un intervallo da 3 a 42 mesi) dall'intervento precedente.

In 7 casi è stata diagnosticata, sulla base dei dati anamnestici e della sintomatologia clinica, un'infezione da Herpesvirus felino (6 casi in gatti europei, 1 caso in un gatto di razza persiana). Tuttavia, non sono stati eseguiti dei test specifici, come la PCR, sui sequestri asportati per confermare tale positività. In alcuni soggetti, in particolare di razza persiana, si è riscontrata la presenza di entropion mediale concomitante al sequestro.

Il sesso degli animali è noto solo in 66 casi su 175. Differenziando femmine intere da femmine sterilizzate e maschi interi da maschi castrati, si sono evidenziati 17 casi di sequestro corneale nelle femmine intere, 23 casi nelle femmine sterilizzate, 5 casi nei maschi interi e 21 nei maschi castrati.

Esaminando il tipo di cheratectomia (superficiale o profonda) adottata nei diversi casi come tecnica chirurgica, sono stati presi in considerazione gli esiti positivi, le complicazioni intraoperatorie e le percentuali di recidiva per le due diverse tecniche. L'esito dell'intervento di cheratectomia superficiale è stato positivo nel 90,36% dei casi (75 occhi su 83 operati), con una percentuale di recidiva del 9,64% (8 casi su 83 operati). Per quanto riguarda la tecnica di cheratectomia profonda, l'esito dell'intervento è stato soddisfacente nell' 86,96% dei casi (80 occhi su 92 operati). La recidiva si è contata in 12 casi, con una percentuale del 13,04% (Tabella 5.1).

| Numero di CASI | Esito della chirurgia | | | |
|-----------------------------------|-----------------------|----------------|-------------|---------------|
| | Recidiva | Esito positivo | Totale casi | % di recidiva |
| Tecnica chirurgica | | | | |
| Cheratectomia profonda | 12 | 80 | 92 | 13,04 |
| Cheratectomia superficiale | 8 | 75 | 83 | 9,64 |
| Totale complessivo | 20 | 155 | 175 | 11,43 |

Tabella 5.1: Esito delle tecniche chirurgiche ed incidenza di recidiva.

In 8 casi sono state riportate delle complicanze: in un occhio è stata riportata la perforazione corneale, in un altro caso si è riscontrata la formazione di un ascesso ed in 7 occhi è stata riportata l'attivazione di collagenasi corneali. In tutti questi casi è stato necessario eseguire una cheratectomia profonda. La chirurgia ha avuto esito positivo e non si sono osservate recidive. (Tabella 5.2)

| Numero di CASI | Esito della chirurgia | | |
|--------------------------------------|-----------------------|----------------|-------------|
| | Recidiva | Esito positivo | Totale casi |
| Complicazioni intraoperatorie | | | |
| Perforazione corneale | 0 | 8 | 8 |
| Collagenasi | 0 | 7 | 7 |
| Ascesso | 0 | 1 | 1 |
| Totale casi | 0 | 16 | 16 |

Tabella 5.2: Complicazioni intraoperatorie presenti ed esito della chirurgia.

Esaminando dunque le percentuali di recidiva per i due interventi chirurgici, la cheratectomia superficiale ha evidenziato un'incidenza (13,04%) superiore, seppur di

poco, a quella della cheratectomia profonda (9,64%). Tuttavia, tali dati non sono risultati statisticamente significativi ($p=0,48$). I casi totali di recidiva riportati nel campione sono stati 20, con un'incidenza media dell'11,43%. In 2 casi il sequestro recidivato si è risolto spontaneamente; in 7 occhi la recidiva è stata rioperata con esito positivo, mentre in 11 casi non è stato possibile recuperare informazioni sul follow-up. Nella nostra casistica, la recidiva si è presentata in media a 15.8 mesi dall'intervento, con casi da un minimo di 2 mesi ad un massimo di 8 anni post-chirurgia. Prendendo in considerazione la percentuale di recidiva in relazione ad altri parametri del campione, si sono osservati i seguenti risultati. Dei 20 casi nei quali si è verificata una recidiva, 13 recidive si sono riscontrate a carico dell'occhio destro (13 su 175 occhi operati, 7.42% di recidiva) e 7 recidive a carico dell'occhio sinistro (7 su 175 occhi, 4% di recidiva). Tuttavia, tale differenza non è risultata significativa. Considerando le razze del campione, si è evidenziato che la razza persiana, nonostante sia la più rappresentata nella casistica, non presenta l'incidenza maggiore di recidiva. Infatti, come illustrato nella tabella 5-4, la percentuale di recidiva calcolata per la razza persiana è dell'11,29%, valore che si avvicina alla media generale del campione. La razza esotica e le razze del gruppo "ALTRO" presentano una percentuale di recidiva più alta rispetto alla media, rispettivamente del 18,18% e del 28,57%. Non è stato riportato, invece, alcun caso di recidiva in gatti di razza europea.

| Razza | Recidiva | Esito positivo | Totale casi | % di recidiva |
|---------------------------|-----------|----------------|-------------|---------------|
| Persiano | 14 | 110 | 124 | 11,29 |
| Europeo | 0 | 22 | 22 | 0,00 |
| Esotico | 4 | 18 | 22 | 18,18 |
| ALTRO | 2 | 5 | 7 | 28,57 |
| Totale complessivo | 20 | 155 | 175 | 11,43 |

Tabella 5.3: Incidenza di recidiva per razza

Essendo la razza persiana la più rappresentata nel campione, si è cercato di capire la distribuzione di recidiva per età in questa razza. Come già evidenziato in precedenza, la maggior parte dei casi di sequestro corneale si sono presentati in soggetti di età inferiore o pari ai 5 anni ed anche la percentuale di recidiva ha seguito tale andamento, con il 75% (15 su 20) di casi al di sotto o attorno ai 5 anni. Un picco nella percentuale di

recidiva si è registrato a 12 anni di età poiché, in 1 caso su 2 totali, la lesione è recidivata (50% di recidiva a 12 anni).

Possiamo, dunque, affermare che nel nostro campione il sequestro corneale si è presentato più frequentemente in animali giovani ed adulti sotto i 6 anni di età, e meno frequentemente in soggetti anziani. Per lo stesso motivo, l'incidenza di recidiva è risultata maggiore negli animali giovani o adulti rispetto agli animali anziani.

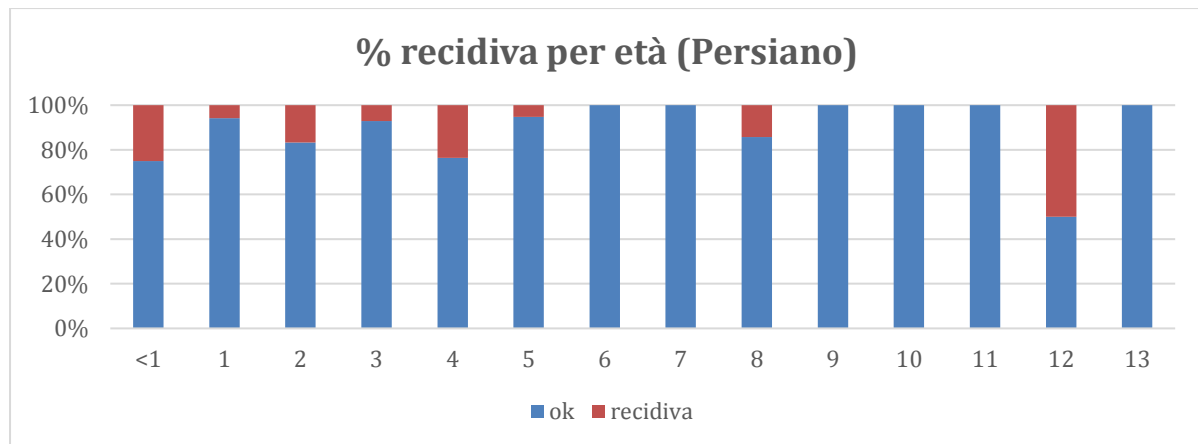


Figura 5.4: Incidenza della patologia per età nei gatti di razza persiana

I supporti associati alla chirurgia utilizzati in questo studio per favorire la riparazione corneale sono stati il flap della terza palpebra, il bioSIS[®] (VET BIOSIST, Cook (UK) Limited, Hertfordshire, UK), il flap congiuntivale libero, il flap congiuntivale peduncolato, il flap congiuntivale a ponte e la trasposizione corneo-sclerale. Per la rielaborazione dei dati, i supporti sono stati suddivisi in due gruppi in base alla loro funzione: il gruppo dei supporti protettivi (dove rientra il flap della terza palpebra) che hanno la funzione di proteggere la zona di cornea operata, e il gruppo dei supporti tettonici, in cui sono stati raggruppati tutti gli altri supporti elencati precedentemente. In alcuni casi si è deciso di associare entrambi i supporti (tettonico + protettivo) per migliorare il risultato chirurgico, oppure si sono associati più supporti tettonici per rafforzare la zona trattata.

