



**UNIVERSITA' DI NAPOLI
"FEDERICO II"**



Tesi Dottorato

**"Lesioni Corneali e Valutazione Quali-quantitativa
del Film Lacrimale del Cane in corso di Anestesia
Generale: confronto tra due diversi Trattamenti
Topici di Protezione Corneale"**

Cordinatore
Prof. Paolo De
Girolamo

Candidato
Dr.ssa Cristina Di
Palma

Tutor
Prof.ssa Barbara
Lamagna

Ad Edmondo.

Lista delle abbreviazioni	9
Lista delle figure	10
Lista delle tabelle	11
Abstract	12
Capitolo 1	17
Film Lacrimale	17
1.1 Struttura e Funzione dell'Apparato Lacrimale nel Cane	18
<i>1.1.1 Strato Lipidico del Film Lacrimale</i>	19
<i>1.1.2 Strato Acquoso del Film Lacrimale</i>	20
<i>1.1.3 Strato Mucoso del Film Lacrimale</i>	21
<i>1.1.4 L'apparato nasolacrimale</i>	22
1.2 Unità Funzionale Lacrimale	24
1.3 Valutazione Quantitativa e Qualitativa del Film Lacrimale	25
<i>1.3.1 Schirmer Tear Test</i>	25
<i>1.3.2 Tear Film Breakup Time</i>	26
1.4 Lacrime ed Osmolarità	29
Capitolo 2	38
Complicanze Oftalmologiche in Anestesia Generale	38
2.1 Patogenesi delle Lesioni Corneali	40

2.2 Anestesia e Produzione Lacrimale nel Cane	42
<i>2.2.1 Anestetici inalatori</i>	42
<i>2.2.2 Oppioidi</i>	44
<i>2.2.3 Benzodiazepine</i>	45
<i>2.2.4 Agonisti dei recettori α-adrenergici</i>	46
<i>2.2.5 Fenotiazine: Acepromazina</i>	48
<i>2.2.6 Agenti dissociativi: Ketamina</i>	48
<i>2.2.7 Anestetici iniettabili</i>	48
<i>2.2.8 Anticolinergici</i>	49
2.3 Strategie Protettive per la Superficie Oculare in Anestesia	51
<i>2.3.1 Taping palpebrale</i>	51
<i>2.3.2 Lubrificanti Oculari</i>	52
<i>2.3.3 Gelliperm</i>	53
<i>2.3.4 Bio-Occlusive Dressing</i>	54
Capitolo 3	63
Lubrificanti Oculari	63
3.1 Tipologia e Ruolo dei costituenti dei Sostituti Lacrimali	65

3.2 Formulazioni senza Conservanti Vs Formulazioni con Conservanti	69
3.3 Sostituti Lacrimali nel Cane: in Anestesia, in corso di Lesioni Corneali e Cheratocongiuntivite Secca.	70
Capitolo 4	79
Pilocarpina	79
4.1 Gli effetti della Pilocarpina sull'Occhio nel Cane	82
Capitolo 5	86
Parte sperimentale	86
5.1 Lesioni Corneali e Valutazione Quali-quantitativa del Film Lacrimale del Cane in corso di Anestesia Generale: confronto tra due Trattamenti Topici di Protezione Corneale	87
5.2 Materiali e metodi	89
<i>5.2.1 Animali</i>	89
<i>5.2.2 Esame oftalmologico</i>	89
<i>5.2.3 Trattamento e Protocollo di Studio</i>	90
<i>5.2.4 Analisi Statistica</i>	93
5.3 Risultati	94
5.4 Discussione	102
5.5 Conclusioni	111

Lista delle abbreviazioni

AAHA	American Animal Hospital Association
BAK	benzalconio cloruro
BUT	Breakup Time
CMC	carbossimetilcellulosa
FLP	Film Lacrimale Precorneale
GA	General Anesthesia
HA	Acido Ialuronico
IOP	Pressione intraoculare
KCS	Cheratocongiuntivite Secca
OD	Occhio Destro
OS	Occhio Sinistro
OSM	Osmolarità
OVUD	Ospedale Veterinario Universitario Didattico
STT-1	Schirmer Tear Test
P	Pilocarpina

<i>Figura 1. Modello trilaminare del film lacrimale: strato mucoso adiacente all'epitelio corneale, uno spesso strato acquoso intermedio e uno strato lipidico sottile superficiale (Yañez-Soto et al., 2014).</i>	19
<i>Figura 2. Misurazione dell'osmolarità lacrimale tramite l'impiego di un osmometro TearLabTM in un cane.</i>	30
<i>Figura 3. Lesioni cutanee palpebrali in seguito all'applicazione del cerotto palpebrale in anestesia generale (Drzymalski et al., 2018).</i>	52
<i>Figura 4. Bio-occlusive dressing come protocollo protettivo per la superficie oculare (Chauhan et al., 2022).</i>	54
<i>Figura 5. Flow chart decisionale per anestesisti al fine di gestire la comparsa di abrasioni corneali perioperatorie (Lichter et al., 2015).</i>	55
<i>Figura 6. Pianta di Pilocarpus (Murube, 2005).</i>	80
<i>Figura 7- Erosione corneale localizzata nel quadrante superiore</i>	97
<i>Figura 8 - Erosione corneale estesa</i>	98
<i>Figura 9 – Erosione corneale laterale verticale occupante il segmento orizzontale superiore e centrale.</i>	98
<i>Figura 10 - Miosi.</i>	100
<i>Figura 11 – Miosi e iperemia congiuntivale</i>	100

<i>Tabella 1 - Funzioni dei diversi strati del Film Lacrimale</i>	22
<i>Tabella 2. Tear Film Breakup time nel Cane in secondi. Media $\pm$ Deviazione Standard</i>	28
<i>Tabella 3. Osmolarità del Film Lacrimale nel Cane espressa in Media $\pm$ Deviazione Standard</i>	31
<i>Tabella 4 – Diagramma di flusso decisionale dello studio clinico in esame.</i>	92
<i>Tabella 5. STT-1 (mm/min): Schirmer Tear Test-1; OS: occhio sinistro; OD: occhio destro; (mediana; range); * differenza significativa tra i gruppi P e HA con p-value < 0,05; ** differenza molto significativa con p-value < 0,001.</i>	95
<i>Tabella 6 – BUT: Break up Time; OS: occhio sinistro; OD: occhio destro; (mediana; range).</i>	95
<i>Tabella 7 - IOP: Pressione intraoculare; OS: occhio sinistro; OD: occhio destro; (mediana; range).</i>	96
<i>Tabella 8 – OSM: osmolarità del FLP; OS: occhio sinistro; OD: occhio destro; (mediana; range).</i>	96
<i>Tabella 9. Valori osmolarità del FLP del cane presenti in letteratura e nel seguente lavoro.</i>	106

Corneal Lesions and Tear Film Evaluation in Dogs in General Anesthesia for non-ophthalmic surgeries receiving two different treatments for Corneal Protection

Background: Corneal abrasions are the most common ocular complication in humans during general anesthesia (GA) for non-ophthalmic surgery. Anesthesia induced corneal lesions have also been reported in dogs (Dawson & Sanchez, 2016), cats (Madruga et al., 2023) and horses (Scarabelli et al., 2018).

Objective: To determinate the incidence of corneal lesions and evaluate the quality and production rate of the precorneal tear film in dogs receiving two different ocular treatments during general anesthesia (GA) for non-ophthalmic surgery: 0,25% hyaluronic acid lubricant drops or topical 2% pilocarpine instillation.

Study design: blinded, prospective, randomized, clinical trial.

Materials and Methods: An ophthalmological examination (slit-lamp biomicroscopy, Schirmer Tear Test-1 (STT-1), tear film BUT, fluorescein and lissamine green staining, tear osmolarity using I-Pen osmometer) was performed before preanesthetic medication in dogs undergoing elective surgery. Only dogs without a pre-existing eye disease were included in the study. Dogs were randomly allocated to receive topical ocular treatment during GA, 0,25% hyaluronic acid (GH) lubricants or 2% pilocarpine (GP). STT-1 was performed immediately after intubation (T-int) and every hour afterwards, until the end of anesthesia, just before instillation of one drop of the assigned treatment according to randomization (T-1h, T-2h). The same ophthalmologist, blind to the treatment, performed the complete ophthalmological examination after extubation (T-est) and 24 hours after surgery (T-24h).

Results: Thirty dogs (60 eyes) were enrolled in the study. STT-1 values showed an immediate decrease in both groups immediately after intubation, but group P showed a rapid increase in tear production immediately after topical administration with a significant difference between the groups at T-1h, T-2h and T-est. No statistically significant differences were observed between the two groups for the other values (BUT - IOP - OSM). There was no corneal ulceration in either group, while 11.7% of eyes presented

superficial de-epithelialization at T-test and 15% at T.24h. There were no statistically significant differences between the two groups regarding the presence of corneal abrasions.

Conclusions: The tested topical eye treatments prevent corneal ulcers. According to medical literature, several prophylactic strategies can prevent exposure keratopathy by using lubricant eye drop formulations during GA (Gixti et al., 2013). The new pilocarpine protocol tested in our study increased the tear production but did not eliminate corneal complications in GA. In our study, tear osmolarity did not change after the exposure keratopathy associated with GA.

- Dawson, C., & Sanchez, R. F. (2016). A prospective study of the prevalence of corneal surface disease in dogs receiving prophylactic topical lubrication under general anesthesia. *Veterinary Ophthalmology*, 19(2), 124–129.
- Grixti, A., Sadri, M., & Watts, M. T. (2013). Corneal protection during general anesthesia for nonocular surgery. *The Ocular Surface*, 11(2), 109–118.
- Madruza, G. M., Ribeiro, A. P., & Martins, L. R. (2023). Effect of 0.15% sodium hyaluronate on tear film breakup time in healthy anesthetized cats. *Veterinary Ophthalmology*, 26(1), 46–52. <https://doi.org/10.1111/VOP.13030>
- Scarabelli, S., Timofte, D., Malalana, F., & Bardell, D. (2018). Corneal abrasion and microbial contamination in horses following general anaesthesia for non-ocular surgery. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 45(3), 278–284. <https://doi.org/10.1016/J.VAA.2017.12.002>

Capitolo 1

Film Lacrimale

1.1 Struttura e Funzione dell'Apparato Lacrimale nel Cane

Il film lacrimale è uno strato fluido che ricopre la superficie oculare, diventando, quindi, l'interfaccia tra l'epitelio corneale e l'ambiente esterno. La produzione del film lacrimale precorneale (FLP) è affidata all'apparato lacrimale. Tale apparato presenta una componente secretrice (per la produzione del FLP) e una componente escretrice, deputata al drenaggio del FLP stesso che è continuamente rinnovato (Gelatt & Plummer, 2022). L'integrità dell'apparato lacrimale è fondamentale per il segmento anteriore del globo oculare sia per la sua funzione nel determinare una superficie oculare otticamente uniforme, sia per garantire la normale funzionalità dell'occhio e soprattutto della cornea (Gelatt & Plummer, 2022). Il FLP, infatti, fornisce comfort alla superficie oculare lubrificando la cornea e la congiuntiva; fornisce protezione meccanica e immunitaria, rimuovendo l'eventuale presenza di corpi estranei dalla cornea e dalla congiuntiva e controllando la flora microbica locale; inoltre, fornisce nutrienti e ossigeno alla cornea che è priva di vascolarizzazione.

In diverse specie, il FLP è rappresentato da un modello tradizionale trilaminare ben organizzato (Fig. 1) in cui ogni strato è prodotto da diverse strutture ghiandolari. In senso anteroposteriore si possono riconoscere lo strato lipidico, lo strato acquoso e lo strato mucoso; tali strati, inoltre, manifestano un certo livello di compenetrazione.

Secondo modelli più recenti, il FLP presenterebbe due strati: uno strato superficiale lipidico e un singolo strato di gel mucoacquoso sottostante, in cui la concentrazione di mucine risulterebbe decrescente dall'epitelio corneale verso lo strato lipidico esterno (Cher, 2008).

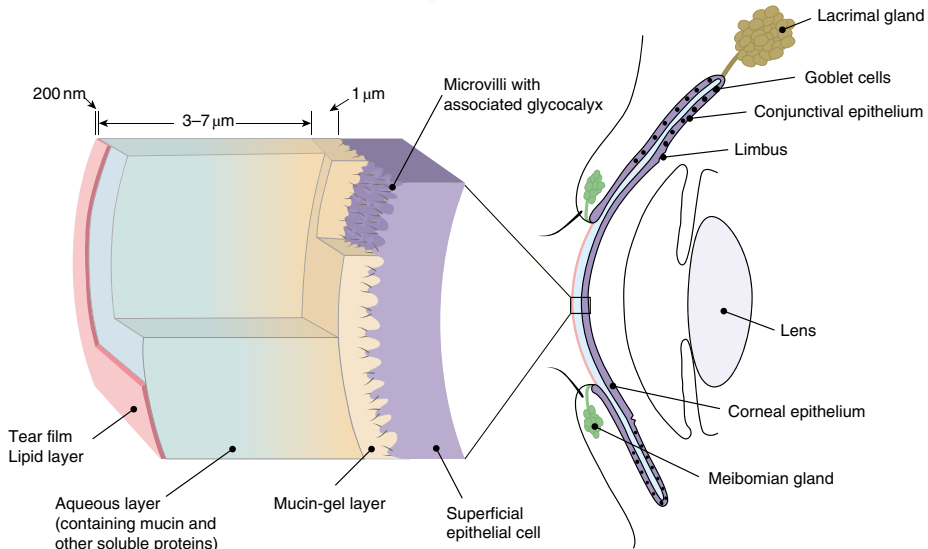


Figura 1. Modello trilaminare del film lacrimale: strato mucoso adiacente all'epitelio corneale, uno spesso strato acquoso intermedio e uno strato lipidico sottile superficiale (Yañez-Soto et al., 2014).

1.1.1 Strato Lipidico del Film Lacrimale

Lo strato più esterno lipidico è uno strato sottile ($\sim 0.1 \mu\text{m}$, valore potenzialmente dipendente anche dalle dimensioni dell'apertura palpebrale) (Barachetti et al., 2016) ed è prodotto dalle ghiandole sebacee di Zeis associate alle ciglia e dalle ghiandole di Meibomio, ghiandole tubulo-acinari olocrine, localizzate nella parte tarsale della palpebra superiore ed inferiore, il cui secreto è denominato mebo (Gelatt, 2021). La secrezione del mebo è indotta dalla compressione delle ghiandole durante l'ammiccamento (Barachetti et al., 2016): il contenuto presente nel serbatoio marginale (localizzato a livello del margine palpebrale della ghiandola di Meibomio) viene compresso in un movimento a fisarmonica durante la chiusura delle palpebre. Al momento dell'apertura palpebrale, la palpebra superiore distribuisce il mebo escreto in modo uniforme sulla superficie oculare.

I diversi composti lipidici instaurano una struttura bistratificata, comprendente un superficiale voluminoso strato lipidico idrofobico, non polare, posto al di sopra di un sottile strato lipidico anfifilico polare.

Il contenuto lipidico fornisce importanti proprietà, come la viscosità e la tensione superficiale, prevenendo l'evaporazione dello strato acquoso

sottostante e il traboccare delle lacrime dalla superficie oculare (Cwiklik, 2016).

1.1.2 Strato Acquoso del Film Lacrimale

La frazione sierosa o acquosa è la porzione intermedia più spessa (spessore circa di $\sim 7\mu\text{m}$, pari al 60% del film lacrimale), costituita per il 98% da acqua e per il restante 2% da soluti (ossigeno, urea, glucosio, elettroliti, immunoglobuline, interleuchine, lisozima, fattori della crescita, etc) (Gelatt, 2021). Nel cane la produzione dello strato sieroso è affidata per il 61,7% alla ghiandola lacrimale orbitale, per il 35,2% alla ghiandola della terza palpebra e per il 3,1% alle ghiandole congiuntivali di Kraus e Wolfring (Gelatt & Plummer, 2022). In alcuni studi, però, nel cane la presenza di queste ultime ghiandole accessorie risulterebbe controversa, formulando un'ipotesi evolutiva di una loro fusione nel tempo nell'unica ghiandola della terza palpebra (Gelatt & Gelatt, 2011; Lamagna et al., 2012). La ghiandola lacrimale principale è una ghiandola tubuloacinosa, posizionata dorso lateralmente al globo oculare, appena caudalmente al margine dell'orbita, con 15-20 dotti escretori che si aprono nel fornice congiuntivale superiore. La ghiandola della terza palpebra, invece, è situata nella sezione ventromediale dell'orbita, alla base della membrana nittitante con dotti secretori che si aprono nella congiuntiva bulbare della nittitante (Barachetti et al., 2016; Gelatt, 2021; Sebbag et al., 2019).

La parte acquosa fornisce i substrati per le richieste metaboliche della cornea avascolare (ad esempio glucosio, ossigeno, elettroliti, vitamine, fattori di crescita), rimuovendo inoltre i metaboliti di scarto (acido lattico e anidride carbonica) (Gelatt, 2021). Le mucine in esso disciolte influiscono sulla viscosità e diminuiscono la tensione superficiale (McCulley & Shine, 2004). Inoltre, sono presenti diversi elementi che contribuiscono all'attività antimicrobica e alla difesa della superficie corneale come: lattoferrina, transferrina, defensine, albumina, lisozima, lipocalina, sIgA, IgG, IgM e varie glicoproteine (Davidson & Kuonen, 2004).

La secrezione della frazione sierosa è mediata sia da neurotrasmettitori del sistema nervoso simpatico e parasimpatico (agonisti colinergici e norepinefrina) (Darlene A Dartt, 2009) che da ormoni. L'innervazione da parte del sistema nervoso simpatico e parasimpatico è responsabile della produzione lacrimale in seguito alla stimolazione meccanica, termica o chimica, o anche luminosa; gli stimoli sono rilevati dalla componente afferente sensitiva delle branche del trigemino (Kaufman & Alm, 2003). La carenza di androgeni determina una degenerazione del tessuto della

ghiandola lacrimale, riduzione del contenuto proteico delle lacrime e una riduzione del volume totale lacrimale prodotto (Sullivan et al., 2000). Al contrario, gli studi in merito agli effetti degli estrogeni su queste strutture oculari sono contraddittori: alcuni studi evidenziano un legame con l'incidenza della cheratocongiuntivite secca (KCS) mentre altri non evidenziano alcuna relazione (Sullivan et al., 1998); un'ulteriore ipotesi è che estrogeni e progesterone agiscano antagonizzando gli effetti degli androgeni (Truong et al., 2014).

1.1.3 Strato Mucoso del Film Lacrimale

Lo strato più profondo e in stretta connessione con l'epitelio corneale è rappresentato dallo strato mucoso, il cui spessore risulta $\sim 0,2 - 2 \mu\text{m}$ (Barachetti et al., 2016). La sua principale funzione consiste nell'ancorare lo strato acquoso all'epitelio sottostante, in quanto le mucine in esso presenti si legano alla superficie corneale idrofobica rendendola idrofilica (Gelatt & Gelatt, 2011)(Gelatt & Gelatt, 2011). In particolare, le mucine sono glicoproteine glicosilate di grandi dimensioni espresse dalle cellule caliciformi apocrine congiuntivali (goblet cells) e dal glicocalice associato alla cornea.

Le mucine si dividono in due principali categorie con diverse funzioni: quelle secretorie e quelle associate alla superficie. Le prime (sia formanti gel che solubili) assolvono all'eliminazione di allergeni, patogeni e detriti, alla lubrificazione della superficie oculare e presentano anche un'attività antimicrobica. Le mucine associate alla superficie, invece, si occupano dell'attività di osmosensori (percezione dei cambiamenti di salinità ambientale) e di protezione superficiale dallo stress abrasivo (De Nadal et al., 2007; Mantelli & Argüeso, 2008). La principale mucina secretoria espressa sulla superficie oculare nell'uomo e negli animali è la MUC5AC; mentre nel cane molto significativa è la presenza della mucina associata alla superficie MUC16 (Yañez-Soto et al., 2014).

La secrezione di mucina da parte delle goblet cells può essere determinata da diversi fattori: antigeni, istamina, complesso immunitario, ammiccamento, controllo nervoso diretto (recettori muscarinici e α -adrenergici sulle cellule caliciformi immature) e indiretto (innervazione sensoriale, simpatica e parasimpatica della congiuntiva e della cornea) (D A Dartt & Sullivan, 2000; Darlene A Dartt, 1994; Darlene A Dartt et al., 1995; Davidson & Kuonen, 2004).

Le diverse funzioni dei diversi strati del film lacrimale sono riassunte nella tabella seguente (Tabella 1).

Tabella 1 - Funzioni dei diversi strati del Film Lacrimale

Strato del film lacrimale	Funzione
Mucoso	eliminazione di allergeni, patogeni e detriti adesione dello strato acquoso sulla superficie oculare lubrificazione osmosensing realizzazione della stabilità lacrimale
Acquoso	formazione di gran parte del volume lacrimale attività antimicrobica fornitura di substrati metabolici alla cornea avascolare allontanamento di corpi estranei e detriti proprietà refrattive lubrificazione
Lipidico	riduzione al minimo dell'evaporazione del film lacrimale miglioramento della stabilità lacrimale ostacolo al traboccare delle lacrime limitazione alla tensione superficiale dello strato acquoso

In conclusione, nel cane il film lacrimale trilaminare presenta uno spessore di circa 7-10 μm , un volume totale lacrimale sulla superficie oculare di 65,3 μl e un pH variabile da 6,8 a 8 (media 7,5) (Barachetti et al., 2016; Sebbag et al., 2019).

È interessante sottolineare che il volume totale lacrimale del cane dipende dal peso del soggetto e non dalla conformazione cefalica (Sebbag et al., 2019).

1.1.4 L'apparato nasolacrimale

L'apparato nasolacrimale rappresenta la componente escrettrice dell'apparato lacrimale, occupandosi del drenaggio delle lacrime verso le vie nasali. Nell'apparato nasolacrimale del cane si possono distinguere i punti lacrimali superiore e inferiore congiuntivali (due piccoli orifizi ovali di circa 0,3-1 mm) ed i canalicoli lacrimali (lunghi circa 3-7 mm) che iniziano dai punti lacrimali rispettivi per incontrarsi nel sacco lacrimale (poco sviluppato rispetto ad altre specie) dal quale, infine, parte il dotto nasolacrimale (Gelatt & Gelatt, 2011). Quest'ultimo inizia nella porzione ventromediale del sacco e si porta rostralmente per aprirsi nel punto nasale

situato nel meato nasale ventrale. Il suo decorso è tortuoso nei brachicefali e la lunghezza è influenzata dalle dimensioni del cranio (Barachetti et al., 2016).

Il processo di eliminazione del film lacrimale si basa sull'evaporazione (circa il 25% del film lacrimale), sul drenaggio e sull'assorbimento. Il sistema di drenaggio tramite le vie nasolacrimali rappresenta la via principale di eliminazione. Ad ogni ammiccamento, le lacrime che si depositano per gravità lungo il margine palpebrale ventrale vengono spinte nei punti lacrimali (circa il 60% è drenato dal punto lacrimale inferiore) (Barachetti et al., 2016).

L'evaporazione del film lacrimale, invece, può essere condizionata da alcuni fattori ambientali come l'umidità, la temperatura e i movimenti dell'aria (Borchman et al., 2009).

1.2 Unità Funzionale Lacrimale

La superficie oculare è rappresentata dalla cornea, dalla congiuntiva e dal film lacrimale; affinché tale struttura si preservi, palpebre, terza palpebra e unità funzionale lacrimale devono essere efficaci ed integre.

L'unità funzionale lacrimale è costituita dall'apparato lacrimale precedentemente descritto, e dal sistema integrato neuro-muscolare che coordina i riflessi e i movimenti oculari (Stern et al., 2004). Il mantenimento di un corretto turn over lacrimale basale risulta fondamentale per garantire l'integrità dell'unità funzionale lacrimale. Il tasso del turn over basale nel cane è del 12,2%, con un tempo di ~6–8 min affinché il film lacrimale venga interamente sostituito (Sebbag et al., 2019), con un tasso di ammiccamento basale di 14,2 ammiccamenti/min (circa un ammiccamento ogni 4-7secondi) (Carrington et al., 1987). La produzione lacrimale e l'ammiccamento sono innescati da nervi efferenti che proiettano informazioni provenienti dal sistema nervoso centrale (compreso il tronco encefalico e la corteccia cerebrale) stabilite dalle informazioni afferenti che iniziano dalla cornea.

Un'anomalia in un settore dell'unità funzionale lacrimale determina un'alterazione del film lacrimale che perde la sua stabilità e la sua capacità di protezione per la superficie oculare, attivando una risposta immunitaria con produzione di citochine, chemochine e proteasi (tempesta di citochine) (Pflugfelder & Stern, 2020).

Il FLP e gli epitelio di cornea e congiuntiva risultano tra loro interconnessi: l'alterazione di un settore comporta l'alterazione degli equilibri presenti sulla superficie oculare innescando una riduzione delle difese di quest'ultima e un quadro clinico di "occhio secco".

1.3 Valutazione Quantitativa e Qualitativa del Film Lacrimale

La valutazione del FLP è un elemento fondamentale durante la visita oftalmologica nel cane. In medicina veterinaria, la valutazione quantitativa del film lacrimale è affidata principalmente all'esecuzione dello Schirmer Tear Test (STT), mentre il Tear Breakup Time (BUT) fornisce informazioni sulla qualità del FLP stesso (Grahn & Storey, 2004).

1.3.1 Schirmer Tear Test

Lo Schirmer Tear Test è il test più comune per la valutazione della frazione acquosa del film lacrimale nel cane. Lo STT-1, eseguito senza anestetico topico, permette una valutazione della produzione lacrimale riflessa e basale; mentre lo STT-2 misura la sola produzione lacrimale basale, in quanto prevede l'impiego di un anestetico locale topico, avendo cura, prima di effettuare la misurazione, di asciugare il fornice congiuntivale dall'eventuale eccesso di soluzione anestetica (Gelatt, 2021). Le strisce di carta bibula millimetrata sono conservate in confezioni sterili di plastica e dovrebbero essere ripiegate all'interno della confezione (per evitare che la contaminazione delle mani possano interferire con la lettura).

L'esecuzione del test consiste nell'inserire la striscia nel fornice congiuntivale inferiore, a livello mediolaterale, lontano dalla terza palpebra. Per evitare che la striscia sia rimossa anticipatamente e per minimizzare la variabilità è opportuno tenere chiuso l'occhio del paziente.

La quantità di striscia bagnata viene misurata dopo un minuto dall'applicazione ed il valore ottenuto è espresso in mm/min (Gelatt, 2021). Nel cane valori normali sono da $18,89 \pm 2,62$ a $21,7 \pm 4,9$ mm/min (Iwashita et al., 2023); valori inferiori a 5 mm/min sono diagnostici di cheratocongiuntivite secca (KCS), valori di 5-10 mm/min inducono il sospetto di KCS, mentre valori di 10-15 mm/min possono essere ascrivibili a KCS se è presente una sintomatologia che possa giustificare la patologia (Gelatt, 2021).

Diversi fattori possono influenzare il valore di STT-1:

- la posizione della striscetta nell'occhio (STT-1 maggiore se posizionato nel fornice congiuntivale ventrale) (Visser et al., 2017),
- la conformazione del cranio (sensibilità corneale e secrezione acquosa sono inferiori nei cani brachicefalici) (Bolzanni et al., 2020),
- l'età (STT-1 diminuisce all'aumentare dell'età) (Hartley et al., 2006),

- il peso corporeo (valori più alti di STT-1 all'aumentare del peso, anche se i cani di piccola taglia hanno capacità di lacrimazione riflessa maggiore rispetto ai cani di grossa taglia) (Berger & King, 1998),
- il ritmo circadiano (valori più alti di STT-1 nelle ore notturne) (Giannetto et al., 2009),
- le condizioni ambientali di umidità e temperatura (all'aumentare dell'umidità aumentano i valori di STT-1) (Yoon et al., 2020),
- la presenza di endocrinopatie (riduzione della produzione lacrimale in corso di diabete, ipotiroidismo, iperadrenocorticismo) (Good et al., 2003; D L Williams et al., 2007),
- chirurgie oftalmiche (riduzione dei valori di STT-1 o della sensibilità corneale) (Saito et al., 2001; Sebbag et al., 2020),
- farmaci anestetici e parasimpaticolitici (Doering et al., 2016; Ludders & Heavner, 1979) (riduzione dei valori di STT-1)
- l'ospedalizzazione in terapia intensiva (riduzione dei valori di STT-1) (Chandler et al., 2013).

La manipolazione eccessiva delle palpebre, l'anestesia locale e l'esposizione ad altri farmaci topici e sistemici (atropina) possono influenzare il risultato per cui vanno evitate prima del test. Cani femmine sterilizzate tendono a registrare valori più bassi di STT-1 (Hartley et al., 2006) e si ipotizza che la sterilizzazione potrebbe predisporre allo sviluppo di KCS in età avanzata (Kaswan et al., 1991).

I valori normali di STT-2 nei cani variano da $6,2 \pm 3,1$ a $14,9 \pm 4,1$ mm/min (Iwashita et al., 2023), registrando valori inferiori nei cani brachicefalici rispetto ai non-brachicefalici (Bolzanni et al., 2020).

1.3.2 Tear Film Breakup Time

Il test del Tear Breakup Time, abbreviato come BUT o TBUT, è un test qualitativo atto a stimare la stabilità del FLP (Gelatt, 2021), si effettua instillando la fluoresceina nel sacco congiuntivale, consentendo all'animale di ammiccare prima e successivamente mantenendo le palpebre aperte fino a quando il film lacrimale non inizia a rompersi. Quindi il BUT rappresenta il tempo impiegato (espresso in secondi) dal film lacrimale ad evaporare dalla superficie oculare, valutando la formazione di spot scuri sulla superficie lacrimale colorata dalla fluoresceina tramite l'uso di una lampada a fessura con una luce con filtro blu cobalto.

Il BUT è una misura indiretta della mucina e/o dei componenti lipidici del FLP; per tale motivo un'alterazione di tali componenti può determinare una

modifica dei valori del BUT (Cullen et al., 2005; Moore, 1990). Sta di fatto che la misurazione del BUT appare molto soggettiva con scarsa/moderata ripetibilità tra osservatori diversi e nello stesso osservatore (Seyer et al., 2021).

Infatti, diversi fattori possono influenzare la lettura del BUT:

- *la soluzione di fluoresceina e la quantità somministrata.* Nello studio di Seyer et al. (Seyer et al., 2021) la soluzione era somministrata direttamente con la striscia di fluoresceina bagnata con 0,3 ml di soluzione fisiologica e applicata direttamente sulla congiuntiva bulbare dorsale. In un altro studio invece, la striscia di fluoresceina veniva diluita con 0,3 ml di soluzione fisiologica in siringa (Faghihi & Rajaei, 2023). Arnold et al. nel 2014 invece utilizzarono una soluzione molto più diluita (striscetta di fluoresceina diluita in siringa con 1 ml di soluzione fisiologica) (Arnold et al., 2014). Inoltre, è stata evidenziata una correlazione direttamente proporzionale tra il volume somministrato per il test e il valore del BUT (all'aumentare del volume il BUT si allunga) (Johnson & Murphy, 2005). Nel cane, si suggerisce di applicare una o due gocce di soluzione per rendere il test maggiormente ripetibile (Palmer et al., 2021)
- *L'esperienza dell'osservatore.* Un osservatore meno esperto può registrare BUT più rapidi di un osservatore più esperto (Seyer et al., 2021).
- *L'umidità e la temperatura ambientale.* In uno studio svolto in medicina umana, gli autori hanno dimostrato che le misurazioni del BUT erano correlate positivamente con l'umidità, stabilendo che un ambiente umido a lungo termine può essere favorevole per pazienti affetti da KCS (Berg et al., 2020).

Uno studio ha evidenziato che non c'è correlazione statisticamente significativa nel cane tra valori di BUT ed età, sesso, stato riproduttivo; ma gli autori evidenziarono una correlazione negativa tra BUT e morfologia del cranio (i brachicefali presentarono BUT più rapidi) e un aumento compensatorio del valore dello STT-1 in cani con BUT più basso (Faghihi & Rajaei, 2023). Invece, Sebbag, L. et al. hanno dimostrato una correlazione negativa tra l'età e i valori di BUT nella popolazione di cani di razza Shih Tzu esaminata (Sebbag et al., 2023).

In definitiva i valori di BUT nel cane presenti in letteratura sono molto variabili e sono espressi nella tabella seguente (Tabella 2).

Tabella 2. Tear Film Breakup time nel Cane in secondi. Media $\pm$ Deviazione Standard

Tear Film Break up Time nel Cane						
	tutte le razze		razze brachicefaliche		razze non-brachicefaliche	
	OD	OS	OD	OS	OD	OS
Faghihi et al.	6,5 $\pm$ 2,5	6,1 $\pm$ 2,3	6 $\pm$ 2	5,4 $\pm$ 1,9	7,6 $\pm$ 2,9	7,1 $\pm$ 2,7
			razze brachicefaliche			
Sebbag et al.			5,3 $\pm$ 2,4			
			razze brachicefaliche			
Arnold et al.			8,45 $\pm$ 3,65 / 10,77 $\pm$ 3,52			
					razze non-brachicefaliche	
Saito et al.					21 $\pm$ 7,42	
Moore	19 $\pm$ 5					
Featherstone et al.	14,7 - 28,9					
Seyer et al.	5,9 - 8,6					

OD, occhio destro; OS, occhio sinistro

1.4 Lacrime ed Osmolarità

L'osmolarità del film lacrimale rappresenta la concentrazione di cationi (sodio, calcio, magnesio, potassio, rame, ferro) e anioni (bicarbonati, cloruri, fosfati) disciolti nella frazione acquosa del FLP (Murube, 2006) ed è espressa come numero di osmoli di soluto per litro di soluzione (mOsm/L). La misurazione dell'osmolarità del FLP fornisce in modo indiretto informazioni dell'equilibrio nella dinamica del film lacrimale tra produzione e drenaggio/evaporazione (Tomlinson et al., 2006); per tale motivo, un'instabilità del FLP comporta una condizione di iperosmolarità lacrimale locale o diffusa nell'uomo (Li et al., 2004). L'ambiente iperosmolare del FLP provoca una cascata infiammatoria, caratterizzata: dalla produzione di una "tempesta" di citochine infiammatorie (IL-1a, IL-1b, TNF) da parte delle cellule epiteliali della superficie oculare (Li et al., 2004); dall'attivazione delle cellule infiammatorie oculari e da processi di apoptosi cellulare nell'epitelio corneale e congiuntivale (comprese le goblet cells) (Yeh et al., 2003).

È ormai riconosciuto in diverse specie (incluso il cane) che l'iperosmolarità ricopre un ruolo chiave nei processi di patogenesi della sindrome dell'occhio secco (Gilbard & Rossi, 1990; Jacobi et al., 2011; J. Park et al., 2021; D L Williams & Buckingham, 2017). La misurazione dell'osmolarità lacrimale è un dato importante per la diagnosi dell'occhio secco negli esseri umani (Craig et al., 2017), ma non rappresenta ancora un esame diagnostico routinario in medicina veterinaria. Fino a poco tempo fa, la misurazione dell'osmolarità lacrimale era affidata a test in vitro sofisticati e costosi basati sulla tecnologia della depressione del punto di congelamento o su osmometri a tensione di vapore, utilizzando campioni cospicui di film lacrimale (0,2mL) (Bron et al., 2002; Pensyl & Benjamin, 1999).

Attualmente sul mercato sono presenti due osmometri lacrimali portatili (TearLabTMosmometer, TearLab Corp; I-Pen® Vet osmometry system, I-MED Pharma inc.) che misurano l'osmolarità tramite la spettroscopia di impedenza elettrica, permettendone un facile e accessibile impiego durante la valutazione clinica del paziente (Brito et al., 2022; Sebbag et al., 2017) e utilizzando un campione notevolmente più esiguo di film lacrimale (50nL (TearLabTM, 2008)). In particolare, il dispositivo TearLab® misura l'impedenza del liquido lacrimale standardizzata in base alla temperatura (Stahl et al., 2012). L'I-PEN® misura l'osmolarità del film lacrimale tramite l'impedenza elettrica del tessuto oculare sulla membrana congiuntivale palpebrale.



Figura 2. Misurazione dell'osmolarità lacrimale tramite l'impiego di un osmometro TearLabTM in un cane.

Williams et al. nel 2017 hanno valutato l'utilizzo del TearLabTMosmometer in 100 cani confrontando i risultati delle misurazioni ottenute con i valori dello STT-1. La popolazione dello studio era rappresentata da cani sani e cani affetti da KCS (STT < 15 mm/min). L'osmolarità lacrimale era significativamente più alta negli occhi con KCS (350 ± 27 mOsm) rispetto agli occhi normali (339 ± 23 mOsm). I pazienti brachicefalici con STT-1 normali presentavano un'osmolarità lacrimale maggiore rispetto ai pazienti dolicocefali e mesocefali in modo statisticamente significativo; secondo gli autori tale differenza era legata al maggior tasso di evaporazione del FLP nelle razze brachicefaliche (D L Williams & Buckingham, 2017).

Sebbag et al. nel 2017, invece, stabilirono che l'osmolarità del film lacrimale risultava significativamente inferiore (306,2 mOsm/L) nei cani con KCS rispetto a cani con una superficie oculare sana (337,4 mOsm/L) in un campione di 11 beagle (6 sani, 5 con KCS) tramite l'impiego di TearLabTMosmometer (Sebbag et al., 2017); questo risultato risultava in netto contrasto con la letteratura in medicina umana (Craig et al., 2017) e gli autori spiegarono tali valori connessi alla variabilità dello strumento o al campionamento lacrimale improprio.

Tali dispositivi si basano sull'introduzione a livello del sacco congiuntivale di un sensore monouso per la misurazione dell'impedenza elettrica, che potrebbe potenzialmente stimolare una lacrimazione riflessa e alterare la lettura dell'osmolarità lacrimale. Uno studio recente ha confrontato proprio

tale aspetto, dimostrando che nessuna differenza statisticamente significativa era stata registrata confrontando l'osmolarità delle lacrime basali e quelle riflesse nei cani con una superficie oculare normale (Lamkin et al., 2020). L'osmolarità in questo studio era stata misurata tramite il dispositivo portatile I-Pen osmometer con valori basali registrati di $317,45 \pm 16,16$ mOsm/L e riflessi di $318,55 \pm 20,82$ mOsm/L in pazienti sani (Lamkin et al., 2020). Tale osmometro era stato utilizzato anche in un altro studio per valutare l'osmolarità del film lacrimale in 82 cani di razza Shih-Tzu e Carlino affetti e non affetti da KCS.

I risultati rilevarono differenze tra i cani affetti da KCS e cani sani sia in merito ai valori di osmolarità ($353,02 \pm 16,58$ mOsm/l vs $315,27 \pm 6,15$ mOsm/l, rispettivamente) e che di STT-1 ($4,46 \pm 1,74$ mm/min vs $18,8 \pm 2,02$ mm/min) (Brito et al., 2022).

I due dispositivi osmometri portatili sono stati posti a confronto nella stessa popolazione di cani senza alcuna patologia oculare nello studio di Kim et al. del 2023 (Kim & Kim, 2023). Secondo tale studio, l'osmolarità del film lacrimale misurata utilizzando TearLab ($340,42 \pm 15,87$ mOsm/l; range: 307-383 mOsm/l) tendeva a fornire valori superiori rispetto a quelli ottenuti con l'impiego di I-Pen Vet ($321,58 \pm 17,39$ mOsm/l; range: 273-360 mOsm/l), senza evidenziare alcuna differenza statisticamente significativa in materia di sensibilità tra i due osmometri.

In definitiva, i diversi studi hanno fornito i valori di osmolarità del film lacrimale in cani con superficie oculare sana e in corso di KCS tramite l'uso dei due diversi osmometri utilizzabili nella pratica clinica (Tabella 3).

Tabella 3. Osmolarità del Film Lacrimale nel Cane espressa in Media $\pm$ Deviazione Standard

	Osmolarità Film Lacrimale nel Cane (mOsm/l)			
	pazienti sani		pazienti KCS	
	TearLab	I-PEN Vet	TearLab	I-PEN Vet
Sebbag 2017	$337,4 \pm 16,2$		$306,2 \pm 18$	
Williams 2017	339 ± 23		350 ± 27	
Lamkin2020	$318,55 \pm 15,87$		$321,58 \pm 17,39$	
Brito 2022	$315,27 \pm 6,15$		$353,02 \pm 16,58$	
Kim 2023	$340,42 \pm 15,87$	$321,58 \pm 17,39$		

- Arnold, T. S., Wittenburg, L. A., & Powell, C. C. (2014). Effect of topical naltrexone 0.3% on corneal sensitivity and tear parameters in normal brachycephalic dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 17(5), 328–333.
- Barachetti, L., Guandalini, A., Multari, D., & Sapienza, J. (2016). *Oftalmologia veterinaria*.
- Berg, E. J., Ying, G. S., Maguire, M. G., Sheffield, P. E., Szczotka-Flynn, L. B., Asbell, P. A., & Shen, J. F. (2020). Climatic and environmental correlates of dry eye disease severity: A report from the dry eye assessment and management (dream) study. *Translational Vision Science and Technology*, 9(5), 1–11.
<https://doi.org/10.1167/TVST.9.5.25>
- Berger, S. L., & King, V. L. (1998). The fluctuation of tear production in the dog. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 34(1), 79–83.
- Bolzanni, H., Oriá, A. P., Raposo, A. C. S., & Sebbag, L. (2020). Aqueous tear assessment in dogs: impact of cephalic conformation, inter-test correlations, and test-retest repeatability. *Veterinary Ophthalmology*, 23(3), 534–543.
- Borchman, D., Foulks, G. N., Yappert, M. C., Mathews, J., Leake, K., & Bell, J. (2009). Factors affecting evaporation rates of tear film components measured in vitro. *Eye & Contact Lens*, 35(1), 32–37.
- Brito, F. L. da C., Voitená, J. N., Marinho, T. O. C., Moore, B. A., & Montiani-Ferreira, F. (2022). Assessment of tear film osmolarity using the IPen® Vet osmometer in Pug and Shih-Tzu dogs with and without keratoconjunctivitis sicca. *Veterinary Ophthalmology*, 25(3), 219–224.
- Bron, A. J., Tiffany, J. M., Yokoi, N., & Gouveia, S. M. (2002). Dry Eye Syndromes: Diagnosis, Clinical Trials and Pharmaceutical Treatment-153 Using Osmolarity to Diagnose Dry Eye: A Compartmental Hypothesis and a Review of Our Assumptions. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 506, 1087–1096.
- Carrington, S. D., Bedford, P. G. C., Guillon, J. -P., & Woodward, E. G. (1987). Polarized light biomicroscopic observations on the pre-corneal tear film. 1. The normal tear film of the dog. *Journal of Small Animal Practice*, 28(7), 605–622. <https://doi.org/10.1111/J.1748-5827.1987.TB01276.X>
- Chandler, J. A., van der Woerd, A., Prittie, J. E., & Chang, L. (2013). Preliminary evaluation of tear production in dogs hospitalized in an intensive care unit. *Journal of Veterinary Emergency and Critical*

- Care*, 23(3), 274–279.
- Cher, I. (2008). A New Look at Lubrication of the Ocular Surface: Fluid Mechanics Behind the Blinking Eyelids. *The Ocular Surface*, 6(2), 79–86. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1542-0124\(12\)70271-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1542-0124(12)70271-9)
- Craig, J. P., Nichols, K. K., Akpek, E. K., Caffery, B., Dua, H. S., Joo, C.-K., Liu, Z., Nelson, J. D., Nichols, J. J., & Tsubota, K. (2017). TFOS DEWS II definition and classification report. *The Ocular Surface*, 15(3), 276–283.
- Cullen, C. L., Lim, C., & Sykes, J. (2005). Tear film breakup times in young healthy cats before and after anesthesia. *Veterinary Ophthalmology*, 8(3), 159–165. <https://doi.org/10.1111/J.1463-5224.2005.00347.X>
- Cwiklik, L. (2016). Tear film lipid layer: A molecular level view. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1858(10), 2421–2430.
- Dartt, D A, & Sullivan, D. A. (2000). Wetting of the ocular surface. *Principles and Practice of Ophthalmology. 2nd Ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Company*, 2, 960–981.
- Dartt, Darlene A. (1994). Regulation of tear secretion. *Lacrimal Gland, Tear Film, and Dry Eye Syndromes: Basic Science and Clinical Relevance*, 1–9.
- Dartt, Darlene A. (2009). Neural regulation of lacrimal gland secretory processes: relevance in dry eye diseases. *Progress in Retinal and Eye Research*, 28(3), 155–177.
- Dartt, Darlene A, McCarthy, D. M., Mercer, H. J., Kessler, T. L., Chung, E.-H., & Zieske, J. D. (1995). Localization of nerves adjacent to goblet cells in rat conjunctiva. *Current Eye Research*, 14(11), 993–1000.
- Davidson, H. J., & Kuonen, V. J. (2004). The tear film and ocular mucins. *Veterinary Ophthalmology*, 7(2), 71–77.
- De Nadal, E., Real, F. X., & Posas, F. (2007). Mucins, osmosensors in eukaryotic cells? *Trends in Cell Biology*, 17(12), 571–574.
- Doering, C. J., Lukasik, V. M., & Merideth, R. E. (2016). Effects of intramuscular injection of glycopyrrolate on Schirmer tear test I results in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 248(11), 1262–1266.
- Faghihi, H., & Rajaei, S. M. (2023). Tear film breakup time and Schirmer tear test in normal dogs: effects of age, sex, reproductive status, skull

- type, and nasolacrimal duct patency. *Veterinary Ophthalmology*, 26, 72–80.
- Gelatt, K. N. (2021). *Veterinary ophthalmology* (6th ed.). Wiley-Blackwell. <https://www.wiley.com/en-fr/Veterinary+Ophthalmology%2C+2+Volume+Set%2C+6th+Edition-p-9781119441830>
- Gelatt, K. N., & Gelatt, J. P. (2011). Surgery of nasolacrimal apparatus and tear systems. *Veterinary Ophthalmic Surgery. Oxford: Elsevier/Saunders*, 141–156.
- Gelatt, K. N., & Plummer, C. E. (2022). Essentials of Veterinary Ophthalmology. In *Essentials of Veterinary Ophthalmology* (4th ed.).
- Giannetto, C., Piccione, G., & Giudice, E. (2009). Daytime profile of the intraocular pressure and tear production in normal dog. *Veterinary Ophthalmology*, 12(5), 302–305.
- Gilbard, J. P., & Rossi, S. R. (1990). Tear Film and Ocular Surface Changes in a Rabbit Model of Neurotrophic Keratitis. *Ophthalmology*, 97(3), 308–312. [https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(90\)32587-3](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(90)32587-3)
- Good, K. L., Maggs, D. J., Hollingsworth, S. R., Scagliotti, R. H., & Nelson, R. W. (2003). Corneal sensitivity in dogs with diabetes mellitus. *American Journal of Veterinary Research*, 64(1), 7–11.
- Grahn, B. H., & Storey, E. S. (2004). Lacrimostimulants and lacrimomimetics. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 34(3), 739–753.
- Hartley, C., Williams, D. L., & Adams, V. J. (2006). Effect of age, gender, weight, and time of day on tear production in normal dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 9(1), 53–57.
- Iwashita, H., Sebbag, L., Leonard, B. C., & Saito, A. (2023). A review of diagnostic tests for qualitative and quantitative tear film deficiency in dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 26, 5–15.
- Jacobi, C., Jacobi, A., Kruse, F. E., & Cursiefen, C. (2011). Tear film osmolarity measurements in dry eye disease using electrical impedance technology. *Cornea*, 30(12), 1289–1292.
- Johnson, M. E., & Murphy, P. J. (2005). The effect of instilled fluorescein solution volume on the values and repeatability of TBUT measurements. *Cornea*, 24(7), 811–817. <https://doi.org/10.1097/01.ico.0000154378.67495.40>
- Kaswan, R., Salisbury, M., & Lothrop, C. (1991). Interaction of age and gender on occurrence of canine keratoconjunctivitis sicca. *Prog Vet*

- Comp Ophthalmol*, 93–97.
- Kaufman, P. L., & Alm, A. (2003). *Adler's Physiology of the Eye*. Mosby Inc.
- Kim, H., & Kim, J. (2023). Randomized comparison of in vivo performance of TearLab® and I-PEN® osmometry in normal dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 26(5), 440–445.
- Lamagna, B., Peruccio, C., Guardascione, A., Paciello, O., Costagliola, A., Giudice, C., Rondena, M., Saccone, M., Uccello, V., & Lamagna, F. (2012). Conjunctival dacryops in two golden retrievers. *Veterinary Ophthalmology*, 15(3), 194–199.
- Lamkin, I. D., Zimmerman, K. L., Smith Fleming, K. M., & Martins, B. C. (2020). Osmolarity of basal and reflex tears of normal dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 23(4), 747–753.
- Li, D. Q., Chen, Z., Song, X. J., Luo, L., & Pflugfelder, S. C. (2004). Stimulation of Matrix Metalloproteinases by Hyperosmolarity via a JNK Pathway in Human Corneal Epithelial Cells. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 45(12), 4302–4311. <https://doi.org/10.1167/IOVS.04-0299>
- Ludders, J. W., & Heavner, J. E. (1979). Effect of atropine on tear formation in anesthetized dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 175(6), 585–586.
- Mantelli, F., & Argüeso, P. (2008). Functions of ocular surface mucins in health and disease. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 8(5), 477.
- McCulley, J. P., & Shine, W. E. (2004). The lipid layer of tears: dependent on meibomian gland function. *Experimental Eye Research*, 78(3), 361–365.
- Moore, C. P. (1990). Qualitative Tear Film Disease. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 20(3), 565–581. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(90\)50071-6](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(90)50071-6)
- Murube, J. (2006). Tear osmolarity. *Ocular Surface*, 4(2), 62–73. [https://doi.org/10.1016/S1542-0124\(12\)70028-9](https://doi.org/10.1016/S1542-0124(12)70028-9)
- Palmer, S., Ramos, R. V., & Rodriguez Galarza, R. M. (2021). Clinical comparison of tear film breakup time measurements in normal dogs using three different methods of fluorescein solution administration. *Wiley Online LibraryS Palmer, RV Ramos, RM Rodriguez GalarzaVeterinary Ophthalmology, 2021•Wiley Online Library*, 24(5), 503–508. <https://doi.org/10.1111/vop.12933>
- Park, J., Choi, Y., Han, G., Shin, E., Han, J., Chung, T.-Y., & Lim, D. H.

- (2021). Evaluation of tear osmolarity measured by I-Pen osmolarity system in patients with dry eye. *Scientific Reports*, 11(1), 7726.
- Pensyl, C. D., & Benjamin, W. J. (1999). Vapor pressure osmometry: minimum sample microvolumes. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*, 77(1), 27–30.
- Pflugfelder, S. C., & Stern, M. E. (2020). Biological functions of tear film. *Experimental Eye Research*, 197, 108115.
- Saito, A., Izumisawa, Y., Yamashita, K., & Kotani, T. (2001). The effect of third eyelid gland removal on the ocular surface of dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 4(1), 13–18.
- Sebbag, L., Allbaugh, R. A., Wehrman, R. F., Uhl, L. K., Ben-Shlomo, G., Chen, T., & Mochel, J. P. (2019). Fluorophotometric assessment of tear volume and turnover rate in healthy dogs and cats. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 35(9), 497–502.
- Sebbag, L., Crabtree, E. E., Sapienza, J. S., Kim, K., & Rodriguez, E. (2020). Corneal hypoesthesia, aqueous tear deficiency, and neurotrophic keratopathy following micropulse transscleral cyclophotocoagulation in dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 23(1), 171–180.
- Sebbag, L., Park, S. A., Kass, P. H., Maggs, D. J., Attar, M., & Murphy, C. J. (2017). Assessment of tear film osmolarity using the TearLab™ osmometer in normal dogs and dogs with keratoconjunctivitis sicca. *Veterinary Ophthalmology*, 20(4), 357–364.
- Sebbag, L., Paula, A., Silva, S. M., Alex, |, Santos, P. B., Cláudia, A., Raposo, S., & Oriá, A. P. (2023). An eye on the Shih Tzu dog: Ophthalmic examination findings and ocular surface diagnostics. *Wiley Online Library* L Sebbag, APSM Silva, ÁPB Santos, ACS Raposo, AP Oriá *Veterinary Ophthalmology*, 2023•Wiley Online Library, 26(S1), 59–71. <https://doi.org/10.1111/vop.13022>
- Seyer, L. D., Wills, R. W., & Betbeze, C. M. (2021). Investigation of fluorescein stain–based tear film breakup time test reliability in dogs in a clinical setting. *American Journal of Veterinary Research*, 82(12), 1019–1025. <https://doi.org/10.2460/AJVR.21.01.0002>
- Stahl, U., Willcox, M., & Stapleton, F. (2012). Osmolality and tear film dynamics. *Clinical and Experimental Optometry*, 95(1), 3–11.
- Stern, M. E., Gao, J., Siemasko, K. F., Beuerman, R. W., & Pflugfelder, S. C. (2004). The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. *Experimental Eye Research*, 78(3), 409–416.

- Sullivan, D. A., Sullivan, B. D., Ullman, M. D., Rocha, E. M., Krenzer, K. L., Cermak, J. M., Toda, I., Doane, M. G., Evans, J. E., & Wickham, L. A. (2000). Androgen influence on the meibomian gland. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 41(12), 3732–3742.
- Sullivan, D. A., Wickham, L. A., Rocha, E. M., Kelleher, R. S., da Silveira, L. A., & Toda, I. (1998). Influence of gender, sex steroid hormones, and the hypothalamic-pituitary axis on the structure and function of the lacrimal gland. *Lacrimal Gland, Tear Film, and Dry Eye Syndromes 2: Basic Science and Clinical Relevance*, 11–42.
- Tomlinson, A., Khanal, S., Ramaesh, K., Diaper, C., & McFadyen, A. (2006). Tear film osmolarity: Determination of a referent for dry eye diagnosis. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 47(10), 4309–4315. <https://doi.org/10.1167/iovs.05-1504>
- Truong, S., Cole, N., Stapleton, F., & Golebiowski, B. (2014). Sex hormones and the dry eye. *Clinical and Experimental Optometry*, 97(4), 324–336.
- Visser, H. E., Tofflemire, K. L., Love-Myers, K. R., Allbaugh, R. A., Ellinwood, N. M., Dees, D. D., Ben-Shlomo, G., & Whitley, R. D. (2017). Schirmer tear test I in dogs: results comparing placement in the ventral vs. dorsal conjunctival fornix. *Veterinary Ophthalmology*, 20(6), 522–525.
- Williams, D. L., & Buckingham, A. (2017). Measurement of tear osmolarity in the canine eye: a new diagnostic tool for canine keratoconjunctivitis sicca. *J Vet Sci*, 3, 8–12.
- Williams, D. L., Pierce, V., Mellor, P., & Heath, M. F. (2007). Reduced tear production in three canine endocrinopathies. *Journal of Small Animal Practice*, 48(5), 252–256.
- Yañez-Soto, B., Mannis, M. J., Schwab, I. R., Li, J. Y., Leonard, B. C., Abbott, N. L., & Murphy, C. J. (2014). Interfacial phenomena and the ocular surface. *The Ocular Surface*, 12(3), 178–201.
- Yeh, S., Song, X. J., Farley, W., Li, D. Q., Stern, M. E., & Pflugfelder, S. C. (2003). Apoptosis of Ocular Surface Cells in Experimentally Induced Dry Eye. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 44(1), 124–129. <https://doi.org/10.1167/IOVS.02-0581>
- Yoon, A., Liu, C., Carter, R. T., & Lewin, A. C. (2020). Environmental relative humidity affects Schirmer tear test results in normal dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 23(5), 923–926.

Capitolo 2

Complicanze Oftalmologiche in Anestesia Generale

Le complicanze oculari perioperatorie per procedure chirurgiche non-oculari sono eventi avversi poco frequenti. Tali complicanze possono oscillare da lievi lesioni dell'epitelio corneale (incidenza in umana 0,09/1000), che inducono dolore e una visione offuscata reversibile, a condizioni molto più gravi come la perdita irreversibile della vista per compromissione della retina o del nervo ottico (incidenza in umana 0,6/10000) (Roth et al., 2022; Singh et al., 2021).

In medicina umana, la perdita della vista in seguito ad anestesia generale è un evento raro, associato principalmente a chirurgie spinali (collegate, ad esempio, a compressioni esterne sul globo oculare) (American Society of Anesthesiologists Task Force on Perioperative Visual Loss, North American Neuro-Ophthalmology Society, 2019) e a chirurgie cardiache (per formazione di emboli) (Calway et al., 2017). L'incidenza di tali lesioni è pari allo 0,09% in seguito a chirurgie spinali e allo 0,03% per quelle cardiache (Shen et al., 2009).

Nel gatto sono stati descritti episodi di cecità post anestetica in seguito a procedure dentistiche. Tale evento è stato correlato alla compressione dell'arteria mascellare e alla conseguente ischemia cerebrale e retinica, dovuta all'eccessiva apertura del cavo orale (Martin-Flores et al., 2014). Tuttavia, in medicina veterinaria, non esistono ad oggi studi retrospettivi o prospettici che valutino l'incidenza di tali lesioni in corso di anestesia generale eseguiti su un numero cospicuo di casi.

Le complicanze oculari più comuni, in medicina umana, associate a procedure chirurgiche non oftalmiche sono le lesioni corneali (Moos & Lind, 2006), delle quali le abrasioni sono le più rappresentate (Grixti et al., 2013): il tasso di abrasioni corneali peri-operatorie è pari allo 0,64% (range 0,01-59%) (Papp et al., 2019). I tempi di guarigione delle abrasioni corneali perioperatorie risultano molto brevi (72 ore) ma non senza discomfort (fotofobia, dolore acuto, lacrimazione, vista offuscata) da parte del paziente nelle prime 24 ore (Malafa et al., 2016).

Anche in medicina veterinaria le abrasioni corneali costituiscono le principali complicanze oculari dell'anestesia generale nel periodo postoperatorio, in particolare nel cane, nel gatto e nel cavallo (Herring et al., 2000; Shepard et al., 2011).

2.1 Patogenesi delle Lesioni Corneali

In medicina umana, diversi fattori di rischio sono associati ad un aumento dell'incidenza delle lesioni corneali nel periodo perioperatorio. Tra i predetti fattori vi sono i seguenti: procedure chirurgiche lunghe (>3,5 ore), età avanzata, decubito prono o laterale, posizione di Trendelenburg (aumento della pressione intraoculare con conseguente edema corneale), chirurgia nei distretti di testa e collo (pressioni sul globo oculare con compressione dei vasi coroidali), formazione dell'anestesista, ipotensione intraoperatoria e anemia preoperatoria (Martin et al., 2009; Papp et al., 2019; Yu et al., 2010). In particolare, l'anestesia generale non solo sopprime importanti riflessi autonomici di difesa della cornea (come il riflesso palpebrale e corneale o il fenomeno di Bell), ma determina la presenza di lagofalmo, inducendo l'insorgenza di una cheratopatia da esposizione. Tale condizione è alimentata anche da una produzione lacrimale basale e riflessa ridotta e una instabilità del film lacrimale (Kaye et al., 2019).

La cheratopatia da esposizione è più grave quanto più è lunga l'anestesia ed espone la superficie oculare all'aggressione di detriti e *noxae*. La gravità della cheratopatia da esposizione, inoltre, è più marcata in quei pazienti con occhi maggiormente prominenti, con esoftalmo o proptosi. Anche l'applicazione di dispositivi riscaldati, come i dispositivi ad aria forzata, è connessa ad un aumento delle possibilità di secchezza oculare, determinando nel postoperatorio "dolore o sensazione di corpo estraneo nell'occhio" nel paziente (Grixti et al., 2013; Martin et al., 2009).

In base ad un report elaborato sulle richieste di risarcimento contro anestesisti in medicina umana, un quinto delle lesioni corneali sono determinate da un trauma diretto meccanico o chimico sulla superficie oculare (Gild et al., 1992). Un'applicazione involontaria di sostanze antisettiche per la preparazione del campo chirurgico può indurre un trauma chimico diretto sulla cornea, con conseguente edema e disepitelizzazione corneale. L'unico preparato antisettico cutaneo che non presenta tossicità corneale è la soluzione acquosa di iodio-povidone al 10%. Essa, pertanto, rappresenta un potenziale agente disinfettante di scelta per la preparazione del campo chirurgico nella regione perioculare (Kaye et al., 2019).

Un ulteriore insulto chimico può essere rappresentato da agenti anestetici inalatori somministrati tramite maschera facciale (alotano) e unguenti oculari contenenti conservanti (metilparaben e clorobutanolo) (Kaye et al., 2019; Moos & Lind, 2006).

I traumi meccanici, invece, possono essere determinati da maschere facciali, teli o strumenti chirurgici, dita dell'anestesista o anche il laringoscopio stesso (Kaye et al., 2019).

In medicina veterinaria, le lesioni corneali perioperatorie sono state associate in modo statisticamente significativo alla durata della procedura anestesiológica; In particolare, ovvero, nello studio di Park et al. i cani che avevano sviluppato ulcere corneali perioperatorie erano stati sottoposti ad anestesie più lunghe ($175 \pm 84,6$ min) rispetto ai cani che non presentavano ulcere corneali ($104,7 \pm 62,7$ min). Nel medesimo lavoro, sono risultati fattori di rischio significativo per l'insorgenza di ulcere corneali anche la morfologia del cranio (cani di razza brachicefalica) e gli interventi di neurochirurgia (J. Park et al., 2021).

2.2 Anestesia e Produzione Lacrimale nel Cane

Come anticipato, in corso di anestesia generale, si registra una riduzione della produzione lacrimale sia riflessa che basale (Mouney et al., 2011). L'anestesia generale, infatti, determina una riduzione dell'attività del sistema nervoso autonomo sulla ghiandola lacrimale, comportando una riduzione della produzione lacrimale (Krupin et al., 1977). Tale condizione può presentarsi in maniera transitoria, oppure può determinare una riduzione rispetto ai valori basali per diversi giorni dopo l'evento anestesilogico, soprattutto se ci sono state altre complicazioni postoperatorie (Dawson & Sanchez, 2016).

In uno studio condotto su 38 cani, Herring et al. hanno dimostrato che lo STT-1 in fase post anestetica presentava valori significativamente più bassi rispetto alle misurazioni preoperatorie (18.3 ± 2.8 mm/min occhio sinistro; 18.3 ± 3.0 mm/min occhio destro) e che la diminuzione della produzione lacrimale indotta dall'anestesia persisteva per molte ore dopo l'evento anestesilogico (6.8 mm/min a 6h, 11.7 mm/min a 12h, 15.8 mm/min a 24h) (Herring et al., 2000).

Secondo la revisione sistematica di Rauser et al. del 2022 (Raušer et al., 2022), la maggior parte dei farmaci anestetici influenza la produzione della frazione sierosa del film lacrimale nel cane, dimostrando come tali alterazioni risultino essere spesso statisticamente significative ma non clinicamente rilevanti (cambiamento clinicamente rilevante: valori di STT-1 inferiori a 10 mm/min (Miller, 2008).

I diversi protocolli anestesilogici possono influire in modo più o meno significativo sul grado di riduzione della produzione lacrimale registrata tramite la misurazione dello STT-1.

2.2.1 Anestetici inalatori

Gli anestetici inalatori riducono la produzione lacrimale in corso di anestesia generale nel cane (Shepard et al., 2011) e ciò potrebbe essere attribuito a quanto segue: sia ai loro effetti vagolitici o simpaticomimetici mediati (Picker et al., 2001); sia alla profondità anestetica da loro indotta contribuendo al blocco della funzione sensitiva afferente del trigemino e della risposta motoria efferente del nervo facciale (Acosta et al., 2004); sia al lagoftalmo in corso di anestesia generale (Kaye et al., 2019).

Alotano - Non esistono studi finalizzati a valutare i soli effetti dell'alotano sul film lacrimale; tuttavia, Ludders et al. nel 1979 osservarono gli effetti

dell'alotano sulla produzione lacrimale in cani trattati in fase preanestetica con la somministrazione sottocutanea di atropina o di soluzione fisiologica allo 0,9% (gruppo placebo). Nello studio, il gruppo placebo (no atropina) registrò valori inferiori al 20% dopo 10 minuti dall'induzione in maschera con alotano e valori prossimi allo zero ad un'ora dall'induzione dell'anestesia generale (Ludders & Heavner, 1979).

Anche nello studio di Komnenou et al. del 2013, si registrano dei valori inferiori di STT-1, in maniera statisticamente significativa, fino a due ore post anestesia in un gruppo di 39 cani premedicati con medetomidina e carprofene, indotti con propofol e mantenuti in anestesia generale con alotano. Nello studio nessun cane fu sottoposto a trattamento lubrificante oculare durante il periodo perioperatorio (Komnenou et al., 2013).

Isoflurano - L'effetto del solo isoflurano sulla produzione lacrimale del cane è stato valutato da Shepard et al. (2011), descrivendo una diminuzione clinicamente significativa durante l'anestesia generale dei valori STT-1, i quali ritornarono ai valori basali in tutti i cani dello studio (8 Beagle femmine) nella fase di risveglio (Shepard et al., 2011).

Anche quando l'isoflurano è stato somministrato a cani premedicati con diversi protocolli sono state osservate diminuzioni significative dei valori STT-1, come in cani premedicati con atropina e acepromazina e indotti con una miscela composta da ketamina e diazepam (Kovalcuka et al., 2010); oppure in cani premedicati con clorpromazina e indotti con tiopentale o propofol (Pontes et al., 2010). Nessun prodotto topico o soluzione salina è stato applicato sulla superficie oculare in entrambi i lavori.

Sevoflurano - Gli effetti della somministrazione del solo sevoflurano sui valori di STT-I possono essere estratti dallo studio di Mouney et al. del 2011, il quale valutò l'effetto della premedicazione intramuscolare con acepromazina o morfina o con soluzione fisiologica allo 0,9% in 6 cani meticci indotti e mantenuti in anestesia generale con sevoflurano. In tale studio, il gruppo placebo (premedicazione con 0,05ml di salina allo 0,9%), registrava valori di STT-1 che differivano significativamente dai basali a 10, 20, 30 minuti dall'induzione all'anestesia (Mouney et al., 2011).

Mayordomo-Febrer et al. nel 2017, invece, valutarono gli effetti sul test di Schirmer di un protocollo basato sulla somministrazione di morfina-alfaxalone-midazolam in premedicazione, alfaxalone come induzione e sevoflurano per il mantenimento dell'anestesia generale in 22 cani sani, dimostrando una diminuzione clinicamente significativa (valori di STT-1

inferiori a 10 mm/min (Miller, 2008)) della produzione acquosa lacrimale (Mayordomo-Febrer et al., 2017).

2.2.2 Oppioidi

Si ritiene che la produzione lacrimale sierosa possa essere modificata dalla somministrazione di oppioidi per diversi potenziali meccanismi: la possibilità di indurre effetti centrali alterando la regolazione autonoma della produzione lacrimale, un'efficace attività antinocicettiva, ed, infine, alterazioni metaboliche e di risposta agli stimoli (Dodam & Branson, 1998).

Butorfanolo - La somministrazione di butorfanolo da solo determina una riduzione dei valori di STT-1 rispetto ai valori basali, ma non in modo clinicamente significativo (Dodam & Branson, 1998; Douet et al., 2018; Miller, 2008).

In particolare, Douet et al. nel 2018, registrarono una riduzione del ~40% rispetto alle misurazioni basali a 45 minuti dalla somministrazione di 0,2mg/kg di butorfanolo intramuscolare e con un valore medio di STT-1 di $12,4 \pm 6,5$ mm/min, quindi molto vicino a dei valori fisiologici (Douet et al., 2018).

Valori di STT-1 inferiori ai basali, ma non clinicamente significativi, sono stati registrati anche in seguito alla somministrazione del butorfanolo con il diazepam (Dodam & Branson, 1998) o insieme al midazolam in premedicazione seguita da un'anestesia generale indotta con propofol e mantenuta con isoflurano in cani anziani (Tudor et al., 2018).

Invece, l'azione sinergica del butorfanolo con gli agonisti dei recettori α -adrenergici ha determinato una riduzione clinicamente significativa della produzione lacrimale (Dodam & Branson, 1998). Sanchez et al. nel 2006, stabilirono che la somministrazione endovenosa di medetomidina e butorfanolo in cani sani determinava una diminuzione significativa della produzione lacrimale misurabile a partire da 15 minuti dopo la sedazione fino 15 minuti dopo la somministrazione dell'atipamezolo (Sanchez et al., 2006). Risultati simili vennero registrati anche nello studio di Leonardi et al. nel quale fu valutata la produzione lacrimale in seguito alla somministrazione intramuscolare di butorfanolo e dexmedetomidina in 98 cani (Leonardi et al., 2019).

Buprenorfina - Non esistono pubblicazioni che studiano gli effetti sui valori di STT-1 nel cane in seguito alla sola somministrazione di buprenorfina, ma Soontornvipart K. et al. valutarono la produzione sierosa lacrimale in

seguito alla somministrazione di buprenorfina e medetomidina, con una riduzione clinicamente significativa dei valori di STT-1 (in tutti i cani dello studio si registrarono entro 30 minuti valori di STT-1 pari a 0 mm/min) (Soontornvipart et al., 2003).

Morfina – In uno studio effettuato su 6 cani, la somministrazione intramuscolare della sola morfina a 1mg/kg non ha determinato una diminuzione significativa dei valori STT-1 rispetto ai valori basali (Mouney et al., 2011).

La somministrazione della morfina associata al sevoflurano (Mouney et al., 2011), o al midazolam, alfaxalone, e sevoflurano (Mayordomo-Febrer et al., 2017) ha determinato un decremento clinicamente significativo dei valori di STT-1, anche con risultati prossimi allo 0 mm/min a 25 minuti dopo l'induzione dell'anestesia generale (Mayordomo-Febrer et al., 2017).

Meperidina - Biricik et al. dimostrarono una diminuzione statisticamente significativa dei valori STT-1 dopo 20 minuti dalla somministrazione intramuscolare di meperidina a 5 mg/kg in cani meticcii di entrambi i sessi, con valori pari a $10,81 \pm 2,54$ mm/min (Biricik et al., 2004).

Fentanyl - L'effetto del fentanyl sui valori STT-1 è stato descritto da Biricik et al., dimostrando una diminuzione statisticamente significativa della produzione lacrimale ma non clinicamente significativa (non inferiore a 10 mm/min) dopo la somministrazione intramuscolare di 0,01 mg/kg di fentanyl ((Biricik et al., 2004).

Mentre nel lavoro di Rauser et al., non è stata registrata alcuna riduzione statisticamente significativa dei valori di STT-1 in seguito alla somministrazione endovenosa di 0,005 mg/kg di fentanyl seguita da un'infusione di 0,005 mg/kg/h fino a 30 minuti dopo il bolo (Rauser et al., 2019).

Tramadolo – La somministrazione intramuscolare del tramadolo nel cane a due diverse posologie (4 mg/kg e 6 mg/kg) non ha determinato effetti significativi sui valori di STT-1 (Ruiz et al., 2014).

2.2.3 Benzodiazepine

Non sono presenti in letteratura studi in merito alla somministrazione di sole benzodiazepine nel cane e i loro effetti sulla produzione lacrimale acquosa. Un lavoro condotto sul coniglio, invece, ha evidenziato che la

somministrazione intramuscolare di diazepam a 1mg/kg in 16 conigli non mostrava alcun cambiamento significativo nella produzione lacrimale (Selk Ghaffari et al., 2009).

Inoltre, diversi studi hanno indagato i loro effetti sui valori di STT-1 in combinazione però con altri farmaci anestetici nel cane

Diazepam - Kovalcuka et al. stimarono la produzione lacrimale in cani premedicati con atropina e acepromazina, indotti con diazepam e ketamina, e mantenuti in anestesia generale con isoflurano. La produzione lacrimale stimata con lo STT-1 diminuì in modo clinicamente significativo in seguito all'induzione (Kovalcuka et al., 2010).

Invece, l'associazione di diazepam con butorfanolo (Dodam & Branson, 1998) non ha dimostrato cambiamenti clinicamente significativi nella produzione lacrimale.

Midazolam – Come detto in precedenza, la somministrazione di midazolam con morfina, alfaxalone e sevoflurano, provocava una diminuzione clinicamente significativa dei valori STT-1 (Mayordomo-Febrer et al., 2017).

La somministrazione di midazolam in premedicazione in 6 cani adulti seguita dalla somministrazione di propofol, da solo o miscelato con ketamina (ketofol), non ha determinato alterazioni statisticamente significative nei valori di STT-1 misurati fino a 30 minuti dopo l'induzione (Rastabi et al., 2018). Tuttavia, una diminuzione statisticamente significativa dello STT-1 10 minuti post estubazione è stata riscontrata nel lavoro di Tudor et al., nel quale i cani erano premedicati con midazolam e butorfanolo, indotti con propofol e mantenuti in anestesia generale con isoflurano (Tudor et al., 2018).

2.2.4 Agonisti dei recettori α -adrenergici

Gli agonisti dei recettori α 2-adrenergici sono ampiamente utilizzati nella pratica clinica veterinaria. Tali farmaci inducono una riduzione della produzione lacrimale in maniera dose-dipendente (Kanda et al., 2016). Le ipotesi del loro effetto sono ricercate nell'azione inibitoria sul sistema nervoso autonomo che regola la secrezione della ghiandola lacrimale, nell'attività antinocicettiva sulla superficie corneale (soprattutto in sinergia con gli oppioidi), nella vasocostrizione operata sui recettori α -adrenergici e nell'alterato metabolismo cellulare (Dodam & Branson, 1998; Komnenou et al., 2013).

Xilazina – Nello studio di Dodam et al., la sola somministrazione di xilazina nel cane non ha determinato alterazioni significative nella produzione lacrimale; riduzione sulla produzione lacrimale, invece, molto drastica e clinicamente significativa, si presentava se la somministrazione di xilazina era combinata con quella di butorfanolo, suggerendo un effetto sinergico e potenziato dei due farmaci (Dodam & Branson, 1998). Anche in un altro lavoro, i medesimi dosaggi di xilazina non hanno determinato riduzioni significative se non nei primi 30 minuti, ma, all'aumentare del dosaggio (4 mg/kg), i valori di STT-1 risultavano significativamente ridotti (< 10 mm/min) fino a 4 ore post iniezione (Kanda et al., 2016).

Medetomidina - Secondo Kanda et al. nel 2016, la medetomidina è stata associata ad una riduzione dose-dipendente della produzione lacrimale valutata con la misurazione dello STT-1 (Kanda et al., 2016). Nello specifico, dosi di 5 µg/kg di medetomidina determinavano una riduzione significativa nei primi 30 minuti, mentre dosi più elevate (40 µg/kg) causavano dei valori, che poteva protrarsi fino a 4 ore post somministrazione (Kanda et al., 2016). Indipendentemente dalla dose somministrata, i valori di STT-1 in alcuni cani non ritornavano nei range di riferimento nonostante il risveglio completo dalla sedazione. Pertanto, gli autori suggerivano di effettuare una buona osservazione della superficie oculare e valutare la produzione lacrimale nei cani sedati con medetomidina (da sola o in combinazione) durante l'anestesia e anche dopo, in fase di risveglio (Kanda et al., 2016). Anche la somministrazione della medetomidina, associata o non all'acepromazina, determinava un effetto di riduzione dei valori di STT-1 (Aghababaei et al., 2021). Gli effetti sulla produzione lacrimale possono essere interrotti dalla somministrazione dell'atipamezolo (Sanchez et al., 2006).

Dexmedetomidina - Nello studio di Di Pietro et al. il protocollo di sedazione con dexmedetomidina (4 µg/kg) ha influenzato significativamente la produzione lacrimale nei cani, registrando una diminuzione dei valori di STT-1 fino a 4 ore dopo la sedazione (Di Pietro et al., 2021).

Inoltre, la somministrazione combinata di dexmedetomidina a 5 µg/kg con butorfanolo a 0,2 mg/kg determinava una riduzione della produzione lacrimale acquosa già dopo 15 minuti dalla somministrazione. Inoltre, i valori di STT-1 aumentavano dopo 15 minuti dalla somministrazione

dell'atipamezolo, risultando in ogni caso risultavano più bassi rispetto ai basali (Leonardi et al., 2019).

2.2.5 Fenotiazine: Acepromazina

Nel caso dell'acepromazina, la sua somministrazione come singolo farmaco nel cane risultava associata ad una riduzione significativa della produzione lacrimale fino a due ore dopo la somministrazione (Giannetto et al., 2021), probabile espressione delle modifiche cardiocircolatorie (vasodilatazione e ipotensione) indotta dal farmaco stesso. Nel medesimo lavoro, viene dimostrato che l'associazione dell'acepromazina con il metadone determinava una riduzione significativa dello STT-1: in questo caso l'effetto sui valori dello STT-1 si rifletteva fino a 8 ore dopo la somministrazione del protocollo (Giannetto et al., 2021), in accordo con quanto espresso da Volk et al. precedentemente (Volk et al., 2018).

La combinazione di acepromazina con α -agonisti ha determinato risultati contrastanti (Aghababaei et al., 2021): i valori di STT-1 sono risultati significativamente più bassi dopo la somministrazione di acepromazina con medetomidina; mentre, in seguito alla somministrazione di acepromazina e dexmedetomidina, sono stati registrati valori altalenanti. In entrambi i protocolli, però, i cambiamenti ottenuti nella produzione lacrimale acquosa non si allontanarono dall'intervallo fisiologico.

2.2.6 Agenti dissociativi: Ketamina

Anche la ketamina, a causa dei suoi effetti eccitatori, difficilmente è utilizzata come unico agente anestetico.

Solo Abdelhakiem et al. nel 2019 hanno registrato i valori di STT-1 in cani trattati con ketamina a 5 mg/kg somministrata per via intramuscolare, riportando dei valori significativamente aumentati rispetto a quelli basali (Abdelhakiem et al., 2019).

La combinazione della ketamina con xilazina (Abdelhakiem et al., 2019), o con atropina, acepromazina, diazepam e isoflurano (Kovalcuka et al., 2010) ha determinato, invece, una riduzione statisticamente significativa della produzione lacrimale acquosa.

2.2.7 Anestetici iniettabili

Tra i farmaci iniettabili, sono stati valutati gli effetti dell'alfaxalone, del propofol e del tiopentale sulla produzione lacrimale nel cane.

Da uno studio di Costa et al. del 2015, si evinceva che i cani, a cui era stato somministrato l'alfaxalone, mostravano una riduzione significativa di STT-

1 a 10 e a 20 minuti dopo la somministrazione ($P < 0,05$); i cani ai quali era stato somministrato propofol, invece, non mostravano alcuna differenza statisticamente significativa dello STT-1 nel tempo (Costa et al., 2015).

Come anticipato, la somministrazione di alfaxalone con morfina e midazolam, seguita dall'induzione con alfaxalone e mantenimento con sevoflurano è risultata essere caratterizzata da una diminuzione dei valori di STT-1 in maniera significativa rispetto ai dati basali (Mayordomo-Febrer et al., 2017).

Anche in seguito alla concomitante somministrazione del propofol con altri farmaci anestetici (medetomidina e alotano (Komnenou et al., 2013); midazolam, butorfanolo e isoflurano (Tudor et al., 2018); midazolam e ketamina (Rastabi et al., 2018)), sono stati osservati valori ridotti di STT-1 in maniera statisticamente significativa.

L'uso di tiopentale nel cane è stato associato ad una riduzione statisticamente significativa dei valori di STT-1, misurato dopo 10 minuti dalla somministrazione (Kilic & Sarierler, 2005).

2.2.8 Anticolinergici

Atropina - Secondo Vestre et al. la somministrazione sottocutanea di atropina è stata associata ad una riduzione della produzione lacrimale già dopo 10 minuti, anche se non in modo clinicamente significativo (Raušer et al., 2022; Vestre et al., 1979). Gli stessi autori valutarono, inoltre, la combinazione di atropina sottocutanea con il tiamilal (barbiturico) endovenoso e anestesia inalatoria, ed evidenziarono una riduzione della produzione lacrimale verso valori prossimi allo 0 mm/min a 60 minuti dall'induzione (Vestre et al., 1979).

L'atropina, in combinazione con l'acepromazina, non ha dimostrato influenzare i valori dello STT-1; l'atropina, combinata con acepromazina, diazepam e ketamina, o in aggiunta ad isoflurano, invece, ha determinato una diminuzione clinicamente significativa della produzione lacrimale misurata con lo STT-1 (Kovalcuka et al., 2010; Rauser et al., 2019).

L'atropina, inoltre, determina una riduzione della secrezione lacrimale dopo somministrazione topica. In uno studio condotto su cani da Hollingsworth et al. nel 1992, gli autori constatarono che, attraverso la somministrazione topica di atropina in un solo occhio, la riduzione della produzione lacrimale avveniva bilateralmente dopo 30 minuti (Hollingsworth et al., 1992).

Glicopirrolato – La somministrazione di glicopirrolato, da solo o con farmaci anestetici, è associata ad una riduzione statisticamente significativa dei valori di STT-1 (Doering et al., 2016; Herring et al., 2000).

2.3 Strategie Protettive per la Superficie Oculare in Anestesia

Da quanto emerso dalla letteratura in medicina umana e veterinaria, l'uso di prodotti lubrificanti applicati in corso di anestesia generale è ampiamente suggerito al fine di ridurre il rischio di abrasioni o ulcere corneali. Allo stesso modo, viene fornita l'indicazione di applicare dispositivi finalizzati alla chiusura dell'occhio per prevenire il lagoftalmo e la cheratopatia da esposizione (Dawson & Sanchez, 2016; Grixti et al., 2013; Grover et al., 1998).

Diverse sono le strategie descritte al fine di prevenire l'insorgenza di lesioni corneali in corso di anestesia generale, tra le quali il taping palpebrale, lubrificanti oculari, gelliperm, bio-occlusive dressing.

2.3.1 Taping palpebrale

L'applicazione di un cerotto adesivo di diversi materiali (silicone, acrilato, cellophane) in strisce orizzontali sulle palpebre chiuse rappresenta una strategia per proteggere l'occhio da danni diretti meccanici e chimici, nonché dalla cheratopatia da esposizione (Gild et al., 1992; Grixti et al., 2013). Tale dispositivo può essere applicato da solo o in associazione con altri prodotti topici (gocce o pomate) (Siffring & Poulton, 1987).

Durante l'anestesia generale, l'anestesista dovrebbe controllare il corretto posizionamento del cerotto (Roth et al., 2022). L'applicazione dovrebbe essere garantita subito dopo l'intubazione e la rimozione in prossimità del risveglio per potenziarne l'effetto protettivo sulla superficie oculare (Grixti et al., 2013; Yu et al., 2010).

Sono segnalate reazioni avverse come lesioni alla cute palpebrale indotte dal cerotto (Figura 3) (Drzymalski et al., 2018) o anafilassi (E. White & David, 2007).



Figura 3. Lesioni cutanee palpebrali in seguito all'applicazione del cerotto palpebrale in anestesia generale (Drzymalski et al., 2018).

George et al. nel 2017 dimostrarono che l'uso del solo cerotto ipoallergenico, o di lubrificante oculare a base di paraffina o idrossipropilmetilcellulosa, o combinazioni di questi, erano sufficienti a garantire una buona protezione della superficie oculare. In particolare, riscontrarono una superiorità minima negli occhi protetti con una combinazione di unguento oculare a base di idrossipropilmetilcellulosa e taping rispetto a quelli protetti con nastro adesivo di carta chirurgica ipoallergenica (George et al., 2017).

Nel cane il lavoro di Ioannides et al. ha confrontato i risultati ottenuti in cento cani sottoposti a due strategie protettive: per ogni animale, un occhio era protetto da un taping palpebrale applicato in seguito alla somministrazione topica di un gel a base di carbomeri e, l'altro occhio, invece, era trattato col solo gel senza applicazione di taping. Nel complesso, l'incidenza delle erosioni corneali registrata in questo studio fu dell'8%, non evidenziando nessuna differenza significativa in termini di lesione e di valori dello STT-1 tra i due gruppi (Ioannides et al., 2022).

2.3.2 Lubrificanti Oculari

Già nel 1981 Schmidt et al. riportarono che l'applicazione di un unguento oftalmico a base d'acqua al 4% di metilcellulosa (Schmidt & Boggild-Madsen, 1981) avrebbe potuto garantire una protezione oculare durante l'anestesia generale nell'uomo.

Gli studi che confrontano vari tipi di lubrificanti non riescono a dimostrare differenze in termini di efficacia (Ganidagli et al., 2004; Schmidt & Boggild-Madsen, 1981). Tuttavia, sono da preferire pomate a base di metilcellulosa senza conservanti rispetto a pomate a base di paraffina (petrolio) che alterano la stabilità del film lacrimale, comportando un rischio maggiore di

irritazione oculare. In aggiunta, alotano e isoflurano possono rendersi solubili in essa, determinando infiammazione della superficie oculare (Schmidt & Boggild-Madsen, 1981). Inoltre, l'uso di prodotti liberi da conservanti sono da preferire per i possibili insulti chimici determinati da tali prodotti (clorambutanolo) (Grixti et al., 2013; Manecke et al., 2000). Prodotti a base di metilcellulosa sono ampiamente riportati e associati a basse percentuali di lesioni corneali (Schmidt & Boggild-Madsen, 1981).

Secondo le ultime linee guida dell'American Animal Hospital Association per cani e gatti, l'applicazione di lubrificanti sulla superficie oculare dovrebbe essere effettuata ogni 2-4 ore post induzione al fine di proteggere l'occhio dalla formazione di ulcere corneali (Grubb et al., 2020).

Dawson et al. valutarono la presenza di lesioni corneali in cani trattati con l'applicazione di gel oculari a base di caramellosa sodica: tale applicazione era effettuata al momento dell'induzione e ogni 2-4 ore durante l'anestesia generale. Gli autori registrarono una bassa incidenza (0,5%) di ulcere corneali superficiali, e un'incidenza di abrasioni corneali del 18,9% (Dawson & Sanchez, 2016).

Uno studio recente prospettico ha valutato l'uso di tre lubrificanti oftalmici in corso di anestesia generale nei cani non-brachicefalici. Esso ha evidenziato che l'uso dei lubrificanti somministrati al momento dell'induzione, ed ogni ora durante l'anestesia generale, garantiva una protezione per la superficie oculare del 100% dalla comparsa di ulcere corneali; nel 10% degli occhi della popolazione canina in esame, invece, è stata dimostrata la presenza di abrasioni corneali al termine dell'anestesia. Inoltre, si sono registrati risultati migliori nei valori di STT-1 nel gruppo trattato con acido ialuronico allo 0,25% rispetto al gruppo trattato con caramellosa sodica allo 0,5% ad un'ora di anestesia e nel postoperatorio (dopo 24 ore dall'estubazione) (Di Palma et al., 2020).

2.3.3 *Gelliperm*

Geliperm è una sostanza idrogel di poliacrilammide trasparente, con un elevato contenuto di acqua al fine di prevenire la disidratazione della superficie oculare. Può essere applicato sulle palpebre chiuse o direttamente sulla superficie oculare, agendo come barriera. Per evitare che possa disidratarsi, influenzando negativamente sulla comparsa di abrasioni corneali, è necessario irrigarlo con acqua sterile in corso di procedure lunghe (Cuddihy & Whittet, 2005).

Cuddihy et al. hanno osservato la totale assenza di abrasione corneale in 300 pazienti umani sottoposti a questo tipo di trattamento in corso di anestesia generale per chirurgia endonasali (Cuddihy & Whittet, 2005).

2.3.4 Bio-Occlusive Dressing

L'uso di Bio-Occlusive Dressing è stato proposto anche nel campo delle strategie di protezione corneale in corso di anestesia generale. Anderson et al. identificarono la presenza di lesioni corneali solo in 12 persone, su un campione totale di 40089, sottoposte a chirurgia della testa e del collo in seguito all'uso protettivo di questo dispositivo in corso di anestesia generale. Tale percentuale risultava sovrapponibile, o addirittura migliore, al taping e/o ai lubrificanti oculari (Anderson et al., 1995).

Non sono stati segnalati eventi avversi secondari all'implementazione del protocollo bio-occlusivo nel periodo di studio (ad esempio lacerazioni cutanee, abrasioni cutanee o perdita di ciglia) (Sanders et al., 2022). In sintesi, l'impiego sistematico di tale dispositivo è stato associato ad un'incidenza più bassa di cheratopatia da esposizione. Esso va considerato soprattutto per quei pazienti con condizioni particolarmente a rischio per la cornea (KCS) (Yu et al., 2010).



Figura 4. Bio-occlusive dressing come protocollo protettivo per la superficie oculare (Chauhan et al., 2022).

Qualora dovessero verificarsi abrasioni al momento del risveglio, il paziente potrebbe manifestare una condizione di intenso discomfort. Lichter et al. elaborarono nel loro lavoro un algoritmo decisionale su misura dell'anestesista al fine di gestire la problematica in tempi celeri, basandosi sulla somministrazione di lacrime artificiali e/o eritromicina topica (Figura 5) (Lichter et al., 2015). Lo scopo era quello di ridurre i tempi di discomfort

del paziente che potevano essere potenzialmente lunghi in caso di attesa di una visita specialistica oftalmologica.

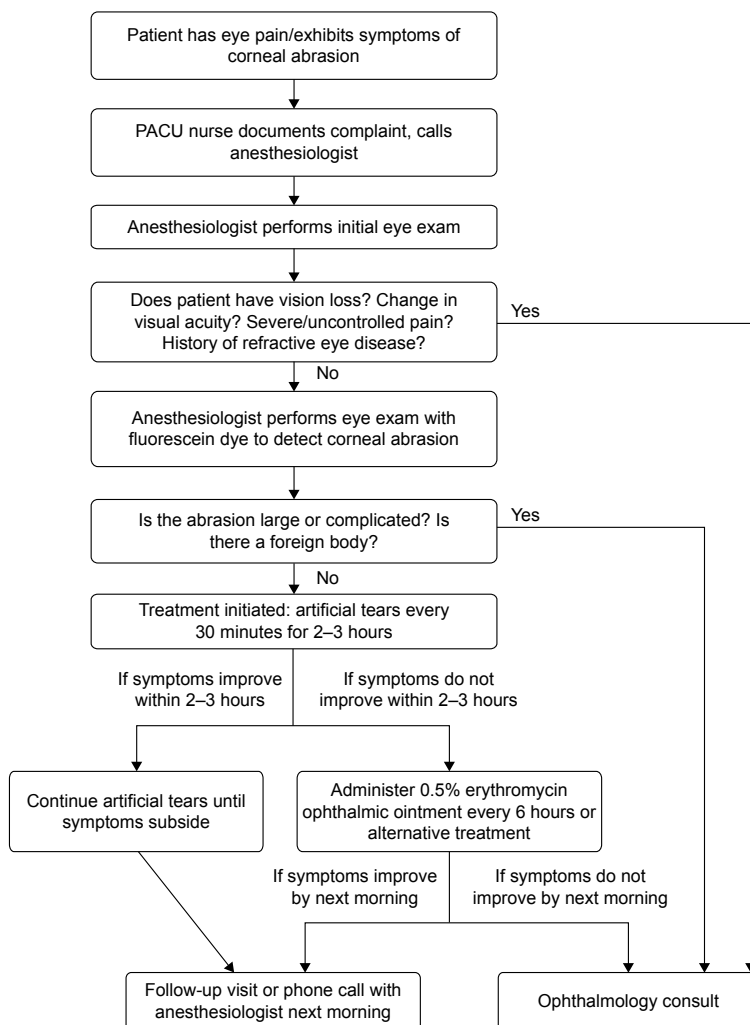


Figura 5. Flow chart decisionale per anestesisti al fine di gestire la comparsa di abrasioni corneali perioperatorie (Lichter et al., 2015).

Mancano studi simili in materia di gestione standardizzata delle abrasioni corneali perioperatorie in medicina veterinaria.

- Abdelhakiem, M. A. H., Elmeligy, E., & Al-Lethie, A. (2019). Effect of xylazine HCl and/or ketamine HCl on the tear production in clinically healthy dogs. *Adv. Anim. Vet. Sci*, 7(11), 1015–1020.
- Acosta, M. C., Peral, A., Luna, C., Pintor, J., Belmonte, C., & Gallar, J. (2004). Tear secretion induced by selective stimulation of corneal and conjunctival sensory nerve fibers. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 45(7), 2333–2336.
- Aghababaei, A., Ronagh, A., Mosallanejad, B., & Baniadam, A. (2021). Effects of Medetomidine, Dexmedetomidine and their combination with Acepromazine on the intraocular pressure (IOP), tear secretion and pupil diameter in dogs. *Veterinary Medicine and Science*, 7(4), 1090–1095.
- American Society of Anesthesiologists Task Force on Perioperative Visual Loss, North American Neuro-Ophthalmology Society, and S. for N. in A. and C. C. (2019). Practice Advisory for Perioperative Visual Loss Associated with Spine Surgery 2019: An Updated Report by the American Society of Anesthesiologists Task Force on Perioperative Visual Loss, the North American Neuro-Ophthalmology Society, and the Society for. *Anesthesiology*, 130(1), 12.
- Anderson, D. A., Braun, T. W., & Herlich, A. (1995). Eye injury during general anesthesia for oral and maxillofacial surgery: etiology and prevention. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 53(3), 321–324.
- Biricik, H. S., Ceylan, C., & Sakar, M. (2004). Effects of pethidine and fentanyl on tear production in dogs. *The Veterinary Record*, 155(18), 564–565.
- Calway, T., Rubin, D. S., Moss, H. E., Joslin, C. E., Beckmann, K., & Roth, S. (2017). Perioperative retinal artery occlusion: risk factors in cardiac surgery from the United States National Inpatient Sample 1998–2013. *Ophthalmology*, 124(2), 189–196.
- Chauhan, M. Z., Sanders, R. N., Elhusseiny, A., & Sallam, A. (2022). Association between systematic use of bio-occlusive dressing to reduce general anesthesia-associated corneal injury. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 63(7), 3958–A0238.
- Costa, D., Leiva, M., Moll, X., Aguilar, A., Peña, T., & Andaluz, A. (2015). Alfaxalone versus propofol in dogs: a randomised trial to assess effects on peri-induction tear production, intraocular pressure and globe position. *Veterinary Record*, 176(3), 73.
- Cuddihy, P. J., & Whittet, H. (2005). Eye observation and corneal protection during endonasal surgery. *The Journal of Laryngology & Otology*,

- 119(7), 556–557.
- Dawson, C., & Sanchez, R. F. (2016). A prospective study of the prevalence of corneal surface disease in dogs receiving prophylactic topical lubrication under general anesthesia. *Veterinary Ophthalmology*, 19(2), 124–129.
- Di Palma, C., Micieli, F., Lamagna, B., Nieddu, A., Uccello, V., Fatone, G., & Vesce, G. (2020). Schirmer tear test value and corneal lesions' incidence during general anesthesia for non-ophthalmic surgery in non-brachycephalic dogs: a pilot study comparing three different lubricant eye drop formulations. *Veterinary Sciences*, 7(1), 25.
- Di Pietro, S., Giannetto, C., Falcone, A., Piccione, G., Congiu, F., Staffieri, F., & Giudice, E. (2021). Dexmedetomidine and tear production: Evaluation in dogs as spontaneous model for ocular surface disorders. *Veterinary Sciences*, 8(2), 28.
- Dodam, & Branson. (1998). Effects of intramuscular sedative and opioid combinations on tear production in dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 1(1), 57–59.
- Doering, C. J., Lukasik, V. M., & Merideth, R. E. (2016). Effects of intramuscular injection of glycopyrrolate on Schirmer tear test I results in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 248(11), 1262–1266.
- Douet, J., Regnier, A., Dongay, A., Jugant, S., Jourdan, G., & Concorde, D. (2018). Effect of sedation with butorphanol on variables pertaining to the ophthalmic examination in dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 21(5), 452–458.
- Drzymalski, D. M., Arkoff, H., & Azocar, R. J. (2018). Eyelid injury after use of 3M Durapore™ tape during general anesthesia. *Canadian Journal of Anesthesia/Journal Canadien d'anesthésie*, 65, 1273–1274.
- Ganidagli, S., Cengiz, M., Becerik, C., Oguz, H., & Kilic, A. (2004). Eye protection during general anaesthesia: comparison of four different methods. *European Journal of Anaesthesiology*, 21(8), 665–667.
- George, T. A., Abraham, B., & George, N. (2017). The need for eye protection during general anaesthesia and the efficacy of various eye protection methods. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 5(4), 1224.
- Giannetto, C., Macrì, F., Falcone, A., Giudice, E., Crupi, R., Cicero, L., Cassata, G., Staffieri, F., & Di Pietro, S. (2021). Evaluation of tear production as measured by Schirmer test I in dogs after acepromazine and acepromazine–methadone premedication. *Animals*, 11(11), 3015.

- Gild, W. M., Posner, K. L., Caplan, R. A., & Cheney, F. W. (1992). Eye injuries associated with anesthesia. A closed claims analysis. *Anesthesiology*, 76(2), 204–208.
- Grixti, A., Sadri, M., & Watts, M. T. (2013). Corneal protection during general anesthesia for nonocular surgery. *The Ocular Surface*, 11(2), 109–118.
- Grover, V. K., Kumar, K. V. M., Sharma, S., Sethi, N., & Grewal, S. P. S. (1998). Comparison of methods of eye protection under general anaesthesia. *Canadian Journal of Anaesthesia*, 45, 575–577.
- Grubb, T., Sager, J., Gaynor, J. S., Montgomery, E., Parker, J. A., Shafford, H., & Tearney, C. (2020). 2020 AAHA anesthesia and monitoring guidelines for dogs and cats. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 56(2), 59–82.
- Herring, I. P., Pickett, J. P., Champagne, E. S., & Marini, M. (2000). Evaluation of aqueous tear production in dogs following general anesthesia. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 36(5), 427–430.
- Hollingsworth, S. R., Canton, D. D., Buyukmihci, N. C., & Farver, T. B. (1992). Effect of topically administered atropine on tear production in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 200(10), 1481–1484.
- Ioannides, J., Parker, J., Kumaratunga, V., Preston, J., Donaldson, D., MacFarlane, P., & Hartley, C. (2022). A prospective, masked, randomized, controlled superiority study comparing the incidence of corneal injury following general anesthesia in dogs with two methods of corneal protection. *Veterinary Ophthalmology*, 25(4), 291–296.
- Kanda, T., Ishihara, S., Oka, M., Sako, K., Sato, Y., Maeta, N., Tamura, K., Furumoto, K., & Furukawa, T. (2016). Temporal effects of intramuscular administration of medetomidine hydrochloride or xylazine hydrochloride to healthy dogs on tear flow measured by use of a Schirmer tear test I. *American Journal of Veterinary Research*, 77(4), 346–350.
- Kaye, A. D., Renschler, J. S., Cramer, K. D., Anyama, B. O., Anyama, E. C., Gayle, J. A., Armstead-Williams, C. M., Mosieri, C. N., Saus, J. A., & Cornett, E. M. (2019). Postoperative management of corneal abrasions and clinical implications: a comprehensive review. *Current Pain and Headache Reports*, 23, 1–9.
- Kilic, N., & Sarierler, M. (2005). Effects of intravenous sedatives and hypnotics on tear production in dogs. *Indian Veterinary Journal*, 82(7),

786–787.

- Kommenou, A. T. H., Kazakos, G. M., Savvas, I., & Thomas, A. L. N. (2013). Evaluation of aqueous tear production in dogs after general anaesthesia with medetomidine-propofol-carprofen-halothane. *Veterinary Record*, 173(6), 142.
- Kovalcuka, L., Becs, A., & Strode, L. (2010). Evaluation of the tear production in dog following general anesthesia. *International Scientific Conference on Animals, Health and Food Hygiene*, 166e.
- Krupin, T., Cross, D. A., & Becker, B. (1977). Decreased basal tear production associated with general anesthesia. *Archives of Ophthalmology*, 95(1), 107–108.
- Leonardi, F., Costa, G. L., Stagnoli, A., Zubin, E., Boschi, P., Sabbioni, A., & Simonazzi, B. (2019). The effect of intramuscular dexmedetomidine-butorphanol combination on tear production in dogs. *The Canadian Veterinary Journal*, 60(1), 55.
- Lichter, J. R., Marr, L. B., Schilling, D. E., Hudson, M. E., Boretsky, R. H., Barad, R. F., & Chelly, J. E. (2015). A Department-of-Anesthesiology-based management protocol for perioperative corneal abrasions. *Clinical Ophthalmology*, 1689–1695.
- Ludders, J. W., & Heavner, J. E. (1979). Effect of atropine on tear formation in anesthetized dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 175(6), 585–586.
- Malafa, M. M., Coleman, J. E., Bowman, R. W., & Rohrich, R. J. (2016). Perioperative corneal abrasion: updated guidelines for prevention and management. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 137(5), 790e–798e.
- Manecke, G. R., Tannenbaum, D. P., & McCoy, B. E. (2000). Severe bilateral corneal injury attributed to a preservative-containing eye lubricant. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 93(6), 1545–1546.
- Martin-Flores, M., Scrivani, P. V., Loew, E., Gleed, C. A., & Ludders, J. W. (2014). Maximal and submaximal mouth opening with mouth gags in cats: implications for maxillary artery blood flow. *The Veterinary Journal*, 200(1), 60–64.
- Martin, D. P., Weingarten, T. N., Gunn, P. W., Lee, K., Mahr, M. A., Schroeder, D. R., & Sprung, J. (2009). Performance improvement system and postoperative corneal injuries: incidence and risk factors. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 111(2), 320–326.
- Mayordomo-Febrer, A., Rubio, M., Martínez-Gassent, M., & López-

- Murcia, M. del M. (2017). Effects of morphine-alfaxalone-midazolam premedication, alfaxalone induction and sevoflurane maintenance on intraocular pressure and tear production in dogs. *Veterinary Record*, 180(19), 474.
- Miller, P. E. (2008). Lacrimal system. *Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*, 157–174.
- Moos, D. D., & Lind, D. M. (2006). Detection and treatment of perioperative corneal abrasions. *Journal of PeriAnesthesia Nursing*, 21(5), 332–338.
- Mouney, M. C., Accola, P. J., Cremer, J., Shepard, M. K., Guarin, C. R., & Hofmeister, E. H. (2011). Effects of acepromazine maleate or morphine on tear production before, during, and after sevoflurane anesthesia in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 72(11), 1427–1430.
- Papp, A. M., Justin, G. A., Vernau, C. T., Aden, J. K., Fitzgerald, B. M., Kraus, G. P., & Legault, G. L. (2019). Perioperative corneal abrasions after nonocular surgery: a systematic review. *Cornea*, 38(7), 927–932.
- Park, J., Choi, Y., Han, G., Shin, E., Han, J., Chung, T.-Y., & Lim, D. H. (2021). Evaluation of tear osmolarity measured by I-Pen osmolarity system in patients with dry eye. *Scientific Reports*, 11(1), 7726.
- Picker, O., Scheeren, T. W. L., & Arndt, J. O. (2001). Inhalation anaesthetics increase heart rate by decreasing cardiac vagal activity in dogs. *British Journal of Anaesthesia*, 87(5), 748–754.
- Pontes, K. C. de S., Borges, A. P. B., Eleotério, R. B., Ferreira, P. S., & Duarte, T. S. (2010). A comparison of the effects of propofol and thiopental on tear production in dogs. *Revista Ceres*, 57, 757–761.
- Rastabi, H. I., Baniadam, A., Ronagh, A., Khajeh, A., & Kamyabnia, M. (2018). Comparison of intraocular pressure, tear production and cardiorespiratory variables before and after induction of anaesthesia with either propofol or ketofol in dogs premedicated with midazolam. *Veterinární Medicína*, 63(6), 271–278.
- Rauser, P., Nemeckova, H., Mrazova, M., Burova, J., & Novak, L. (2019). The influence of fentanyl injection followed by infusion on the intraocular pressure, pupil size and aqueous tear production in healthy non-painful dogs. *Veterinární Medicína*, 64(10).
- Raušer, P., Novák, L., & Mrázová, M. (2022). Influence of anesthetics on aqueous tear production in dogs: A systematic review. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*.
- Roth, S., Moss, H. E., Vajaranant, T. S., & Sweitzer, B. (2022). Perioperative care of the patient with eye pathologies undergoing

- nonocular surgery. *Anesthesiology*, 137(5), 620–643.
- Ruiz, T., Peres, T. P. da S., Campos, W. N. da S., Sorte, E. da C. B., & Ribeiro, A. P. (2014). Effects of tramadol on tear production, intraocular pressure, and pupil size in dogs: clinical study. *Ciência Rural*, 45, 724–729.
- Sanchez, R. F., Mellor, D., & Mould, J. (2006). Effects of medetomidine and medetomidine-butorphanol combination on Schirmer tear test 1 readings in dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 9(1), 33–37.
- Sanders, R. N., Elhusseiny, A. M., Chauhan, M. Z., Scruggs, S., Stewart, A., Tingle, S., & Sallam, A. B. (2022). Association between systematic use of bio-occlusive dressing and general anaesthesia-associated corneal injury. *British Journal of Anaesthesia*, 129(6), e153–e155.
- Schmidt, P., & Boggild-Madsen, N. B. (1981). Protection of the eyes with ophthalmic ointments during general anaesthesia. *Acta Ophthalmologica*, 59(3), 422–427.
- Selk Ghaffari, M., Moghaddassi, A. P., & Bokaie, S. (2009). Effects of intramuscular acepromazine and diazepam on tear production in rabbits. *Veterinary Record*, 164(5), 147–148.
- Shen, Y., Drum, M., & Roth, S. (2009). The prevalence of perioperative visual loss in the United States: a 10-year study from 1996 to 2005 of spinal, orthopedic, cardiac, and general surgery. *Anesthesia & Analgesia*, 109(5), 1534–1545.
- Shepard, M. K., Accola, P. J., Lopez, L. A., Shaughnessy, M. R., & Hofmeister, E. H. (2011). Effect of duration and type of anesthetic on tear production in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 72(5), 608–612.
- Siffring, P. A., & Poulton, T. J. (1987). Prevention of ophthalmic complications during general anesthesia. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 66(4), 569–570.
- Singh, R. B., Khera, T., Ly, V., Saini, C., Cho, W., Shergill, S., Singh, K. P., & Agarwal, A. (2021). Ocular complications of perioperative anesthesia: a review. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 259, 2069–2083.
- Soontornvipart, K., Raušer, P., Kecova, H., & Lexmaulová, L. (2003). Effect of anaesthetic premedication with medetomidine-buprenorphine on the aqueous tear production in dogs. *Acta Veterinaria Brno*, 72(2), 267–272.
- Tudor, R. G., Degan, A., Costea, R., & Predoi, G. (2018). Tears production evaluation during a protocol of anaesthesia for geriatric dogs. *Revista*

- Română de Medicină Veterinară, 28(3), 25–28.
- Vestre, W. A., Brightman 2nd, A. H., Helper, L. C., & Lowery, J. C. (1979). Decreased tear production associated with general anesthesia in the dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 174(9), 1006–1007.
- Volk, H. A., West, E., Linn-Pearl, R. N., Fricker, G. V., Panti, A., & Gould, D. J. (2018). Effect of methadone and acepromazine premedication on tear production in dogs. *Veterinary Record Open*, 5(1), e000298.
- White, E., & David, D. B. (2007). Care of the eye during anaesthesia and intensive care. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 8(9), 383–386.
- Yu, H.-D., Chou, A.-H., Yang, M.-W., & Chang, C.-J. (2010). An analysis of perioperative eye injuries after nonocular surgery. *Acta Anaesthesiologica Taiwanica*, 48(3), 122–129.

Capitolo 3

Lubrificanti Oculari

I sostituti lacrimali nascono tendenzialmente come trattamento di prima linea nelle affezioni a carico della superficie oculare caratterizzate da disfunzione del film lacrimale, soprattutto al fine di integrare, per quanto possibile, deficit di uno o più strati del film lacrimale trilaminare (Gelatt, 2021). Attualmente il loro uso è ampiamente presente nei protocolli di trattamento di diverse patologie, tra le quali in primis la sindrome dell'occhio secco, ma anche le abrasioni corneali o le manifestazioni oculari delle allergie (Bielory & Wagle, 2017; Lichter et al., 2015).

I sostituti lacrimali sono considerati “agenti di comfort” che, grazie alle loro proprietà e i loro ingredienti, impediscono la rottura del film lacrimale, prevengono la perdita di volume lacrimale e/o riducono lo stress sull'epitelio corneale. I principali tipi di costituenti utilizzati nella composizione dei sostituti lacrimali sono elettroliti, osmoprotettori, agenti che aumentano la viscosità, agenti oleosi, antiossidanti e conservanti. Alcuni composti hanno dimostrato possedere un ruolo rilevante anche nella guarigione delle ferite e nella modulazione dei processi flogistici (Labetoulle et al., 2022).

3.1 Tipologia e Ruolo dei costituenti dei Sostituti Lacrimali

Elettroliti - Gli elettroliti (sodio, potassio, cloruro, magnesio e calcio) contribuiscono al mantenimento dell'equilibrio osmotico della superficie oculare. L'iperosmolarità del film lacrimale è uno dei meccanismi alla base della sindrome dell'occhio secco o di condizioni caratterizzate dall'eccessiva evaporazione del film lacrimale (Willcox et al., 2017).

In medicina umana, la somministrazione di sostituti lacrimali ipotonici può ridurre i segni clinici (Troiano & Monaco, 2008) e il grado di ipotonicità può influire sui risultati terapeutici; ciò può essere spiegato dall'effetto diluente sul film lacrimale iperosmolare. . Studi condotti su persone con la sindrome dell'occhio secco stabilirono l'assenza di differenze significative tra la somministrazione topica di soluzioni di ialuronato di sodio moderatamente ipotoniche (215 mOsm/L) e isotoniche (305 mOsm/L) (Papa et al., 2001); tuttavia l'impiego a lungo termine di soluzioni ancora più iposmolari (150 mOsm/L) è stato associato ad una potenziale presenza di edema corneale microcistico (Baudouin et al., 2013).

Osmoprotettori - Lo stress iperosmotico di un film lacrimale patologico si associa a processi di apoptosi delle cellule epiteliali corneali e congiuntivali (Willcox et al., 2017). Al fine di prevenire questa apoptosi sono stati integrati nei sostituti lacrimali degli "osmoprotettori" (L-carnitina, eritritolo, betaina, sorbitolo, glicerina e trealosio) (Baudouin et al., 2013). Questi ultimi sono piccole molecole che presumibilmente riducono la concentrazione di sali organici intracellulari, determinando una riduzione dell'osmolarità (Baudouin et al., 2013). Inoltre, gli osmoprotettori riducono lo stress ossidativo e la sintesi delle metalloproteinasi della matrice (MMP), ed infine modulano il processo autofagico (Deng et al., 2014; Liu et al., 2020).

Surfattanti e agenti oleosi – Come detto precedentemente, l'alterazione dello strato lipidico comporta un'evaporazione più rapida del film lacrimale e l'uso di agenti oleosi nei sostituti lacrimali può essere fondamentale nel trattamento di tali condizioni. Gli agenti oleosi sono disponibili principalmente sotto forma di liposomi ((López-Cano et al., 2021). I liposomi sono vescicole sferiche costituite da uno o più strati di lipidi biocompatibili e biodegradabili concentrici, con altrettanti compartimenti acquosi. Applicati sulla superficie oculare, migliorano lo spessore dello strato lipidico e la stabilità del film lacrimale (Craig et al., 2010).

Un altro tipo di formulazione di sostituti lacrimali contenente agenti oleosi sono le emulsioni olio in acqua. Queste emulsioni sono costituite da goccioline oleose stabilizzate in acqua mediante tensioattivi o emulsionanti (Rabinovich-Guilatt et al., 2004). Inoltre, gli agenti oleosi contribuiscono a definire una superficie ottica liscia, garantendo una buona qualità della vista in seguito all'applicazione dei prodotti (Garrigue et al., 2017).

Agenti che migliorano la viscosità - Gli agenti che migliorano la viscosità rappresentano gli ingredienti più frequentemente utilizzati nei sostituti lacrimali, in quanto svolgono una serie di importanti azioni: contribuiscono all'aumento dello spessore del film lacrimale, forniscono protezione contro la disidratazione, promuovono la ritenzione lacrimale sulla superficie corneale, migliorano la densità delle cellule caliciformi e alleviano i segni clinici (Jones et al., 2017).

Tra gli agenti che migliorano la viscosità ci sono i seguenti: alcol polivinilico (PVA), polivinilpirrolidone (PVP), carbomer (acido poliacrilico), carbossimetilcellulosa (CMC), idrossipropilmetilcellulosa (HPMC), destrano, acido ialuronico (HA), HP-guar, e polietilenglicole (Jones et al., 2017).

Essi risultano essere agenti mucoadesivi e mucomimetici (Eftimov et al., 2021; Jumelle et al., 2020) e vengono utilizzati, almeno parzialmente, anche in caso di carenza dello strato di mucina.

Alcuni di questi agenti (come il carbomer o l'HP-guar) si presentano sotto forma di liquidi ma, una volta in contatto con la superficie corneale, formano un gel con proprietà bio-adesive. Questa transizione soluzione-gel (sol-gel) è innescata dagli stimoli del microclima corneale come la temperatura, il pH e la presenza di ioni (Jumelle et al., 2020). È stato dimostrato che i prodotti a base di HP-guar migliorano i sintomi dell'occhio secco, aumentano lo spessore dello strato mucoso, riducono l'infiammazione e proteggono la superficie oculare (Moon et al., 2010; Uchiyama et al., 2008).

La carbossimetilcellulosa (CMC) è un derivato della cellulosa delle piante con proprietà mucoadesive, viscoelastiche ed un alto tempo di ritenzione sulla superficie corneale (Garrett et al., 2007). Inoltre, è stato dimostrato che migliora l'umettabilità della superficie corneale, l'integrità del film lacrimale, e favorisce la guarigione delle cellule epiteliali corneali (su modelli animali come il coniglio) (Bruix et al., 2006; Colligris et al., 2014; Garrett et al., 2007). La CMC è commercializzata a diverse concentrazioni dallo 0,25% all' 1% e a diversi pesi molecolari; concentrazioni superiori all'1% possono determinare vista offuscata nell'uomo, ma forniscono un

tempo di ritenzione più elevato sulla superficie corneale (Garrett et al., 2007).

Gli eteri di cellulosa, tra cui il più utilizzato è l'idrossipropilmetilcellulosa (HPMC) ad ampie varietà di concentrazione, sono polisaccaridi viscoelastici che aumentano la viscosità lacrimale mantenendo la cornea ben idratata (Jones et al., 2017; Tong et al., 2012).

I lubrificanti polimerici sintetici comunemente usati sono il carbomer (acido poliacrilico) e il povidone (polivinilpirrolidone). Il carbomer è un polimero con un'elevata viscosità e un buon tempo di ritenzione, ma provoca un'intensa sfocatura della vista (Calonge, 2001). I povidoni sono polimeri lineari con proprietà mucinomimetiche e hanno un buon tempo di ritenzione (Calonge, 2001).

L'acido ialuronico (HA), è un glicosaminoglicano anionico, presente in natura e ampiamente distribuito in vari tessuti (anche nelle lacrime naturali), con ottime proprietà viscoelastiche e di ritenzione idrica (Hynneklev et al., 2022). L'HA determina inoltre un aumento dello spessore del film lacrimale (fino a 30 minuti post instillazione) conferendo un buon potere lubrificante (Kaya et al., 2015). L'HA presenta un'elevata pseudoplasticità con un comportamento non-Newtoniano (Chernos et al., 2017). Ciò significa che si presenta come una soluzione ad alta viscosità con forze di taglio poco intense (con occhio aperto) e bassa viscosità in condizioni opposte (ammiccamento). Una viscosità maggiore si traduce in una maggiore permanenza sulla superficie oculare (Jones et al., 2017). Numerosi studi hanno dimostrato la sua capacità di legarsi alle cellule della superficie oculare e le sue potenziali proprietà di promuovere la migrazione delle cellule epiteliali, favorendo la guarigione in corso di lesioni corneali (Dogru et al., 2013; J A P Gomes et al., 2004).

Il peso molecolare influisce sugli effetti biologici dell'acido ialuronico stesso. Un basso peso molecolare presenta una viscosità inferiore e un'attività pro-infiammatoria; un alto peso molecolare, invece, è associato ad una viscosità maggiore e ad un'attività antinfiammatoria (Snetkov et al., 2020).

Sono presenti sul mercato formulazioni con concentrazioni differenti. You et al. nel 2018, in un modello sperimentale su topi, hanno dimostrato che, con l'aumento della concentrazione di HA dallo 0,1% allo 0,3%, si verificava una diminuzione del danno alle cellule caliciformi e alle cellule epiteliali corneali, con una maggiore stabilità del film lacrimale (You et al., 2018).

Antiossidanti – Lo stress ossidativo è associato alla presenza della sindrome dell'occhio secco che induce ulteriori danni ai tessuti, aggravando i processi infiammatori (Augustin et al., 1995). Prodotti antiossidanti che sono inseriti nelle formulazioni di lubrificanti oculari sono, ad esempio, vitamina A, vitamina E, acido lipoico, trealosio o taurina (Labetoulle et al., 2022). Tuttavia, la vitamina A è associata anche a disfunzione della ghiandola di Meibomio in modelli animali e ad un'instabilità nella formulazione liquida (Jose Alvaro P Gomes et al., 2017; