



UNIVERSITA' DI PISA

Scuola di specializzazione in Oftalmologia

TESI DI SPECIALIZZAZIONE:

Microscopia confocale nella valutazione del
trattamento con Ciclosporina topica nella Sindrome
di Sjogren primitiva.

Relatore

Chiar.mo Prof. Marco Nardi

Candidata:

Valentina Varanini

Anno Accademico 2011-2012

INDICE

La Sindrome di Sjogren.....	3
Epidemiologia	4
Eziologia.....	4
Manifestazioni cliniche	6
Diagnosi	9
Terapia.....	13
Prognosi.....	15
Il dry eye nella Pss.....	16
La Ciclosporina	22
Materiali e metodi	27
Lo studio.....	27
I pazienti.....	28
La microscopia confocale.....	30
Risultati.....	36
Discussione.....	33

LA SINDROME DI SJOGREN

La sindrome di Sjogren primaria (pSS) è un disordine autoimmune sistemico caratterizzato da infiammazione cronica e coinvolgimento funzionale delle ghiandole esocrine che si presenta di solito con xerostomia e xeroftalmia persistenti. Si tratta di un danno di tipo autoimmunitario delle ghiandole salivari e lacrimali conseguente ad un infiltrazione di cellule T con conseguente morte cellulare ed iposecrezione. L'attivazione dell'infiammazione comporta l'espressione di auto-antigeni sulla superficie di cellule epiteliali con richiamo di cell-T CD4 e CD8. La Sindrome di Sjögren può interessare tutte le ghiandole esocrine (esocrinopatia autoimmune) ed un terzo dei pazienti presenta un impegno sistemico extraghiandolare.

La malattia può essere distinta in:

PRIMARIA: caratterizzata dal coinvolgimento delle ghiandole esocrine (“sindrome secca”) con o senza impegno sistemico;

SECONDARIA: quando è associata ad altre malattie autoimmunitarie (ad esempio artrite reumatoide, LES, sclerodermia, vasculiti, connettivite mista, cirrosi biliare primitiva, tiroidite di Hashimoto, crioglobulinemia mista, Polimiosite, colite ulcerosa, morbo di Chron ed altre).

Epidemiologia

Esistono pochi studi in letteratura sull'epidemiologia della pSS e sembrano fornire dati contrastanti: viene riportata una prevalenza di malattia compresa tra lo 0,15 ed il 3,3% . La variabilità dei dati forniti può essere attribuita a vari fattori tra cui la metodologia dello studio, l'etnia e l'età media della popolazione studiata, il tipo di test utilizzati per la diagnosi e il set di criteri classificativi adottati. La pSS colpisce prevalentemente le donne nella quarta decade di vita con un rapporto femmine/maschi pari a 9:1. (1) I sintomi d'esordio sono quelli della sindrome secca, ma vengono spesso trascurati dagli stessi pazienti, rendendo difficile datare con precisione l'esordio della malattia. La malattia può colpire anche il sesso maschile, in cui sembrerebbero meno frequenti le manifestazioni sistemiche ed il riscontro di autoanticorpi, e molto raramente l'età pediatrica. Nei bambini la sintomatologia della secca è meglio tollerata che negli adulti e l'evento che porta il piccolo paziente all'attenzione dei sanitari è generalmente la tumefazione parotidea ricorrente.

Eziologia

L'eziologia della pSS è verosimilmente di tipo multifattoriale per il concorso di fattori genetici, ormonali, immunologici e virali, anche se non tutti identificati con precisione. L'importanza dei

fattori genetici è confermata dall'associazione tra SS ed alcuni fenotipi dell'HLA:

- DRW52
- DR3: forma associata ad anticorpi anti-SSA e -SSB
- DR4: forma associata ad artrite reumatoide

La netta prevalenza del sesso femminile può essere verosimilmente attribuita all'influenza degli estrogeni, che aumentano l'attivazione policlonale dei linfociti B e la formazione di autoanticorpi (attivano il sistema immune). Esistono molti studi in merito alla correlazione fra SS ed infezioni; in particolare il Citomegalovirus (CMV) ed il virus di Epstein Barr (EBV) sono considerati possibili induttori della malattia. Questi virus hanno infatti un facile accesso (tropismo) alle ghiandole salivari e potrebbero innescare le reazioni autoimmuni verso le stesse, sia con un meccanismo di attivazione aspecifica policlonale B linfocitaria sia con un meccanismo di mimetismo molecolare, cioè inducendo una risposta autoimmunitaria verso antigeni virali.(2,3) Per quanto riguarda la patogenesi la SS è caratterizzata da un'espansione policlonale dei linfociti B e da un'ipergammaglobulinemia con presenza di autoanticorpi quali il fattore reumatoide, gli anticorpi antinucleo (ANA) e gli anticorpi antinucleo estraibili diretti verso le ribonucleoproteine SS-A/Ro e SS-B/La. Gli autoanticorpi mediano il danno alle ghiandole lacrimali provocando la

distruzione del dotto secretorio mentre a livello delle salivari provocano un'ingrossamento dei dotti escretori con successiva atrofia e distruzione della ghiandola stessa. Alterazioni analoghe possono verificarsi a livello di tutte le ghiandole dell'organismo con conseguente secchezza della cute, della vulva, dell'albero bronchiale, della gola e della mucosa nasale.

MANIFESTAZIONI CLINICHE

Manifestazioni ghiandolari

Il coinvolgimento infiammatorio delle ghiandole lacrimali determina la xeroftalmia. I pazienti riferiscono la sensazione di un corpo estraneo, descritta come "sabbia negli occhi". Il paziente può lamentare un'aumentata frequenza nell'ammicciamento, sensazione di bruciore e fotofobia. La sintomatologia oculare è determinata dalla diminuzione della secrezione lacrimale che porta ad un progressivo danno dell'epiteliale congiuntivale e corneale con disepitelizzazione.(4) Dopo la xeroftalmia il sintomo soggettivo più comune è la xerostomia, ovvero la sensazione di "bocca asciutta". I pazienti lamentano difficoltà nella deglutizione di cibi secchi, una sensazione di bruciore ed alterazione del gusto. Si riscontra all'esame clinico iperemia della mucosa orale. Possono anche associarsi candidosi e frequenti carie provocate dalla diminuzione delle difese locali. Nel 60% dei pazienti con SS primaria è presente una tumefazione parotidea che può essere mono o bilaterale e con carattere intermittente.(4) Il

coinvolgimento di altre ghiandole esocrine si presenta con frequenza minore ed è caratterizzato da una diminuita attività secretiva ghiandolare. Questa è evidente a livello dell'apparato respiratorio con secchezza nasale e tosse stizzosa, conseguente alla secchezza tracheale (xerotrachea), e ad una aumentata suscettibilità dei bronchi a stimoli irritativi esterni (iperattività bronchiale). Nel 40% delle pazienti è presente secchezza vaginale. Possono essere colpiti anche il distretto cutaneo, con secchezza cutanea (xerodermia), e il tratto gastroenterico, con una diminuita attività del pancreas esocrino e la gastrite cronica atrofica associata alla presenza degli anticorpi anti-cellule parietali gastriche (APCA).

Manifestazioni extraghiandolari

In circa un terzo dei pazienti la SS può avere un interessamento sistemico coinvolgendo diversi organi e apparati. I sintomi di esordio possono essere aspecifici e si può presentare astenia a volte anche invalidante per lo svolgimento delle attività quotidiane che può precedere, anche di molti anni, la comparsa di un quadro conclamato. Le manifestazioni articolari sono le più comuni e si presentano con artralgia e tumefazione articolare accompagnate frequentemente da febbre. L'interessamento articolare di solito simmetrico colpisce maggiormente le ginocchia, i polsi e le piccole articolazioni delle mani. A livello

cutaneo la SS si può manifestare con diverse modalità. Il Fenomeno di Raynaud è un disordine vascolare spesso riferito dai pazienti con SS che si manifesta in risposta al freddo o ad eventi stressanti. In altri pazienti può manifestarsi una porpora, ovvero la formazione di piccole macchie cutanee di colore rosso cupo di solito localizzate agli arti inferiori. La comparsa di una porpora agli arti inferiori si associa spesso alla presenza di crioglobuline a livello ematico. Le lesioni da orticaria sono più rare e consistono nella formazione di piccoli pomfi rilevati talora pruriginosi, sebbene nella maggior parte dei casi asintomatici.(3)

Le manifestazioni a carico dell'apparato respiratorio sono determinate nella maggior parte dei casi da una alterata secrezione ghiandolare locale. Nei casi più gravi il polmone può essere interessato da una patologia infiammatoria dell'interstizio polmonare che nei casi più gravi può esitare in fibrosi. In caso di interessamento polmonare i pazienti presenteranno tosse persistente (con o senza espettorato) resistente alla terapia antibiotica, dispnea e talora dolore toracico. Uno dei sintomi a carico dell'apparato gastrointestinale più frequentemente riferiti dai pazienti con SS è la disfagia per cibi solidi. Le cause della disfagia possono essere ricondotte alla secchezza della mucosa orale, faringea ed esofagea, o ad una alterata motilità della muscolatura esofagea; anche la nausea, la dispepsia e l'epigastralgia sono dei sintomi abitualmente riferiti dai pazienti

affetti da SS. Il pancreas esocrino può essere interessato in corso di SS da fenomeni infiammatori locali e determinare, seppur raramente, un quadro di pancreatite con aumento degli enzimi pancreatici e dolore addominale di tipo colico.

Il coinvolgimento renale è spesso asintomatico e si può manifestare con un difetto nella capacità di concentrazione urinaria che viene riferito dai pazienti con un aumento della frequenza e della quantità della minzione ed alterazioni dell'esame delle urine quali una lieve proteinuria. A livello istologico può riscontrarsi una nefrite interstiziale o più di rado una glomerulonefrite mediata da immunocomplessi.(5)

Lo spettro dell'interessamento neuromuscolare è abbastanza ampio e comprende l'interessamento del sistema nervoso periferico e quello centrale. Il disturbo più frequente è una polineuropatia periferica sensitivo-motoria a carico degli arti inferiori. I pazienti possono lamentare alterazioni della sensibilità e formicolii (disestesie e parestesie). Il coinvolgimento del sistema nervoso centrale è molto più raro e si può manifestare con un impegno focale di vario tipo. Non vanno infine sottovalutati i disturbi neurocognitivi. I pazienti con SS primaria hanno un rischio 44 volte maggiore rispetto alla popolazione sana di sviluppare un linfoma non-Hodgkin, soprattutto del tessuto linfoide associato alla mucosa (MALT). Il rischio relativo di

sviluppare un linfoma è stato valutato secondo recenti studi intorno a 6,4 casi per 1000/anno. (6)

Sono nella maggior parte dei casi tumori indolenti (a lentissima progressione) localizzati a livello delle ghiandole salivari maggiori (parotidi) che però necessitano una attenta valutazione clinica e istologica. Sono inoltre raramente descritte patologie ematologiche in associazione con la SS come la macroglobulinemia di Waldenstrom, la Gammopatia Monoclonale Benigna e il Mieloma.

Diagnosi

Molte malattie possono presentare alcuni aspetti clinici comuni alla SS, tra queste la sarcoidosi, l'infezione da virus C dell'epatite, quella da HIV, l'amiloidosi, la sclerosi multipla, l'anoressia nervosa. Si può avere una sindrome secca a seguito di una radioterapia del distretto cefalico, per patologie endocrino-metaboliche con disidratazione ed altre cause come gli squilibri ormonali, stress, ansia, depressione e abitudini voluttuarie come fumo, alcool e sostanze stupefacenti. Anche numerosi farmaci di uso comune (ansiolitici, anti-depressivi, anti-istaminici, alcuni anti-ipertensivi, diuretici) possono indurre xerostomia e xeroftalmia. Una volta escluse possibili altre cause di sindrome secca viene intrapreso un iter clinico complesso che si avvale di

esami di laboratorio e di test strumentali atti a valutare la sindrome secca.

E' necessario eseguire un emocromo, il protidogramma che permette di evidenziare una aumentata produzione di immunoglobuline (l'iperattività dei linfociti B determina infatti una aumentata produzione di immunoglobuline con attività autoanticorpale), la VES (velocità di eritrosedimentazione) e il complemento. Tra gli autoanticorpi vanno ricercati gli ANA (anticorpi anti nucleari) e gli ENA (anticorpi contro gli antigeni nucleari estraibili), tra questi ultimi assume una particolare rilevanza ai fini diagnostici la presenza di 2 anticorpi in particolare: gli anti Ro/SSA e gli anti La/SSB. (7-8) E' importante completare gli esami ematochimici con la ricerca del fattore reumatoide e con la ricerca delle crioglobuline la cui presenza, spesso associata alla comparsa di porpora agli arti inferiori, è inclusa tra i fattori prognostici dello sviluppo del linfoma. In un terzo dei pazienti con SS primaria e secondaria sono stati descritti gli anticorpi anti-tiroidei microsomiali (che spesso si associano allo sviluppo di una tireopatia autoimmune) e gli anti-cellule parietali gastriche (APCA) associati a gastrite atrofica e gli AMA (anticorpi anti mitocondrio) che possono associarsi allo sviluppo di un interessamento infiammatorio epatico in corso di SS. Per indagare la secchezza oculare si utilizzano semplici esami che valutano il film lacrimale in modo qualitativo e quantitativo. Il

test di Schirmer evidenzia un'eventuale riduzione del secreto lacrimale tramite l'applicazione di una strisciolina di carta bibula nel fornice congiuntivale per 5 minuti. Un altro test è il break-up time (BUT) che misura il tempo di rottura del film lacrimale. Entrambi i test possono essere effettuati ambulatorialmente durante una visita oculistica. (9-10) Per indagare la presenza di xerostomia l'esame dotato di maggiore specificità e sensibilità è rappresentato dalla biopsia delle ghiandole salivari minori. Tale esame è altamente specifica per la Sindrome di Sjogren (4). Tra le altre metodiche diagnostiche utilizzate per la valutazione delle ghiandole salivari abbiamo l'ecografia delle ghiandole salivari maggiori che offre la possibilità di valutare l'aspetto omogeneo o disomogeneo del parenchima ghiandolare, la scialometria con o senza stimolo, mentre la scialografia parotidea, meno usata perché prevede l'incannulamento del dotto di Stenone, evidenzia le alterazioni anatomiche a livello del sistema duttale. Infine la scintigrafia consente una valutazione funzionale molto sensibile ma poco specifica. Recentemente sono stati stilati dei nuovi criteri diagnostici per la SS (8).

Terapia

La terapia delle manifestazioni oculari della SS si basa essenzialmente sull'uso di sostituti lacrimali in formulazione prive di conservanti; infatti i conservanti, che prevengono la crescita batterica nei flaconi multidose, causano effetti tossici sull'epitelio corneale e congiuntivale. In caso di infiammazione della congiuntiva è giustificato l'uso di farmaci antinfiammatori. Tra questi i corticosteroidi, in associazione o meno con antibiotici, possono essere di aiuto nel controllare il processo infiammatorio ma devono essere usati per brevi periodi. (9-11)

Recentemente e' stato dimostrato che il trattamento topico con Ciclosporina A, un immunosoppressore generalmente utilizzato nel trapianto d'organi, e' in grado di esercitare una efficace azione anti-infiammatoria riducendo la sensazione di secchezza oculare, aumentando la produzione lacrimale e riducendo la necessità di ricorrere all'utilizzo di lacrime artificiali. (12-17)

Il trattamento sintomatico di scelta per la secchezza orale (xerostomia) è la pilocarpina, un farmaco che stimola la secrezione delle ghiandole esocrine (salivari e lacrimali). Originariamente utilizzata per il trattamento della xerostomia conseguente a terapia radiante dei tumori della regione della testa e del collo, la pilocarpina per somministrazione orale si è dimostrata efficace nel migliorare la sintomatologia legata alla riduzione del flusso salivare, ma anche del film lacrimale e delle

ghiandole sebacee. La salivazione risulta aumentata in maniera più significativa rispetto alla lacrimazione, in particolare di 2 – 3 volte già dopo la somministrazione di una compressa e si mantiene tale per tutta la durata della terapia. Tale farmaco presenta però numerose controindicazioni ed effetti collaterali (a carico dell'apparato cardiovascolare, gastrointestinale, respiratorio) per cui il suo utilizzo deve sempre essere ben ponderato in pazienti con altre patologie concomitanti; inoltre, in considerazione della sua breve azione, il farmaco va assunto almeno ogni 8 ore per garantire un effetto costante durante le 24 ore. Recentemente è stata introdotta l'elettrostimolazione delle ghiandole salivari per stimolare la produzione di saliva. Teoricamente, la stimolazione elettrica presenta numerosi vantaggi: effetto continuo, assenza di effetti collaterali, stimolazione delle ghiandole salivari con produzione di flusso salivare "fisiologico" ricco di enzimi antibatterici e minerali protettivi per lo smalto dentario. (11)

La terapia dell'artropatia in corso di SS prevede quasi esclusivamente l'utilizzo di FANS, che il più delle volte sono sufficienti a controllare la sintomatologia. Solo raramente, nei casi di forme artritiche più severe, si può ricorrere all'uso di steroidi per via sistemica o locale. L'uso dell'idrossiclorochina sembra poter normalizzare alcuni indici di laboratorio tra cui la VES e l'ipergammaglobulinemia, ma è controversa la sua

efficacia nel migliorare il quadro clinico. Alcuni autori hanno suggerito che l'idrossiclorochina possa prevenire la trasformazione linfomatosa. Qualora siano presenti manifestazioni extraghiandolari, lo specialista provvederà a prescrivere la terapia specifica più idonea nei singoli casi. (11)

Per concludere, il controllo dell'ambiente in cui vive il paziente affetto da Sindrome di Sjögren è di estrema importanza potendo rendere insufficiente o inefficace una terapia medica correttamente prescritta ed effettuata. E' necessario evitare ambienti fumosi, ed il contatto diretto con il getto dei condizionatori di aria e dei ventilatori ed in generale tutte quelle situazioni che provochino l'evaporazione del film lacrimale. Inoltre molti farmaci usati per via sistemica possono ridurre la produzione della componente acquosa del film lacrimale e salivare, peggiorando la sintomatologia "sicca" oculare e orale. Nei pazienti affetti da SS sono quindi da evitare, quando possibile, farmaci quali i diuretici, gli antistaminici, gli anticolinergici e le sostanze psicotrope.

PROGNOSI

La SS è caratterizzata da una prognosi favorevole a lungo termine; tuttavia, l'impatto sulla qualità della vita può essere significativo. Pertanto, l'uso attento e continuo di terapie sostitutive per la secchezza oculare ed orale e una periodica

valutazione clinica che controlli la presenza di manifestazioni extraghiandolari permetterà infatti al paziente con SS di non subire danni d'organo dalla patologia stessa.

La complicanza prognosticamente più sfavorevole è lo sviluppo di un linfoma. Fattori che devono far sospettare lo sviluppo di linfoma in un paziente con SS sono: la comparsa di tumefazione parotidea ricorrente, la presenza di una gammopatia monoclonale (ovvero di una banda anomala al protidogramma), la formazione di linfonodi laterocecivale e la comparsa di porpora palpabile agli arti inferiori. A livello laboratoristico il rilievo di diminuiti livelli della frazione C4 del complemento e la presenza di crioglobuline. Particolare attenzione occorre anche per pazienti con diagnosi di SS che decida di intraprendere una gravidanza e sia positiva per la presenza di anticorpi anti Ro/SSA poichè nel 2-3 % dei casi, i nati da madri anti-Ro positive possono sviluppare durante la gestazione e in seguito alla nascita un blocco atrio-ventricolare congenito e manifestazioni di lupus neonatale, con coinvolgimento cutaneo ed epatico.

IL DRY EYE NELLA pSS

L'occhio secco è una malattia multifattoriale delle lacrime e della superficie oculare che porta a sintomi da discomfort, disturbi visivi, instabilità del film lacrimale con potenziale danno della superficie oculare. E' accompagnata da un aumento

dell'osmolarità del film lacrimale e dall'infiammazione della superficie oculare. (18)

Nella classificazione dell'occhio secco si distinguono due categorie principali: l'occhio secco da ridotta produzione lacrimale e l'occhio secco da aumentata evaporazione del film lacrimale. L'occhio secco da riduzione della produzione lacrimale è caratterizzato da un'alterazione quantitativa delle lacrime e comprende due sottotipi principali: associato a Sindrome di Sjogren e non associato a Sindrome di Sjogren. La secchezza deriva dalla riduzione della secrezione acquosa e del volume delle lacrime: ciò provoca aumento dell'osmolarità lacrimale (v.n. 305 mOsm/l). L'iperosmolarità del film lacrimale provoca analogo iperosmolarità delle cellule epiteliali della superficie oculare: ne deriva una cascata di fenomeni che portano alla sofferenza tissutale e ad un conseguente stato infiammatorio, dimostrato anche nella presenza di metalloproteinasi, enzimi che si ritrovano nei processi infiammatori.

Il dry eye secondario alla pSS è caratterizzato da un deficit secretivo della componente acquosa delle lacrime causato da un danno di natura autoimmune. Le ghiandole lacrimali e salivari sono infatti infiltrate da cellule T, le quali causano la morte delle cellule acrine e canalicolari della ghiandola con conseguente iposecrezione. Questo meccanismo determina una progressiva iposecrezione ghiandolare basale ed una progressiva riduzione

della risposta secretiva riflessa. Si associa a questo un meccanismo di tipo infiammatorio: i processi infiammatori che avvengono a livello della ghiandola lacrimale portano al drenaggio di mediatori pro-infiammatori a livello della superficie oculare (19). Diversi studi hanno inoltre dimostrato l'espressione di molecole superficiali come ICAM-1 e HLA-DR e di citochine infiammatorie a livello degli epitelii della superficie oculare (in primis dell'epitelio congiuntivale) (20). Un punto non ancora del tutto chiaro è se questo fenomeno sia secondario all'infiammazione della ghiandola lacrimale o se, accanto all'esocrinopatia si verifichi a livello della superficie oculare un'epitelite autoimmune primitiva. L'infiammazione della superficie oculare causa un danno degli epitelii, con incremento dei fenomeni di apoptosi cellulare, ed un alterazione dell'innervazione epiteliale e sub-epiteliale corneale. Il danno nervoso comporta certamente alterazione dello stimolo alla lacrimazione riflessa e dell'effetto trofico dei nervi sugli epitelii ed un rimaneggiamento delle fibre attribuibile agli stimoli riparativi. L'interpretazione più condivisa di questi fenomeni porta a descrivere un processo patogenetico caratterizzato da iposensibilità corneale, riduzione della lacrimazione riflessa (favorita dal danno cellulare ghiandolare) e conseguente aggravamento dell'iperosmolarità e della concentrazione di fattori infiammatori nel film lacrimale. Si tratta quindi di un disordine che coinvolge l'intera unità anatomico-funzionale lacrimale che

include la superficie oculare (film lacrimale, epitelio corneale, epitelio congiuntivale limbare, cellule caliciformi, giunzione muco epidermica palpebrale, ghiandole di meibomio, ghiandole lacrimali secondarie), ghiandola lacrimale principale ed arco riflesso nervoso responsabile della secrezione lacrimale riflessa. La sintomatologia è caratterizzata dalla presenza di bruciore, sensazione di corpo estraneo (descritta spesso come “sensazione di sabbia negli occhi”), fotofobia, senso di secchezza oculare, sensazione di peso e dolore oculare, disturbi del visus e difficoltà di aprire gli occhi al mattino.

Al fine di evidenziare la sintomatologia del paziente affetto da dry eye sono stati utilizzati negli ultimi anni diversi questionari. Questi vengono utilizzati nella ricerca come screening per la diagnosi di occhio secco e nella pratica clinica al fine di valutare gli effetti di trattamenti o per stabilire la severità della malattia. I questionari sono in grado di valutare i sintomi in relazione al grado di compromissione della superficie oculare (es. OSDI Ocular Surface Disease Index) (Tabella 1), l’impatto dei sintomi oculari sulla qualità della visione (es. National Eye Institute Visual Function Quality-25: NEI VFQ-25) e l’impatto del discomfort oculare sulla qualità di vita (Impact of Dry Eye on Everyday Life – IDEEL). (21)

I segni oggettivi della patologia sono la presenza di iperemia congiuntivale, segni di sofferenza dell’epitelio corneale

(epiteliopatia puntata, disepitelizzazione grave o moderata, ulcera corneale) ed alterazioni biomicroscopiche del film lacrimale come diminuzione del lago lacrimale, accumulo di materiale nel lago lacrimale come filamenti mucosi al canto interno). Il film lacrimale mantiene una superficie otticamente piana e provvede al nutrimento degli strati superficiali dell'epitelio corneale e congiuntivale. Viene classicamente descritto in 3 strati: anteriore o lipidico, intermedio o acquoso, profondo o mucinoso. Per valutare il film lacrimale può essere effettuata un'analisi quantitativa e qualitativa. I test quantitativi per misurare la secrezione lacrimale sono l'esame dei menischi lacrimali, il test di Schirmer I, il test di Jones, il turn-over lacrimale ed il TearLab. L'integrità della superficie oculare può essere indagata con dei coloranti specifici. La fluoresceina sodica è in grado di evidenziare difetti epiteliali, cheratiti puntate, erosioni corneali ed abrasioni corneali. Colora l'acqua e passa attraverso le giunzioni corneali rotte delle cellule danneggiate o morte ed è il colorante ideale per la superficie corneale. Il verde di lissamina (sostituito al rosa bengala nella pratica clinica) è il colorante di scelta per la colorazione della congiuntiva. E' un colorante vitale che colora le cellule danneggiate o morte, gli epitelii esposti per la perdita della fisiologica protezione glicoproteica ed il muco. Il BUT (Break Up Time) è considerato un indicatore della stabilità del film lacrimale. Il test consiste nell'osservazione alla lampada a fessura con filtro blu cobalto della superficie del film dopo instillazione

di fluoresceina. Si misura il tempo che intercorre tra l'ultimo ammiccamento e la formazione di aree asciutte sulla superficie corneale. Si fa la media di tre successive determinazioni. Le analisi qualitative del film lacrimale si effettuano mediante test di felcizzazione, citologia ad impressione, misurazione del pH, misurazione dell'osmolarità lacrimale, deteminazione delle proteine lacrimali, valutazione dello strato lipidico, saggio del lisozima e della lattoferrina.

Gli obiettivi principali del trattamento della secchezza oculare sono il miglioramento della sintomatologia e del comfort del paziente e la stabilizzazione di tutti i fattori che costituiscono il film lacrimale riportando il normale equilibrio omeostatico. La gestione della sindrome da discomfort oculare è resa difficoltosa dalla componente infiammatoria che spesso coesiste. La terapia convenzionale per il trattamento della xeroftalmia secondaria a pSS è rappresentata dall'uso di sostituti lacrimali e lubrificanti oculari; il sostituto lacrimale ideale non deve presentare rischi di effetti tossici, deve ricreare un ambiente adeguato a consentire la riparazione, la conservazione ed il turnover cellulare, ricostituire il volume del film senza dare disturbi visivi, avere un lungo tempo di permanenza sulla superficie oculare, non indurre fenomeni di ipersensibilità o allergia. nei casi in cui questi non risultino sufficienti al controllo della sindrome, sono utilizzate poche altre alternative come il trattamento con FANS o

corticosteroidi topici per periodi limitati di tempo o l'occlusione del puntino lacrimale (11).

Recentemente studi controllati hanno supportato l'efficacia della Ciclosporina CsA in somministrazione topica nel trattamento delle forme moderate o gravi di occhio secco sia primario che secondario a pSS (12-17) grazie alla sua azione immunomodulatoria.

LA CICLOSPORINA

La ciclosporina (originariamente denominata ciclosporina A o CsA) è un undecapeptide a conformazione ciclica (da qui il prefisso “ciclo-”) per la prima volta descritto agli inizi degli anni Settanta nelle spore (“-sporina”) del fungo *Tolypocladium inflatum*. La prima e tuttora principale indicazione all’impiego di ciclosporina è nell’ambito della trapiantologia allogenica come farmaco immunosoppressivo antirigetto; l’esperienza ottenuta in questo campo ha però permesso nel corso degli anni di estendere il suo impiego nel trattamento di svariate patologie immunomediate. La ciclosporina trova valida applicazione nella terapia di numerose patologie autoimmuni anche in funzione dell’ottimo rapporto rischio/beneficio, dell’estrema duttilità delle indicazioni e soprattutto della scarsità di effetti avversi.

La ciclosporina (CsA) è in grado di diffondere passivamente attraverso le membrane cellulari, legandosi quindi a un recettore

citosolico, la ciclofillina (CpN), proteina appartenente alle immunofilline. Il complesso CsA-CpN si lega, a sua volta, alla calcineurina inibendola. La calcineurina è una proteina citosolica con attività fosfatasica dipendente dalla concentrazione intracellulare di calcio. Attraverso il suo legame con la calmodulina infatti il calcio presente all'interno della cellula attiva la calcineurina, la cui attività fosfatasica principale è quella di defosforilare il fattore di trascrizione NFAT (Nuclear Factor of Activated T-cells). In condizioni fisiologiche, la defosforilazione di NFAT provoca un cambiamento conformazionale del fattore stesso, tale da consentirne il legame con un'importina, che ne determina il trasferimento nel nucleo. All'interno del nucleo (in presenza di cofattori derivati dall'attivazione di altre cascate di segnale) NFAT si lega al DNA inducendo la trascrizione di numerosi geni tra cui per esempio quello per l'interleuchina 2 (IL2) e quello per la catena γ del recettore per l'IL2 (che passa dalla forma costitutiva a bassa affinità $\alpha\beta$ alla forma ad alta affinità $\alpha\beta\gamma$), entrambi fondamentali per l'attivazione dei linfociti T. L'inibizione farmacologica della calcineurina, operata dalla ciclosporina, blocca l'attivazione delle cellule linfocitarie e causa uno stato di immunosoppressione "selettiva" che previene per esempio lo sviluppo di reazioni di rigetto nei pazienti trapiantati. Tale effetto della ciclosporina è reversibile e il farmaco non ha né proprietà mielotossiche né proprietà mutagene. La calcineurina è pressoché ubiquitaria nell'organismo (costituisce lo 0,1-0,4% di

tutte le proteine del citosol), il che spiega gli effetti terapeutici molteplici (e quelli indesiderati) della ciclosporina. Oltre alla già descritta inibizione della sintesi di IL-2 e alla conseguente inibizione dell'attivazione dei linfociti T, tale farmaco riduce anche l'attivazione delle cellule B T-dipendenti e quindi la produzione di anticorpi; riduce inoltre l'adesione all'endotelio vascolare dei neutrofili, con conseguente effetto antinfiammatorio, e inibisce l'attività dei mastociti. Conseguentemente vi è riduzione di tutte le citochine prodotte dalle cellule immunitarie la cui attività, come abbiamo visto, viene inibita dalla ciclosporina (TNF α , IFN γ , IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-17, etc.).

Gli effetti indesiderati legati all'impiego di ciclosporina sono tempo e dose-dipendenti. I più frequenti e conosciuti sono sicuramente quelli a carico del rene. L'aumento della creatininemia e della kaliemia sono segni di danno renale (reversibile) e devono essere perciò controllati frequentemente. Se la creatininemia supera del 30% i valori di base (e la filtrazione glomerulare è ridotta di oltre il 20%), la CsA andrà ridotta di 0,5-1 mg/kg/die finché i valori rientrano nella normalità, altrimenti il trattamento dovrà essere sospeso. Una volta sospeso il farmaco, la nefropatia non è progressiva. Alterazioni strutturali a livello renale sono state dimostrate dopo periodi di almeno 2 anni di trattamento continuo al dosaggio di 2,5-6 mg/kg/die e la loro

gravità correlava con la durata del trattamento. Per tale ragione, si raccomanda di evitare cicli estremamente prolungati di terapia continuata o, in caso contrario, di controllare più assiduamente la funzione renale. L'ipertensione arteriosa è un'altra condizione frequentemente causata dalla CsA. Se la pressione diastolica presenta stabilmente valori uguali o superiori a 95 mmHg, è necessario ridurre il dosaggio; in caso di mancato rientro alla normalità si può ricorrere a un trattamento antipertensivo, preferibilmente con nifedipina.

La frequenza di neoplasie nei soggetti trapiantati che fanno uso di CsA non è superiore a quella osservata per altri trattamenti. Il rischio di neoplasia nei trapiantati potrebbe tra l'altro essere condizionato dagli alti dosaggi del farmaco e dall'associazione con altri agenti immunosoppressivi. La tossicità della CsA è spesso legata all'uso contemporaneo di altri presidi terapeutici che possono ridurre il metabolismo e aumentarne di conseguenza i livelli plasmatici. Di contro, altre sostanze capaci di esaltare il metabolismo epatico della CsA ne abbassano le concentrazioni attive e possono quindi ridurre l'efficacia. La determinazione della ciclosporinemia non è considerata attualmente utile né necessaria e può essere riservata tutt'al più a pochi casi selezionati (per esempio in caso di sospette interazioni con altri farmaci). Il trattamento con CsA è di solito ben tollerato e accettato dai pazienti. Il farmaco non è né mielotossico né

teratogeno, anche se sconsigliato in gravidanza, ancorché non si abbiano segnalazioni di danni fetali.

La ciclosporina topica si associa ad una riduzione dei CD3, CD4, CD8 a livello dei linfociti T della congiuntiva, agendo così sulle cause alla base del processo fisiopatologico del dry eye secondario a pSS, e consentendo un prolungato e sicuro trattamento antinfiammatorio.

Una formulazione oftalmologica allo 0.05% è disponibile ad oggi in commercio solo negli Stati Uniti ed in poche altre nazioni; nelle nazioni dove non è stata ancora commercializzata, viene utilizzata la CsA topica in formulazione galenica. La concentrazione di farmaco in queste formulazioni varia dall'1% al 2% e può essere preparata in una formulazione su base oleosa o in soluzione acquosa. Presso il nostro centro la formulazione galenica viene preparata diluendo all'1,2%, la ciclosporina in fiale (Sandimmun) in lacrime artificiali (hypotears® coll) (22). Entrambe le preparazioni hanno dimostrato egual efficacia nel miglioramento della sintomatologia soggettiva ed oggettiva dei pazienti affetti da dry eye e xeroftalmia secondaria a pSS. Questa terapia topica si è rivelata sicura, priva di effetti collaterali indesiderati, sulla base dei controlli periodici effettuati relativamente ai parametri di funzionalità epatica e renale (la quantità di farmaco presente nelle preparazioni rendono pressoché nullo il rischio di assorbimento sistemico).

Fino ad oggi l'efficacia del trattamento topico con CsA è stata valutata osservando gli effetti del farmaco nei tradizionali test oculari dimostrando un incremento del test di Schirmer, una riduzione dello staining con rosa bengala e verde di lissamina ed un aumento del break up time (BUT) (12-17, 22).

Tuttavia non ci sono ad oggi dati disponibili riguardo eventuali cambiamenti morfologici della unità funzionale lacrimale indotti dal trattamento con CsA nei pazienti con pSS.

La microscopia confocale a scansione laser (CSLM) è una tecnica di recente introduzione, non invasiva, che dà un importante supplemento diagnostico nello studio in vivo dei disordini dell'unità funzionale lacrimale in molte patologie del segmento anteriore inclusa la pSS (23).

MATERIALI E METODI

Lo studio

Si tratta di uno studio retrospettivo, non comparativo per indagare, con l'ausilio della microscopia confocale a scansione laser (CSLM), i cambiamenti microstrutturali corneali riscontrabili dopo 6 mesi di trattamento topico con Ciclosporina topica 1,2% in formulazione galenica .

I pazienti

Sono state esaminate le cartelle cliniche dei pazienti visitati tra il 2008 ed il 2010 presso la U.O. di Reumatologia di Pisa inviati a consulenza presso la nostra U.O. Oculistica Universitaria che presentavano diagnosi di pSS formulata in accordo con i criteri proposti dall'American-European Consensus Group (8) e xeroftalmia di grado moderato o severo. Tra questi pazienti sono stati quindi selezionati per lo studio coloro che avevano eseguito terapia con CsA 1,2% topica per almeno 6 mesi con una posologia di 2 somministrazioni giornaliere e che erano stati sottoposti a CSLM sia alla prima visita presso la nostra U.O. che durante visita di controllo nel follow up a 6 mesi.

Il trattamento con CsA veniva proposto nei casi di sintomatologia di xeroftalmia (come bruciore, irritazione, sensazione di corpo estraneo) persistenti a seguito di almeno 3 mesi di terapia continuativa con sostituti lacrimali convenzionali e che presentassero un test di Schirmer tipo I inferiore a 5 mm/5min almeno in un occhio e/o una captazione corneale significativa al test con verde di Lissamina.

Sono stati esclusi dallo studio tutti i pazienti con anamnesi positiva per chirurgia oculare (inclusa l'occlusione dei puntini lacrimali) e/o diagnosi di altre patologie oculari concomitanti. Ulteriori criteri di esclusione dallo studio sono stati la presenza di

concomitanti patologie sistemiche e qualsiasi terapia topica e/o sistemica con farmaci con tossicità corneale nota.

Raccolta dei dati

Sono state riesaminate le cartelle cliniche di questi pazienti e sono stati raccolti i dati relativi a età, genere, durata della malattia, manifestazioni ghiandolari ed extraghiandolari della stessa, eventuale trattamento immunosoppressivo in atto ed eventuale uso concomitante di sostituti lacrimali.

Inoltre sono stati valutati i risultati del questionario OSDI (Ocular Surface Index) (Tabella 2) che ciascun paziente era stato invitato a compilare sia durante la prima visita che al controllo successivo. Per il nostro studio, di ciascun paziente, sono stati presi in considerazione i dati relativi a test di Schirmer I (senza anestesia), staining al verde di Lissamina (GLS), tear break up time (BUT) alla prima visita e al controllo dopo 6 mesi di trattamento topico con CsA.

Il test di Schirmer I era stato eseguito seguendo le indicazioni della letteratura (26) usando strisce millimetriche di carta bibula sterile ed una stanza in condizione di bassa luminosità e ad una temperatura compresa tra 20 e 22 °C. Sono stati considerati fuori dal normale valori inferiori a 5 mm di imbibizione della striscia in 5 minuti. Inoltre durante entrambe le visite è stato eseguito il GLS

(27) e classificato secondo uno score (valori patologici $>9 \setminus 18$ in 6 aree congiuntivali esaminate) (26). Il BUT era stato eseguito come illustrato (26), valutando abnormi valori inferiori a 10 secondi.

Inoltre sono stati riesaminati i cambiamenti soggettivi descritti dai pazienti nella percezione soggettiva del discomfort oculare tra la prima visita ed il controllo a 6 mesi di terapia con una scala ordinale di 4 punti che esprimeva il grado di miglioramento (nessuno\minimo\moderato\importante). Sono poi state prese in esame le altre misurazioni effettuate di routine durante entrambe le visite, come esame alla lampada a fessura, misurazione della pressione intraoculare (IOP) mediante tonometria ad appianazione con tonometro di Goldmann, acuità visiva (VA) con tavole di Snellen, esame del fundus oculi con dilatazione pupillare.

MICROSCOPIA CONFOCALE

Esecuzione

Durante le visite presso il nostro centro ciascun paziente è stato sottoposto a microscopia confocale (Confoscan 4.0 Nidek Technologies) con obiettivo 40x previa instillazione nel fornice congiuntivale di 1 goccia di ossibuprocaina cloridrato 4 mg/ml. Durante l'esame la punta della sonda del microscopio è stata

ricoperta con gel Lacrinorm (Benzalconio cloruro 0,01 g; Acido poliacrilico 0,2 g). Veniva allineata quindi la sonda all'apice corneale fino ad ottenere un'immagine chiara dell'endotelio. In alcune scansioni è stato completato l'allineamento finale automaticamente con la modalità auto-adjust dello strumento; in altre cornee è stato eseguito un allineamento interamente manuale. Nella maggior parte dei casi è stata utilizzata la modalità semi-automatica. Lo strumento procedeva quindi ad una scansione della cornea a tutto spessore, registrando alla velocità di 25 frames al secondo, dall'endotelio all'epitelio superficiale fino a raggiungere 350 frames con una distanza tra un frame ed il successivo sull'asse z di scansione di circa 1,5 micron. Ciascun frame esamina un'area di 460 x 345 µm. Alla fine di ciascun esame confocale è stata instillata una goccia di antibiotico monodose (Nettacin, netilmicina 0,3%) ed è stata verificata l'integrità della superficie corneale alla lampada a fessura.

Analisi

Ciascuna scansione completa di immagini dei 2 occhi dei pazienti in studio è quindi stata esaminata da un unico operatore che ha quantificato le seguenti variabili: pachimetria corneale, densità delle cellule epiteliali superficiali e basali, numero di cheratociti stromali attivati, integrità dello strato delle cellule basali e del plesso nervoso superficiale.

Prendendo in considerazione la curva z-scan è stata determinata la pachimetria totale di ciascuna cornea come distanza in micron tra il primo frame riconoscibile dell'endotelio e l'ultimo frame riconoscibile dell'epitelio superficiale. Per ciascun occhio i dati di pachimetria presi in considerazione per l'analisi statistica nel nostro studio sono stati ricavati dalla media matematica di tutti i valori ottenuti da ciascuna curva z-scan. La densità cellulare è stata calcolata mediante la procedura di conta manuale presente nel software prendendo in considerazione l'intera area disponibile. Le cellule parzialmente contenute nell'area selezionata sono state conteggiate soltanto lungo il margine inferiore ed il destro. Anche in questo caso la conta è stata eseguita da un unico operatore ed i dati presi in considerazione sono stati ottenuti dalla media del risultato delle densità cellulari risultate da 3 distinti frame per ciascuno strato di ciascun occhio. L'integrità dell'epitelio basale è stata valutata mediante un grading da 0 a 2 (0 integro, 1 mediamente danneggiato, 2 gravemente danneggiato) mediante l'osservazione da parte di un unico operatore di 3 diversi frame dell'epitelio basale.

Sono state quindi selezionate per ciascuna cornea i frame relativi al plesso nervoso sub-basale in particolare per ciascuna i 3 frame in cui era riconoscibile il maggior numero di fibre nervose. Sono state esaminati il numero di fibre nervose medio riconoscibile in ciascun frame come media dei 3 frame selezionati

precedentemente e tortuosità e riflettività del plesso nervoso classificate in un grading da 0 a 4 secondo i criteri di Oliverira-Soto and Efron (25). Anche in questo caso è stata presa in considerazione il valore medio rilevato in 3 diversi frame di una stessa cornea. Infine è stata valutata l'attivazione cheratocitaria nello stroma anteriore con uno score variabile dal Grado 0 (nessun cheratocita attivato per frame), Grado 1 (fino a 4 cheratociti attivati per frame) e Grado 2 (più di 4 cheratociti attivati per frame). Anche in questo caso è stata considerata la media dei valori riscontrati nei 3 frame di ciascun occhio con maggiore attivazione cheratocitaria.

ANALISI STATISTICA

Le variabili continue e ordinali sono state espresse come mediana (con scarto interquantile) mentre le variabili nominali sono state espresse come numero (in percentuale). Il Testi di Wilcoxon è stato utilizzato per valutare ciascuna differenza tra le variabili ordinali e continue raccolte al momento iniziale e dopo i 6 mesi di trattamento con CsA 1,2%, mentre il test di Mc-Nemar è stato utilizzato per le variabili nominali.

RISULTATI

Venti occhi di 10 pazienti affetti da pSS (età media \pm SD (aa) 57 ± 8 ; durata media della malattia \pm DS (aa) $3,5 \pm 2,4$) erano stati esaminati con microscopia confocale. Le caratteristiche demografiche della popolazione di studio al momento della prima visita presso il nostro centro sono elencate in Tabella 2. I dati riguardanti il test di Schirmer I, LGS e BUT al momento iniziale e dopo i 6 mesi di trattamento con CsA 1,2% ($p < 0.0001$) sono mostrati in Tabella 3. Le misurazioni delle impressioni soggettive dei pazienti mostrano anche queste come 8\10 pazienti riportino un moderato o grande miglioramento del discomfort da dry eye mentre sono 2\10 descrivevano un incremento modesto. Durante il periodo di osservazione dei pazienti non sono state documentate infezioni oculari severe e nessuno di questi ha avuto necessità di terapia antibiotica. Un miglioramento statisticamente significativo è stato riscontrato per tutti i valori raccolti e studiati con la microscopia confocale. I valori pachimetrici, le densità dell'epitelio basale e superficiale, l'integrità dell'epitelio basale e del plesso nervoso subbasale sono riportati nella Tabella 2. La densità delle cellule dell'epitelio superficiale ($p = 0.002$) e lo spessore corneale ($p = 0.02$) erano significativamente più basse alla prima visita rispetto che all'endpoint dello studio. Al contrario abbiamo riscontrato come la densità delle cellule dell'epitelio

basale ($p=0.003$) fosse significativamente più elevata alla visita iniziale che dopo il trattamento con CsA.

La Figura 1A mostra una rappresentazione grafica della distribuzione degli occhi per ciascun grado di danneggiamento dell'integrità dell'epitelio basale prima e dopo il trattamento di CsA 1,2% topica per 6 mesi. Applicando una dicotomizzazione dei pazienti in “normali” ($\text{grade}<1$) e “non normali” ($\text{grade}>1$) è stato riscontrato un miglioramento statisticamente significativo $p<0.0001$. In maniera simile la Figura 1B mostra un istogramma della scala di severità nell'attivazione cheratocitaria prima e dopo il trattamento con CsA. La scala di severità è in gradi da 0 a 2 come descritto precedentemente (Grado 0=nessun cheratocita attivato per frame, Grado 1=fino a 4 cheratociti attivati per frame e Grado 2 =più di 4 cheratociti attivati per frame. Se dicotomizziamo la variabile in “cheratociti quiescenti (grado 0)” e “cheratociti non quiescenti (Grado 1-2)”, è riscontrabile un miglioramento statisticamente significativo ($p=0.001$). La figura mostra chiaramente come il numero di cheratociti attivati fosse maggiore alla prima visita che dopo i 6 mesi di trattamento con CsA.

Prendendo in esame il plesso nervoso sub-basale è stato visto come la densità delle fibre nervose corneali prima del trattamento era significativamente minore (Grado 5 versus Grado 1-4: $p=0.01$) rispetto a quella post trattamento. La distribuzione dei

dati relativi alla tortuosità ed alla riflettività delle fibre nervose prima e dopo il trattamento è mostrata con un istogramma (vedi figure 1D ed 1E). Le due variabili sono state valutate in accordo con una scala di severità da 0 a 4 secondo i criteri di Oliveira e Soto (25). Anche in questo caso dicotomizzando i dati in “normale Grado 0” e “non normale Grado 1-4” è dimostrato un miglioramento statisticamente significativo sia per la riflettività ($p=0.005$) che per la tortuosità delle fibre ($p=0.02$)

DISCUSSIONE

In questo studio è stato impiegato per la prima volta il CSLM come metodica di indagine dei cambiamenti microscopici oculari indotti dal trattamento con CsA topica in soggetti affetti da pSS e per verificare l'efficacia di questo farmaco nel ripristinare l'integrità dell'unità funzionale lacrimale nel dry eye secondario a pSS. Studi precedenti avevano utilizzato il CSLM per documentare le anomalie morfologiche presenti nell'unità funzionale lacrimale in pazienti con pSS. Nel 2003 Tuominen I. et al. (28) avevano per primi studiato le anomalie epiteliali, stromali e nervose nelle cornee di 10 pazienti affetti da pSS. Dimostrarono in questo studio la presenza di attivazione cheratocitaria, anomalie nella morfologia delle fibre del plesso nervoso sub-basale e una ridotta pachimetria corneale centrale. Nel 2004, in uno studio simile, Benitez del Castillo et al. (29)

documentarono una riduzione della densità delle cellule dell'epitelio superficiale in altri 10 pazienti affetti da pSS e confermarono in questi pazienti una alterazione significativa nell'innervazione corneale sub-basale. Infine Villani et al. (24) rilevarono una significativa riduzione della densità cellulare dell'epitelio superficiale ed un incremento della densità delle cellule dell'epitelio basale nei pazienti affetti da pSS rispetto alla popolazione di controllo. Inoltre gli autori dimostrarono una differenza significativa nel numero delle fibre nervose visualizzate per singolo frame al CSLM e nella tortuosità delle stesse. In linea con tutti questi studi questo lavoro conferma come i pazienti affetti da pSS mostrassero, alla prima visita numerose anomalie dell'Unità Funzionale Lacrimale quali una chiara alterazione dei dati pachimetrici e della densità cellulare dell'epitelio basale e superficiale.

Sono state inoltre descritte frequenti irregolarità dell'integrità dell'epitelio basale e molti cambiamenti nel numero e nella morfologia delle fibre nervose del plesso nervoso sub-basale. Dopo 6 mesi di trattamento con CsA 1,2% topica la maggior parte delle alterazioni riscontrate al primo esame erano significativamente migliorate. In particolare abbiamo riscontrato un significativo restauro dell'integrità dell'epitelio basale, un aumento della pachimetria corneale centrale, una riduzione della densità delle cellule dell'epitelio corneale basale ed un aumento

della densità delle cellule epiteliali superficiali. Inoltre l'indagine con CSLM ha rivelato che, dopo 6 mesi di trattamento topico con CsA 1,2%, la maggior parte dei cheratociti attivati iperriflettenti erano ritornati ad uno stato quiescente ed abbiamo potuto documentare un significativo incremento nel numero ed un significativo miglioramento nella tortuosità e nella riflettività delle fibre nervose del plesso sub-basale. Tutti questi cambiamenti microscopici correlano con il risultato clinico come dimostrato dal miglioramento contestuale dei test oculari e della sintomatologia soggettiva dei pazienti. I dati disponibili sembrano suggerire che la CsA inibendo i linfociti T e l'infiammazione cronica della superficie oculare possa reinstaurare l'integrità dell'unità funzionale lacrimale oltre che controllare la sintomatologia ed i segni del dry eye.

In sintesi in questo studio abbiamo confermato l'efficacia e la sicurezza dell'utilizzo della CsA topica in formulazione galenica all'1,2% nella pratica clinica del trattamento del dry eye secondario a pSS. Inoltre abbiamo esplorato con il CSLM alcuni dei cambiamenti microscopici oculari indotti dalla CsA topica che fanno vedere sotto una luce nuova i potenziali meccanismi d'azione della CsA topica per il trattamento del dry eye da pSS.

I nostri dati incoraggiano l'utilizzo del CSLM considerando la potenzialità di questa tecnica non invasiva nell'effettuare una dettagliata analisi morfo-istologica delle strutture corneali e la

dimostrata utilità come un nuovo alleato nella diagnosi e nel follow up del dry eye in pazienti affetti da pSS.