Negli occhi in cui si è eseguita la cheratectomia superficiale si è optato, nella maggior parte dei casi, per un supporto protettivo (in 79 su 83 casi); solo in 4 casi di cheratectomia superficiale si è preferito il supporto tettonico al protettivo. Negli occhi in cui si è eseguita la cheratectomia profonda, in 5 casi si è utilizzato solo il supporto

protettivo (5/92), in 70 casi solo il supporto tettonico (70/92) ed in 17 casi si è optato per l'associazione di entrambi i supporti (tettonico + protettivo).

| Tecnica chirurgica | | | |
|-------------------------------|------------------------|----------------------------|--------------------|
| Supporto utilizzato | Cheratectomia profonda | Cheratectomia superficiale | Totale complessivo |
| PROTETTIVO | 5 | 79 | 84 |
| TETTONICO | 70 | 4 | 74 |
| TETTONICO + PROTETTIVO | 17 | 0 | 17 |
| Totale complessivo | 92 | 83 | 175 |

Tabella 5.4: Tipologia di supporto associato alla tecnica chirurgica

Nella tabella sottostante sono elencati in maniera dettagliata tutti i supporti che sono stati associati alla cheratectomia (superficiale o profonda) nei vari casi di sequestro corneale.

| Supporto utilizzato | Tecnica chirurgica (cheratectomia) | | |
|---|---|--------------|------------|
| | Profonda | Superficiale | Totale |
| bioSISt | 9 | 0 | 9 |
| flap congiuntivale libero | 6 | 0 | 6 |
| flap congiuntivale peduncolato | 51 | 0 | 51 |
| flap terza palpebra | 5 | 79 | 84 |
| flap congiuntivale peduncolato + bioSISt | 5 | 0 | 5 |
| trasposizione corneo-sclerale | 4 | 3 | 7 |
| flap congiuntivale peduncolato + flap terza palpebra | 1 | 0 | 1 |
| bioSISt + flap terza palpebra | 4 | 0 | 4 |
| bioSISt+ flap congiuntivale peduncolato + flap terza palpebra | 1 | 0 | 1 |
| trasposizione corneo - sclerale + flap terza palpebra | 6 | 0 | 6 |
| flap congiuntivale a ponte | 0 | 1 | 1 |
| Totale complessivo | 92 | 83 | 175 |

Tabella 5.5: Elenco dei supporti utilizzati. Didascalia: supporto TETTONICO+PROTETTIVO; supporto TETTONICO; supporto PROTETTIVO.

Valutando l'incidenza di recidiva per i vari supporti utilizzati, non è emersa alcuna differenza statisticamente significativa nell'impiego di un supporto tettonico rispetto ad uno protettivo ($p=0.96$). Infatti, utilizzando il supporto tettonico, l'incidenza di recidiva è stata del 12,2%, mentre per il protettivo è risultata del 10,7%. L'utilizzo di entrambi i supporti (tettonico + protettivo) ha portato ad un'incidenza di recidiva dell'11,76%. La percentuale di recidiva media del campione è stata dell' 11,43%, corrispondente a 20 casi su 175.

Si è presa poi in considerazione l'incidenza di recidiva esaminando, tipo per tipo, i singoli supporti scelti. I risultati ottenuti sono riportati nel grafico sottostante (grafico 5-5). Dall'analisi statistica dei dati emerge che la tipologia di supporto con l'incidenza maggiore di recidiva è la trasposizione corneo - sclerale associata a flap della terza palpebra. L'associazione di questi due supporti (tettonico + protettivo), infatti, ha portato a recidiva in 2 casi su 6 operati (33,3%); l'utilizzo del solo bioSIS[®] (supporto tettonico) ha causato 2 recidive su 9 casi totali (22,2%); la sola trasposizione corneo - sclerale (supporto tettonico) ha portato a recidiva in 1 caso su 7 operati (14,3%); il flap congiuntivale peduncolato (supporto tettonico) ha causato 6 recidive su 51 casi (11,7%), mentre il flap di terza palpebra (supporto protettivo) ha portato a recidiva in 9 casi su 84 (10,7%). Per i restanti supporti non è stato riscontrato alcun caso di recidiva durante il follow up. L'associazione della trasposizione corneo-sclerale al flap della terza palpebra è risultata avere un rischio di recidiva, seppure al limite della significatività, di 3 volte superiore al solo flap della terza palpebra ed al flap congiuntivale peduncolato. Tra flap della terza palpebra, flap peduncolato congiuntivale, trasposizione corneo-sclerale e bioSIS[®] non è emersa alcuna differenza statisticamente significativa nell'incidenza di recidiva.

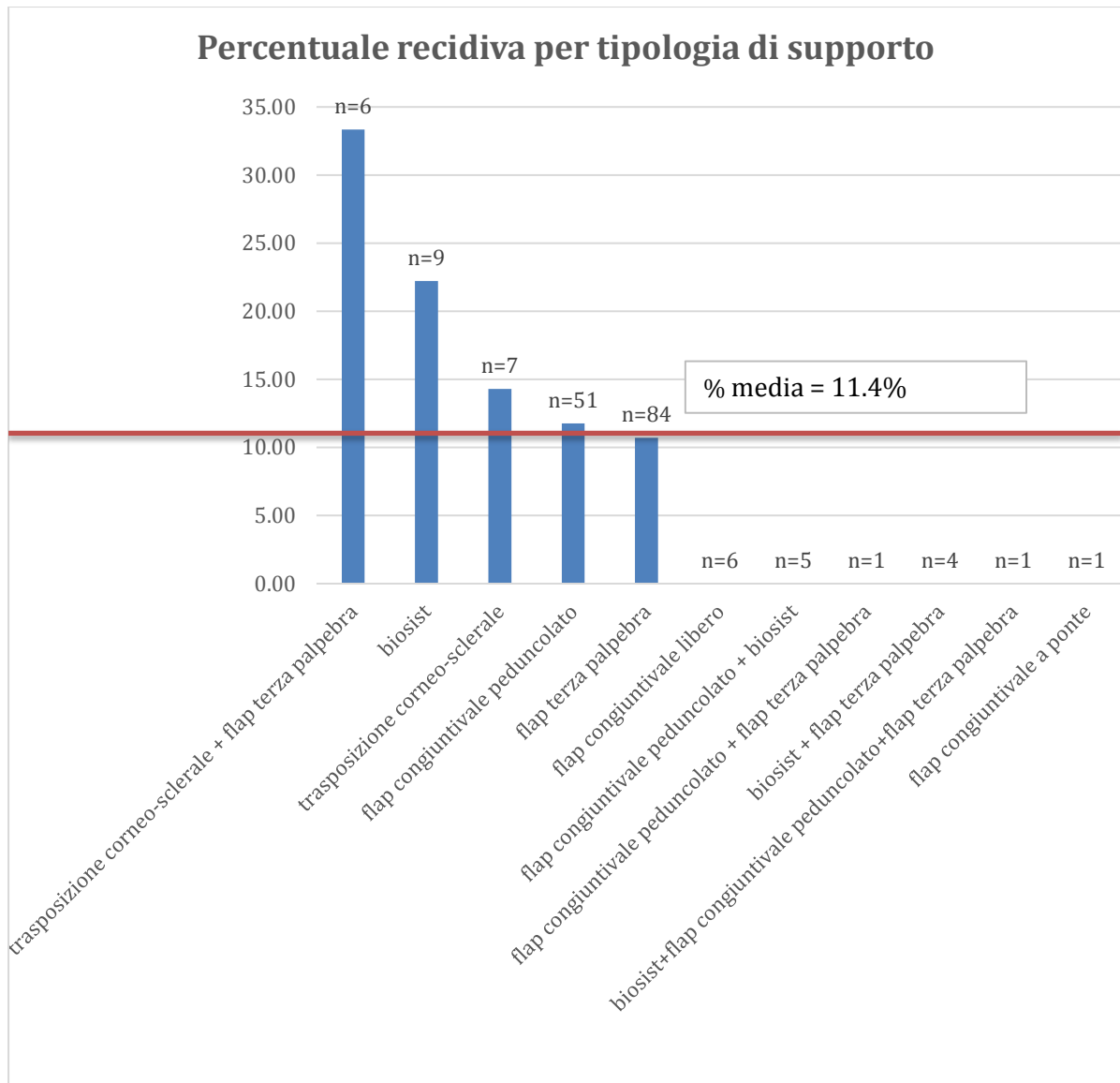


Figura 5.5: Incidenza di recidiva (asse verticale) per le varie tipologie di supporto utilizzate (asse orizzontale)

Valutando l'incidenza di recidiva per il sesso dei pazienti, si è evidenziata un'incidenza del 15% di recidiva nelle femmine e del 7,7% nei maschi, tuttavia tali dati non sono risultati statisticamente significativi ($p=0,37$). Interpretando questi risultati in termini di rischio relativo, è risultato un rischio doppio di recidiva nelle femmine rispetto ai maschi (rischio relativo=1,95) e, in base a tale valore, l'associazione tra sesso e sviluppo di recidive è da classificarsi come modesta.

| Sesso | Numero di casi | | | Percentuale di recidiva |
|----------------------|----------------|--------------------|-----------------|-------------------------|
| | Recidiva | Risultato positivo | Totale dei casi | |
| Femmine | 6 | 34 | 40 | 15% |
| Maschi | 2 | 24 | 26 | 7,7% |
| Non pervenuto | 12 | 97 | 109 | 12,37% |

Tabella 5.6: Incidenza di recidiva per sesso

6. DISCUSSIONE

Il sequestro corneale è una patologia oculare tipica della specie felina. La razza che si è osservata essere più soggetta allo sviluppo di tale patologia è quella persiana (Startup et al., 1988; Blogg et al., 1989; Ragozzino et al., 2012; Featherstone e Sansom, 2004; Andrew et al., 2001; Laguna et al., 2015; White et al., 2012; Graham et al., 2016), seguita dal gatto europeo e dalle razze British Colorpoint, Burmese, Himalaiano, Esotico e Devon Rex (Featherstone e Sansom, 2004; Andrew et al., 2001; Laguna et al., 2015). Quanto riportato in letteratura è in accordo con i risultati del nostro studio, dove la razza persiana ha riportato l'incidenza più alta (70,9%), seguita dalla razza esotica (12,8%) e dal gatto europeo (anch'esso il 12,8% d'incidenza). La predisposizione dei soggetti brachicefali allo sviluppo del nigrum corneale sembra essere conseguente alla particolare conformazione dell'orbita, poco profonda e molto prominente (Blocker et al., 2001), e ad una fisiologica riduzione della sensibilità corneale (Afarnick et al., 2008). Nel nostro campione sono presenti alcune razze (Certosino, Siamese, Siberiano, Sfinx e Ragdoll) non riportate nelle casistiche di studi precedenti, a sostegno del fatto che questa patologia colpisce potenzialmente tutte le razze feline, a prescindere dalla presenza di una riconosciuta predisposizione.

L'eziopatogenesi del sequestro corneale non è stata tuttora chiarita e molte sono le teorie al riguardo (Ragozzino et al., 2012). Uno studio di Nasisse et al. (1989) ha riferito la formazione di sequestri in gatti infettati sperimentalmente con FHV-I. La presenza di herpes virus è stata confermata da analisi di laboratorio effettuate su biopsie di sequestri asportati chirurgicamente (Nassise et al., 1998; Stiles et al., 1997; Volopich et al., 2005; Grahn et al., 2005). Uno studio successivo ha riscontrato la presenza di FHV-I in un numero maggiore di cornee di gatti domestici europei affetti da nigrum rispetto ai gatti persiani (Nassise et al., 1998) e tali risultati hanno portato a ipotizzare che l'Herpesvirus sia una causa eziologica più frequente nei gatti mesocefali rispetto ai brachicefali, dove le caratteristiche anatomiche sembrano rivestire invece il ruolo eziologico maggiore (Nassise et al., 1998). Anche dal nostro studio sono emersi più casi di infezione erpetica nei soggetti europei (6 casi di FHV su 22 casi di sequestro corneale in questa razza) rispetto a quelli di razza persiana (1 caso di FHV su 124 casi). La positività ad Herpesvirus felino non è stata però confermata con test specifici (PCR), ma diagnosticata solo sulla base dei dati anamnestici e della sintomatologia. Un'altra teoria condivisa riporta i difetti anatomici, in particolare l'entropion, come fattore irritativo

cronico in grado di causare danni corneali e la formazione di sequestri secondari (White et al., 2012; Ragozzino et al., 2012; Barachetti et al., 2010; Andrew et al., 2001). Anche nel nostro campione, soprattutto in soggetti di razza persiana, si sono registrati casi di entropion mediale con sviluppo di nigrum. In altri soggetti (Main Coon e gatti europei) non riportati all'interno del nostro campione ed affetti da entropion inferiore laterale, il nigrum corneale secondario al difetto palpebrale è stato espulso senza la necessità di intervenire chirurgicamente. Tra i fattori irritativi meccanici che predispongono allo sviluppo di nigrum, è stato riportato il danno iatrogeno da cheratectomia a griglia e debridement di ulcere indolenti (La Croix et al., 2001). Nello studio di La Croix et al. (2001) il 10% dei casi trattati con debridement ed il 31% dei casi trattati con debridement + cheratectomia a griglia hanno sviluppato secondariamente sequestri corneali perché tali tecniche, sebbene molto utilizzate per la cura di ulcere indolenti, danneggiano ed espongono il collagene stromale sub-basale. Al contrario, non è stata osservata la formazione di alcuna lesione corneale nei 2 casi di ulcere indolenti operate con cheratectomia superficiale. Tale evidenza conferma il fatto che l'azione meccanica di debridement ed il trauma causato dalla cheratectomia a griglia predispongono all'insorgenza del sequestro, mentre la cheratectomia superficiale sembra rappresentare la soluzione chirurgica migliore per trattare le ulcere indolenti riducendo al minimo il trauma iatrogeno e scongiurando la formazione di nigrum corneale.

Esaminando l'età d'insorgenza, nel nostro campione il sequestro si è presentato ad un'età media di 4,75 anni, in un intervallo compreso tra gli 8 mesi ed i 15 anni. Il 70,67% dei casi (106 su 150) ha sviluppato la lesione entro i 6 anni di età, con un picco del 18,7% a 4 anni. Analizzando l'età nella razza persiana, la più rappresentata del campione, nell'80,6% dei casi l'età media di presentazione è stata inferiore ai 6 anni, con un picco del 18,4% dei casi a 5 anni. La nostra casistica rispecchia l'età di presentazione documentata in letteratura, dove sono stati riportati casi di sequestro corneale da un'età minima di 5 mesi ad una massima di 17 anni (Herrera e Weichsler, 2006; Ragozzino et al., 2012; Startup et al., 1988; Laguna et al., 2015; Featherstone et al., 2001; Andrew et al., 2001; Graham et al., 2016; Dalla et al., 2007; Featherstone e Sansom, 2004). Nonostante non sia mai stata evidenziata una predisposizione legata all'età, nel nostro campione il sequestro corneale si è presentato più frequentemente in animali giovani o adulti sotto i 6 anni, e meno frequentemente nei soggetti anziani.

Per quanto riguarda il sesso dei pazienti, nessuna predisposizione è stata riportata in letteratura (Ragozzino et al., 2012; Startup et al., 1988; Laguna et al., 2015; Featherstone et al., 2001; Andrew et al., 2001; Graham et al., 2016). Nella nostra casistica, si è osservato lo sviluppo di sequestro in 40 soggetti di sesso femminile ed in 26 soggetti di sesso maschile, con più casi riportati negli animali castrati o sterilizzati rispetto agli animali interi. I soggetti sterilizzati di sesso femminile rappresentano il maggior numero di casi del nostro campione, seguiti dai maschi sterilizzati, dalle femmine intere ed infine dai maschi interi. Tuttavia, questi dati non sono risultati statisticamente significativi.

Considerando l'insorgenza della patologia a livello di occhio destro (92 casi) e di occhio sinistro (80 casi), in questo studio non si è riscontrata una differenza tale da ipotizzare una predisposizione di un occhio rispetto all'altro nello sviluppo della patologia. Tutti i sequestri si sono presentati in posizione assiale o parassiale ed il coinvolgimento bilaterale è stato osservato in 9 soggetti, 5 dei quali di razza persiana, 3 di razza esotica ed uno di razza europea. Tali dati sono in accordo con quanto riportato in letteratura, dove le razze brachicefale sono indicate come le più soggette allo sviluppo bilaterale del sequestro corneale, sebbene il coinvolgimento bilaterale sia riportato anche nel gatto domestico europeo (Startup et al., 1988; Featherstone e Sansom, 2004).

Già dai primi studi presenti in letteratura (Startup et al., 1988; Blogg et al., 1989), è stata evidenziata la necessità di trattare chirurgicamente il sequestro corneale eseguendo una cheratectomia superficiale o profonda. Nel nostro studio, nel 52,57% dei casi (92 casi su 175) è stata eseguita una cheratectomia profonda e nel 47,43% dei casi (83 casi su 175) è stata effettuata una cheratectomia superficiale. L'incidenza media di recidiva del nostro campione è risultata dell'11,43%, valore in linea con i risultati di alcuni studi retrospettivi precedenti che hanno riportato un'incidenza media tra il 12% ed il 20% (Featherstone et Sansom, 2004). Valutando l'incidenza in funzione del tipo di cheratectomia eseguita, si è visto che nel nostro campione la cheratectomia profonda ha registrato un'incidenza del 13,04%, mentre la cheratectomia superficiale ha portato a recidiva nel 9,6% dei casi. Nonostante tali dati non siano risultati significativi dal punto di vista statistico, essi descrivono l'incidenza di recidiva che normalmente ci aspetteremmo: infatti in casi di sequestri profondi, dove è necessaria una maggiore asportazione di tessuto corneale, è più probabile che, per la difficoltà dell'intervento e il maggior rischio di perforazione, non tutto il tessuto lesionato venga rimosso. In questi

casi ci si aspetterebbe un'incidenza maggiore di recidiva rispetto all'intervento di cheratectomia superficiale, dove l'asportazione di una porzione di cornea di ridotta profondità permette di eseguire l'intervento in maggiore sicurezza e di asportare più facilmente la lesione. In letteratura, a prescindere dalla tecnica chirurgica eseguita, in casi di cheratectomia incompleta si è riportato un rischio di recidiva pari al 38% (Featherstone et al., 2004; Giminez et al., 1998).

Analizzando inoltre i casi di recidiva per razza, nel nostro campione la razza persiana è risultata quella con l'incidenza minore (11,29%), seguita dalla razza esotica con il 18,18% dei casi e dalle razze appartenenti al gruppo altro, con un'incidenza del 28,57%. Nessun caso di recidiva, invece, si è osservato nel gatto europeo.

Per quanto riguarda le complicazioni intraoperatorie, la perforazione corneale è stata la complicazione riscontrata più frequentemente nella nostra casistica (8 casi su 16 complessivi), seguita dall'attivazione di collagenasi (7/16 casi) e dalla formazione di ascessi corneali (1/16 casi), come riportato anche in letteratura (Startup et al., 1988; Blogg et al., 1989; Featherstone e Sansome, 2004).

Già nei primi studi riportati in letteratura, gli autori hanno suggerito di associare alla cheratectomia un supporto di tipo protettivo o tettonico. Startup et al. (1988) furono i primi a pubblicare uno studio retrospettivo basato su un ampio campione (100 casi) di nigrum corneale e riportarono eccellenti risultati utilizzando il flap della terza palpebra ed il peduncolo congiuntivale come supporti. In seguito Blogg et al. (1989) evidenziarono l'efficacia del flap di terza palpebra in casi di cheratectomie superficiali con minima infiammazione e suggerirono, invece, l'utilizzo del peduncolo congiuntivale per cheratectomie profonde o per il trattamento di recidive. Questa distinzione nell'utilizzo dei due supporti è dettata dal fatto che il peduncolo, rispetto al flap di terza palpebra, apporta una maggiore vascolarizzazione alla cornea lesionata, dà sostegno meccanico alla zona operata e riduce il grado d'infiammazione corneale (rendendo superflua la somministrazione di corticosteroidi). Lo svantaggio maggiore che si riscontra nell'utilizzo di questo supporto è la permanenza di una residua opacità nella zona di cornea apposta al peduncolo (Blogg et al., 1989) e per tale motivo Featherstone et al. (2001) ne sconsigliano l'utilizzo per il trattamento di sequestri corneali in posizione assiale.

Il flap della terza palpebra è stato utilizzato come supporto protettivo nel 48% dei casi del nostro campione (84/175). Di questi 84 casi, 79 sono stati sottoposti a

cheratectomia superficiale e 5 a cheratectomia profonda. Questa tipologia di supporto è stata la più utilizzata nel nostro campione ed ha registrato, rispetto alla trasposizione corneo-sclerale ed al flap congiuntivale peduncolato, l'incidenza di recidiva minore (10,7%). La recidiva è insorta in 9 occhi ed un solo caso si è osservato nei soggetti operati con cheratectomia profonda. Nello studio di Ragozzino et al. (2012) sull'efficacia della cheratectomia lamellare con flap di terza palpebra, gli autori non hanno riportato alcun caso di recidiva nei 14 occhi operati. Sebbene l'incidenza di recidiva nel nostro studio sia maggiore rispetto a quella evidenziata dagli autori, dato l'elevato numero di casi trattati con questo supporto (84/175) la percentuale di recidiva da noi riscontrata è da considerarsi comunque bassa. Ragozzino et al. (2012) hanno riportato la guarigione dei soggetti a 30 giorni post-intervento e consigliano questo tipo di supporto chirurgico per l'assenza di complicazioni post-operatorie, per la buona trasparenza corneale recuperata nelle settimane successive al trattamento e per la facilità di esecuzione dell'intervento. Il flap peduncolato congiuntivale è stato utilizzato nel 29,1% dei casi del nostro campione (51/175) come supporto in occhi operati con cheratectomia profonda (Blogg et al., 1989). Nel nostro studio, l'incidenza di recidiva riportata è stata dell'11,76% (6/51), valore leggermente più alto rispetto a quello ottenuto utilizzando il flap di terza palpebra. Tuttavia, non si sono rievellate differenze statisticamente significative nell'incidenza di recidiva tra i due supporti. In letteratura, i casi di recidiva si sono riscontrati principalmente quando il peduncolo si è dislocato o è stato tagliato nelle settimane successive alla chirurgia (Blogg et al., 1989). Nei casi, invece, in cui il peduncolo è stato ridotto di dimensione, ma non reciso, non si sono registrate recidive. Anche Featherstone et Sansom (2004) nel loro studio hanno riportato casi di recidiva e colorazione anomala del peduncolo negli occhi in cui il flap si era spostato o era stato reciso tra i 2 e gli 8 mesi post-chirurgia. Inoltre gli autori non hanno rilevato nel loro campione di 64 casi di sequestro cornale, di cui 44 trattati con sola cheratectomia e 30 trattati con cheratectomia e flap congiuntivale o xenoinnesti, alcuna differenza significativa in merito all'andamento della recidiva utilizzando o meno il flap congiuntivale come supporto. Questo risultato smentisce l'ipotesi di Blogg et al. (1989) secondo i quali una copertura con il flap peduncolato congiuntivale può prevenire l'insorgenza di recidive. Una volta eseguito il flap congiuntivale, Featherstone et Sansom (2004) consigliano di mantenere intatto e permanente il peduncolo (Featherstone et Sansom, 2004; Blogg et al., 1989). Lo svantaggio di tale supporto è dato

dallo sviluppo di un certo grado di leucoma nella zona di cornea attorno al peduncolo che, sebbene diminuisca col tempo, lascia una fibrosi corneale permanente (Featherstone et al., 2001). Per quanto riguarda le varianti del flap congiuntivale, in 6 casi del nostro campione si è utilizzato il flap congiuntivale libero e in 1 caso il flap congiuntivale a ponte. Gli esiti sono stati positivi per entrambi questi tipi di supporti e non si è registrata alcuna recidiva. Anche in letteratura è riportato l'utilizzo del flap congiuntivale libero associato a cheratectomia, tuttavia viene sconsigliato rispetto al flap pedunculato per via del mancato apporto di una vascolarizzazione permanente alla zona lesionata (Featherstone et Sansom, 2004). Un'altra tecnica chirurgica utilizzata come supporto tettonico è la trasposizione corneo-congiuntivale o corneo-sclerale. Tale supporto, indicato come autotrapianto perché ricavato da tessuto sano dello stesso soggetto affetto da sequestro, è stato utilizzato in 13 occhi del nostro campione. In 7 casi è stata eseguita solo la trasposizione corneo-sclerale, mentre in 6 casi è stato associato un flap di terza palpebra. Nei 7 casi di sola trasposizione, si è registrata un'unica recidiva (14,3%); nei 6 casi di trasposizione associati alla copertura della terza palpebra, invece, l'incidenza di recidiva è stata del 33,3%. In letteratura, la cheratectomia lamellare associata alla trasposizione corneo-congiuntivale o corneo-sclerale è considerata un'ottima tecnica chirurgica sia per la bassa incidenza di recidiva, sia per il recupero di un'eccellente trasparenza corneale (Andrew et al., 2001; Graham et al., 2016). Infatti, Andrew et al. (2001), in uno studio retrospettivo di 17 casi, non hanno registrato alcuna recidiva durante il follow-up (da 30 giorni a 7 anni) ed hanno ottenuto una trasparenza della zona assiale della cornea migliore rispetto a quella ottenuta con il flap congiuntivale pedunculato. Solo una leggera opacità lineare è rimasta in corrispondenza della zona di trasposizione limbare (Andrew et al., 2001). Herrera e Weichsler (2006) hanno riportato, in un caso operato con la trasposizione corneo-congiuntivale, lo sviluppo di colorazione marrone nella zona trasposta, risoltasi dopo trattamento topico con ciclosporina e glucocorticoidi. In uno studio successivo di Graham et al. (2016), volto ad indagare meglio gli effetti della trasposizione corneo-congiuntivale in una casistica più ampia, ha riportato una bassa incidenza di recidiva (pari all'8%, con un campione di 109 casi). Anche nel nostro studio l'utilizzo della sola trasposizione ha portato ad una bassa percentuale di recidiva (14,3%), similmente al flap congiuntivale e della terza palpebra. È emerso, invece, un rischio di recidiva 3 volte superiore nell'utilizzo della tecnica di trasposizione corneo sclerale associata a

copertura della terza palpebra rispetto all'utilizzo della sola copertura con la terza palpebra o con flap congiuntivale peduncolato. Nonostante non ci sia evidenza di un minor rischio di recidiva utilizzando la trasposizione rispetto al flap congiuntivale, la tecnica di trasposizione è tra le due la più consigliata per (a) la possibilità di operare efficacemente sequestri posizionati nella zona parassiale della cornea (cosa non possibile con un peduncolo congiuntivale), (b) il quasi completo recupero della trasparenza corneale e (c) il sostegno meccanico dato allo stroma lesionato (Andrew et al., 2001). Un altro tipo di supporto utilizzato nella nostra casistica è il bioSIS[®] (VET BIOSIST, Cook (UK) Limited, Hertfordshire, UK). Tale materiale, ottenuto dalla sottomucosa d'intestino tenue di maiale, è uno xenoinnesto acellulare in grado di promuovere la rigenerazione di vari tessuti (Bussieres et al., 2004). Dati tali presupposti, Featherstone et al. (2001) hanno effettuato uno studio per valutare l'efficacia del SIS in casi di patologie corneali, tra cui il nigrum. Nei casi trattati, l'autore ha riportato prima una risposta infiammatoria, poi una graduale diminuzione della vascolarizzazione ed infine l'assimilazione del biomateriale nella cornea. In tutti i casi di sequestro si è recuperata, a lungo termine, una buona trasparenza corneale con minima formazione di cicatrice. Tuttavia, in più della metà dei casi (3 su 5) si è riscontrata una colorazione anomala del SIS, poi scomparsa entro 8 settimane dalla chirurgia. In un caso si è avuta una recidiva, come riportato anche in altri studi (Featherstone et al., 2001). Data la capacità del SIS di ricostruire istologicamente il tessuto in cui viene impiantato, Featherstone et al. (2001) ne sconsigliano l'utilizzo in casi di sequestro profondo, in cui è difficile riuscire ad asportare tutto il tessuto necrotico. Inoltre gli autori ritengono che l'utilizzo di supporti che non apportano un'adeguata vascolarizzazione alla cornea, come nel caso del SIS, aumenti la probabilità di recidiva. Se si vuole utilizzarlo, è necessario tenere conto dello spessore dell'innesto da inserire e della sua distanza dal limbo, in modo che i vasi perilimbari possano assicurarne la corretta vascolarizzazione. In alternativa, si può associare una copertura temporanea con trasposizione della terza palpebra o un flap congiuntivale peduncolato per aumentare l'apporto di sangue al SIS (Featherstone et al., 2001). Infatti, nei 10 casi del nostro campione in cui si sono associati dei supporti protettivi allo xenoinnesto (vedi il flap congiuntivale peduncolato in 5 casi su 10, il flap di terza palpebra in 4 casi su 10 e, in un caso, entrambi i flap), il risultato è stato positivo. Nessuna recidiva si è presentata in questi 10 occhi, a dispetto dell'utilizzo del solo bioSIS[®] senza copertura che ha riportato 2 recidive su 9 casi

operati (pari al 22,2% di incidenza). Tali risultati confermano quanto riportato in letteratura: il bioSIS[®], per quanto sia un valido supporto tettonico, se non associato a flap congiuntivali o ad una copertura temporanea con la terza palpebra non è in grado di apportare la vascolarizzazione necessaria per la guarigione della lesione corneale.

Dei 20 casi totali di recidiva riportati nel nostro campione, 2 casi si sono risolti autonomamente, 7 occhi sono stati rioperati con successo ed in 11 casi i soggetti non sono più stati riportati al Centro Veterinario per una seconda chirurgia. In tutti i 7 casi rioperati si è eseguita una cheratectomia con flap della terza palpebra o flap congiuntivale peduncolato. Il fatto che nessuna recidiva si sia ripresentata dopo il secondo intervento chirurgico va a supportare la teoria di Featherstone et al. (2004), secondo la quale una completa asportazione della lesione e l'apporto di una buona vascolarizzazione (come nel caso dei due supporti utilizzati) sono le due condizioni che più influenzano il rischio di sviluppo di recidive.

In letteratura sono presenti studi sull'utilizzo e sull'efficacia di altri biomateriali, che non sono stati utilizzati nel nostro studio, per la terapia chirurgica del sequestro corneale. Dulaurent et al. (2014) hanno utilizzato in tre casi di sequestro corneale il pericardio bovino (Tutopatch[®]; Tutogen, Metz, France) come xenoinnesto. I risultati ottenuti hanno dimostrato una rilevante somiglianza tra questo xenoinnesto ed il bioSIS[®] nel processo di guarigione; infatti in entrambi i casi si è recuperata una buona trasparenza corneale e l'interfaccia tra xeno innesto/cornea del ricevente è rimasta visibile solo per due mesi successivi alla chirurgia. Dopo le prime quattro settimane, la vascolarizzazione attorno al patch si è attenuata e nessuna recidiva è stata registrata nei sei mesi successivi. Tuttavia, data la breve durata del follow-up dello studio di Delaurent et al. (2014), non è possibile esprimere conclusioni riguardo l'andamento della recidiva. Un altro biomateriale utilizzato nella terapia del sequestro corneale e riportato in letteratura è la membrana amniotica equina (Barachetti et al., 2010). Nel 70% dei casi in cui è stata utilizzata da Barachetti et al. (2010), la membrana amniotica ha permesso il recupero pressoché totale della trasparenza corneale. In conclusione, l'utilizzo della membrana amniotica come biomateriale in casi di sequestro corneale ha dimostrato buoni risultati sia dal punto di vista del recupero della trasparenza, sia dell'insorgenza di recidive. Anche per questo xenoinnesto la selezione dei pazienti è importante e ne è sconsigliato l'utilizzo in casi di sequestro corneale profondo e poco vascolarizzato. Altri studi in letteratura hanno riportato l'utilizzo della matrice acellulare ottenuta dalla

vescica di suino (ACell Corneal Discs™; Lafayette, USA) come supporti in caso di sequestro corneale. In uno studio di Balland et al. (2015), in tutti i casi operati utilizzando la matrice acellulare di vescica di suino non si è riscontrata la comparsa di recidive. Nei pazienti l'innesto è stato coperto con flap della terza palpebra per 18 giorni post-chirurgia. Il risultato è stato la completa integrazione dello xenoinnesto nella cornea del ricevente, confermando il fatto che la matrice acellulare di vescica di suino riduce la risposta immunitaria, promuove la rigenerazione del tessuto e conferisce sostegno meccanico alla cornea. La guarigione della lesione avviene similmente a quella degli altri biomateriali. Nonostante a 90 gg post-intervento Balland et al. (2015) abbiano evidenziato la presenza di una moderata quantità di tessuto cicatriziale, l'occhio ha riacquisito una buona trasparenza nel corso delle settimane successive (con un follow-up fino ad 1 anno). Dopo l'intervento, si consiglia l'utilizzo di un peduncolo congiuntivale per promuovere la vascolarizzazione, l'arrivo di fibroblasti, la riepitelizzazione e l'apporto di sostanze antimicrobiche e antiproteolitiche. Nello studio di Chow e Westermeyer, l'87% dei casi operati hanno riacquisito la completa capacità visiva. A confronto con il bioSIS®t, l'ACell™ è più spesso, più maneggevole e più facile da reidratare (Chow e Westermeyer, 2015). L'utilizzo di protezioni (come la lente a contatto) e di una copertura con la terza palpebra o con un flap congiuntivale sono consigliati per mantenere lo xenoinnesto idratato, protetto e vascolarizzato. La cheratoplastica, che può essere omologa o eterologa, prevede il trapianto di un disco di cornea da un soggetto donatore ad un ricevente, ed è un'altra delle tecniche chirurgiche utilizzate nella terapia del sequestro corneale. Laguna et al. (2015) con questa tecnica hanno riportato un solo caso di recidiva, pari al 5%, e gli autori ipotizzano che tale recidiva sia la conseguenza di una incompleta asportazione del tessuto necrotico durante la cheratectomia, piuttosto che della tecnica chirurgica in sé. Il recupero completo della visione (riportato nell'88% dei casi nello studio di Laguna et al., 2015) e della trasparenza corneale, necessario soprattutto in casi di sequestro corneale assiale (Hansen e Guandalini, 1999), rendono vantaggiosa questa tecnica. Il rigetto del trapianto rappresenta la complicazione più importante: poiché la risposta immunologica è rivolta all'endotelio e all'epitelio corneale, è bene asportare dagli impianti corneali tali componenti in modo da ridurre al minimo tale rischio (Gimenez et al., 1998; Hansen e Guandalini, 1999). Anche la somministrazione di corticosteroidi nel post operatorio riduce la risposta infiammatoria e diminuisce le probabilità di rigetto

(Giminez et al., 1998). Inoltre, si è ipotizzato che il congelamento delle cornee dei donatori potesse ridurre ulteriormente tale rischio, ma Laguna et al. (2015) non osservarono significative differenze rispetto all'utilizzo di innesti freschi o refrigerati. Essendo stato trovato DNA di FIV e FeLV (Herring et al., 2001) in cornee di gatti sani, è opportuno testare la negatività delle cornee dei donatori a tali virus, in modo da escludere la possibile trasmissione di malattie al ricevente. Un test Elisa negativo è sufficiente per escludere la presenza di FeLV (Herring et al., 2001). In caso di utilizzo di cornee eterologhe prelevate da cani donatori, è bene testarne la negatività a Leishmania e rabbia (Giminez et al., 1998).

Per quanto riguarda il trattamento medico post-chirurgico, in letteratura si riporta l'utilizzo di una terapia farmacologica a base di trobramicina (ad uso topico, in gocce), di colliri contenenti cortisonici e di ciclosporina nel caso in cui permanga dell'infiammazione, della vascolarizzazione superficiale o una leggera pigmentazione (Herrera e Weichsler, 2006; Laguna et al., 2015; Ragozzino et al., 2012; Startup et al., 1988). A questa terapia si associa un trattamento antibiotico ad ampio spettro per 8/10 giorni ad uso topico e/o sistemico.

7. CONCLUSIONI

Secondo la mia personale opinione, in accordo con quanto riportato in letteratura, il trattamento chirurgico rappresenta la soluzione migliore per la terapia del sequestro corneale. Infatti, la terapia medica richiede un processo di guarigione più lungo e prolunga il discomfort del paziente, cosa evitabile eseguendo tempestivamente l'asportazione chirurgica del sequestro. Il trattamento chirurgico ideale dovrebbe ridurre al minimo il rischio di recidiva, restituire una buona visione e promuovere il processo di riparazione corneale, al fine di recuperare la massima trasparenza possibile. La tecnica di cheratoplastica lamellare sembra avere tutte le caratteristiche vantaggiose sopra riportate. Infatti, gli studi in letteratura a suo riguardo riportano una bassissima incidenza di recidiva (Laguna et al., 2015), un leggero grado di leucosi a livello di interfaccia innesto/cornea ed il completo recupero della trasparenza corneale dopo alcune settimane post-chirurgia (Giminez et al., 1998; Laguna et al., 2015). Tuttavia, la cheratoplastica lamellare resta una tecnica poco utilizzata per la scarsa disponibilità di cornee e l'assenza di banche d'organi in medicina veterinaria (Laguna et al., 2015). Gli xenoinnesti (bioSIS®, membrana amniotica equina, pericardio di bovino, ACell™ e matrice acellulare di vescica suina), più economici e pratici rispetto alla cheratoplastica, sono una buona opzione di supporto tettonico, ma non impediscono il rischio di recidiva e possono richiedere l'associazione con flap peduncolato o flap di terza palpebra. Per scegliere la tecnica chirurgica più adeguata, è necessario conoscere vantaggi e svantaggi dei vari interventi, individuare il supporto più adatto ai singoli casi ed al risultato che si desidera ottenere. Ritengo che la trasposizione corneo-congiuntivale, o corneo-sclerale, sia una valida alternativa chirurgica nei casi in cui si voglia recuperare esteticamente un'eccellente trasparenza corneale. Inoltre, tale tecnica ha registrato una bassa incidenza di recidiva sia nel nostro studio, sia in letteratura ed apporta una buona vascolarizzazione alla lesione (Graham et al., 2016). Essa viene consigliata in casi di sequestro corneale assiale, profondo oltre la metà dello stroma (Andrew et al., 2001; Graham et al., 2016); essendo un trapianto autologo è una buona alternativa alla cheratoplastica, dove il rischio di rigetto è uno degli svantaggi riportati. Le tecniche chirurgiche di più facile esecuzione sono la cheratectomia con flap della terza palpebra e la cheratectomia con flap peduncolato congiuntivale. Il flap della terza palpebra si è confermato un buon supporto protettivo e nella nostra casistica ha ottenuto una bassa incidenza di recidiva. Per questo motivo ritengo che tale tecnica

chirurgica sia ottima nei casi di sequestro superficiale trattato con cheratectomia superficiale, poiché poco invasiva e di semplice esecuzione (la copertura può essere tolta due settimane post-chirurgia). Da quanto evidenziato nella nostra casistica, il flap peduncolato congiuntivale rappresenta un buon supporto tettonico in casi di cheratectomia profonda ed un buon supporto protettivo se associato a innesti o xenoinnesti inseriti nella cornea. Dato che nel nostro studio i risultati migliori si sono ottenuti associando alla cheratectomia (per l'asportazione di tutta la lesione corneale) un flap congiuntivale peduncolato o l'apposizione della terza palpebra, ritengo che la prima forma di precauzione verso lo sviluppo di recidive sia la completa asportazione della lesione e l'apporto di una buona vascolarizzazione alla zona operata. Sebbene il flap peduncolato e quello di terza palpebra non restituiscano esteticamente una trasparenza corneale ottimale, come avviene invece con l'utilizzo d'innesti corneali (trapianti) o con la trasposizione corneo-congiuntivale, essi sono consigliabili poiché permettono il recupero della visione, sono di facile esecuzione ed hanno riportato nel nostro studio una bassa incidenza di recidiva.

RINGRAZIAMENTI

Ero piccola quando mia madre, un giorno, mi chiese quale lavoro avrei voluto fare da grande. La mia risposta non poteva essere più ovvia: io adoravo premere i bottoni della mia cassa giocattolo, quindi da grande avrei di certo intrapreso una brillante carriera di commessa di cassa. Bene... eccomi qui, vent'anni dopo, a fare quello che non avrei mai pensato di fare. Perché sì, la vita è un po' come l'immagine di una TAC: bella, affascinante, complicata e terribilmente incomprensibile.

Giunta al termine di questa emozionante, nonché un tantino snervante, esperienza universitaria non posso non ringraziare le persone che, più o meno consapevolmente, mi hanno guidata per tutto questo percorso.

Il primo enorme e grande grazie va alla mia famiglia: grazie a papà Fabio, 50enne brizzolato e pazzo, per avermi sempre trattata come la sua principessa; grazie a mamma Maria Rita, santa donna, per non avermi mai fatto mancare il suo affetto e grazie a mio fratello Nicola, sia per la pazienza che ha dimostrato fin da piccolo verso le mie tendenze isteriche/omicide/distruttive, sia per aver sempre corretto i miei compiti. Ringrazio infine mia nonna, donna forte ed orgogliosa, per essermi stata accanto come meglio poteva e per non aver mai mancato di pubblicizzare il mio operato.

Ringrazio i miei gatti, preziosi compagni di vita, per avermi insegnato che anche gli animali hanno un'anima.

Un ringraziamento speciale va ai miei pazzi amici "Le magnifiche 4 - Mat + Apu", con i quali ho condiviso i momenti più divertenti della mia vita ed ai quali non ho mai mancato di raccontare le mie sadiche avventure universitarie (cani squartati, teste mozzate, esplorazioni rettali e quant'altro!).

Ringrazio Francesca e Stefania (vi avevo promesso una menzione d'onore) per essermi state accanto in ogni decisione e per non aver mai smesso di credere in me.

Ringrazio Nadia e Federica, le mie "Solterote", per le risate, le cenette e le giornate in montagna.

Ringrazio le mie amiche Cioppy (Alessandra) e Blap (Francesca) per aver riempito di gioia e pazzia le mie giornate legnaresi.

Ringrazio i miei coinquilini, passati e presenti, per aver pazientemente convissuto con i mie disturbi ossessivo - compulsivi verso la pulizia, per aver sopportato le mie urla notturne e, nonostante questo, avermi sempre trattata come una persona "quasi" normale.

Ringrazio Carlotta (amica e coinquilina del cuore) per tutte le serate passate a guardare film strappalacrime, per le confidenze, le risate e per le indimenticabili avventure che abbiamo vissuto assieme.

Ringrazio le mie folli e divertenti compagne di tirocinio, con le quali ho condiviso alcuni dei momenti più memorabili della mia carriera universitaria, e tutti i miei amici legnaresi per aver reso speciale la mia vita da fuori sede.

Infine, riservo un ringraziamento particolare ai miei neuroni che, nonostante i disperati e numerosi tentativi di suicidio di massa, hanno reso possibile il raggiungimento di questo traguardo.

THE END!

Bibliografia

- Andrew, S. E., Tou, S., & Brooks, D. E. (2001). Corneoconjunctival transposition for the treatment of feline corneal sequestra: A retrospective study of 17 cases (1990-1998). *Veterinary Ophthalmology*, 4(2), 107-111.
- Balland, O., Poinard, A., Famose, F., Gouille, F., Isard, P., Mathieson, I., & Dulaurent, T. (2015). Use of a porcine urinary bladder acellular matrix for corneal reconstruction in dogs and cats. *Veterinary Ophthalmology*, 1-10.
- Barachetti, L., Giudice, C., & Mortellaro, C. (2010). Amniotic membrane transplantation for the treatment of feline corneal sequestrum: Pilot study. *Veterinary Ophthalmology*, 13(5), 326-330.
- Blocker, T., & van der Woerd, A. (2001). A comparison of corneal sensitivity between brachycephalic and domestic short-haired cats. *Veterinary Ophthalmology*, 4(2), 127-130.
- Blogg, J. R., Stanley, R. G., & Dutton, A. G. (1989). Use of conjunctival pedicle grafts in the management of feline keratitis nigrum. *Journal of Small Animal Practice*, 30(12), 678-684.
- Boydell, P., & Roxburgh, G. (1999). Treatment of corneal necrosis with topical interferon. *Proceedings of the European College of Veterinary Ophthalmologists/ESVO/ISVO/ICNVSPA 1999*; 16.
- Bouhanna, L., Liscoët, L., & Raymond Letron, I. (2008). Corneal stromal sequestration in a dog. *Veterinary Ophthalmology*, 11(4), 211-214.
- Bussieres, M., Krohne, S., Stiles, J., & Townsend, W. (2004). The use of porcine small intestinal submucosa for the repair of full-thickness corneal defects in dogs, cats and horses. *Veterinary Ophthalmology*, 7(5), 352-359.
- Chow, D. W. Y., & Westermeyer, H. (2015). Retrospective evaluation of corneal reconstruction using ACell in dogs and cats: 82 cases. *Veterinary Ophthalmology*, doi:10.1111/vop.12294

- Croix, N. C. L., La Croix, N., van der Woerd, A., & Olivero, D. (2001). Nonhealing corneal ulcers in cats: 29 cases (1991-1999). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218(5), 733-735.
- Cullen, C., Wadowska, D., Singh, A., & Melekhovets, Y. (2005). Ultrastructural findings in feline corneal sequestra. *Veterinary Ophthalmology*, 8(5), 295-303.
- Dalla, F. (2007). Feline corneal sequestration: A review of medical treatment in 37 cases. *Veterinary Research Communications*, 31 doi:10.1007/s11259-007-0098-0
- Davidson, H. J., Gerlach, J. A., & Bull, R. W. (1992). Determination of protein concentrations and their molecular weight in tears from cats with normal corneas and cats with corneal sequestrum. *American Journal of Veterinary Research*, 53(10), 1756-1759.
- DI FISIOLOGIA, C. A. E. (2009). Patologie del film lacrimale e delle superfici oculari nel cane e nel gatto. parte 1. cenni di fisiopatologia. *Veterinaria*, 23(5), 35.
- Dubin, A., Pizzirani, S., & Beamer, G. (2013). Corneal sequestrum in a dog with chronic unilateral keratoconjunctivitis sicca. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 243(12), 1751.
- Dulaurent, T., Azoulay, T., Gouille, F., Dulaurent, A., Mentek, M., Peiffer, R., & Isard, P. (2014). Use of bovine pericardium (tutopatch®) graft for surgical repair of deep melting corneal ulcers in dogs and corneal sequestra in cats. *Veterinary Ophthalmology*, 17(2), 91-99.
- Dyce, K. M., Sack, W. O., Wensing, C. J. G., & Cozzi, B. *Testo di anatomia veterinaria*. Roma: Delfino.
- Featherstone, H., Franklin, V., & Sansom, J. (2004). Feline corneal sequestrum: Laboratory analysis of ocular samples from 12 cats. *Veterinary Ophthalmology*, 7(4), 229-238.
- Featherstone, H., Sansom, J., & Heinrich, C. (2001). The use of porcine small intestinal submucosa in ten cases of feline corneal disease. *Veterinary Ophthalmology*, 4(2), 147-153.
- Featherstone, H., & Sansom, J. (2004). Feline corneal sequestra: A review of 64 cases (80 eyes) from 1993 to 2000. *Veterinary Ophthalmology*, 7(4), 213-227.

Gelatt, K. N., & Gelatt, J. P. *Handbook of small animal ophthalmic surgery*. Oxford: Pergamon Elsevier science.

Gemensky, A. J., & Wilkie, D. A. (2001). Mineralized corneal sequestrum in a cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 219(11), 1568-1572.

Gerriets, W., Joy, N., Huebner Guthardt, J., & Eule, J. (2012). Feline calicivirus: A neglected cause of feline ocular surface infections? *Veterinary Ophthalmology*, 15(3), 172-179.

Graham, K., White, J., & Billson, F. (2016). Feline corneal sequestra: Outcome of corneconjunctival transposition in 97 cats (109 eyes). *Journal of Feline Medicine and Surgery*, doi:10.1177/1098612X16645144

Grahn, B. H., Sisler, S., & Storey, E. (2005). Qualitative tear film and conjunctival goblet cell assessment of cats with corneal sequestra. *Veterinary Ophthalmology*, 8(3), 167-170.

Guandalini, A., Peruccio, C., & Pizzirani, S. (2006). *Oftalmologia*. Vermezzo, MI: Poletto editore.

Hansen, P., & Guandalini, A. (1999). A retrospective study of 30 cases of frozen lamellar corneal graft in dogs and cats. *Veterinary Ophthalmology*, 2(4), 233.

Herrera, H., & Weichsler, N. (2006). Secuestro corneal felino: Estudio retrospectivo de 17 casos (1994-2004). Clínica Veterinaria De Pequeños Animales: Revista Oficial De AVEPA, *Asociación Veterinaria Española De Especialistas En Pequeños Animales*, 26(3), 221-230.

Herring, I., Troy, G., Toth, T., Champagne, E., Pickett, J. P., & Haines, D. (2001). Feline leukemia virus detection in corneal tissues of cats by polymerase chain reaction and immunohistochemistry. *Veterinary Ophthalmology*, 4(2), 119-126.

Jégou, J., & Tromeur, F. (2015). Superficial keratectomy for chronic corneal ulcers refractory to medical treatment in 36 cats. *Veterinary Ophthalmology*, 18(4), 335-340.

Kao, W. W., & Liu, C. Y. (2002). Roles of lumican and keratocan on corneal transparency. *Glycoconjugate Journal*, 19(4-5), 275-285.

- Laguna, F., Leiva, M., Costa, D., Lacerda, R., & Peña Gimenez, T. (2015). Corneal grafting for the treatment of feline corneal sequestrum: A retrospective study of 18 eyes (13 cats). *Veterinary Ophthalmology*, 18(4), 291.
- Malik, R., Lessels, N., Webb, S., Meek, M., Graham, P., Vitale, C., Power, H. (2009). Treatment of feline herpesvirus-1 associated disease in cats with famciclovir and related drugs. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(1), 40-48.
- McGavin, D. M., Zachary, J. F., & Castagnaro, M. (2010). *Patologia veterinaria sistematica*. Milano: Elsevier.
- McLellan, G. J. (2000). Corneal stromal sequestration and keratoconjunctivitis sicca in a horse. *Veterinary Ophthalmology*, 3(2-3), 207.
- Nasise, M. P., Glover, T. L., Moore, C. P., & Weigler, B. J. (1998). Detection of feline herpesvirus 1 DNA in corneas of cats with eosinophilic keratitis or corneal sequestration. *American Journal of Veterinary Research*, 59(7), 856-858.
- Nasise, M. P. (1989). Experimental ocular herpesvirus infection in the cat. sites of virus replication, clinical features and effects of corticosteroid administration. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 30(8), 1758.
- Newkirk, K., Hendrix, D. V. H., & Keller, R. (2011). Porphyrins are not present in feline ocular tissues or corneal sequestra. *Veterinary Ophthalmology*, 14(s1), 2-4.
- Peña Gimenez, M. T. P., & Fariña, I. M. (1998). Lamellar keratoplasty for the treatment of feline corneal sequestrum. *Veterinary Ophthalmology*, 1(2-3), 163.
- Ragozzino, M. (2012). Surgical treatment of feline corneal sequestration using focal keratectomy and third eyelid flap: A retrospective study and literature review. *Veterinaria (Cremona)*, 26(1), 19.
- Sjaastad, O. V., Sand, O., & Hove, K. (2010). *Physiology of domestic animals*. Oslo: Scandinavian veterinary press.

Slatter, D. H., Maggs, D. J., Miller, P. E., & Ofri, R. (2008). *Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology*. St. Louis: Saunders.

Startup, F. G. (1988). Corneal necrosis and sequestration in the cat: A review and record of 100 cases. *Journal of Small Animal Practice*, 29(7), 476-486.

Stiles, J., McDermott, M., Bigsby, D., Willis, M., Martin, C., Roberts, W., & Greene, C. (1997). Use of nested polymerase chain reaction to identify feline herpesvirus in ocular tissue from clinically normal cats and cats with corneal sequestra or conjunctivitis. *American Journal of Veterinary Research*, 58(4), 338-342.

Stiles, J., & Pogranichniy, R. (2008). Detection of virulent feline herpesvirus-1 in the corneas of clinically normal cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10(2), 154-159.

Townsend, W., Rankin, A., Stiles, J., & Krohne, S. (2008). Heterologous penetrating keratoplasty for treatment of a corneal sequestrum in a cat. *Veterinary Ophthalmology*, 11(4), 273-278.

Volovich, S., Benetka, V., Schwendenwein, I., Mostl, K., Sommerfeld Stur, I., & Nell, B. (2005). Cytologic findings, and feline herpesvirus DNA and chlamydomydia felis antigen detection rates in normal cats and cats with conjunctival and corneal lesions. *Veterinary Ophthalmology*, 8(1), 25-32.

White, J., Grundon, R., Hardman, C., O'Reilly, A., & Stanley, R. (2012). Surgical management and outcome of lower eyelid entropion in 124 cats. *Veterinary Ophthalmology*, 15(4), 231-235.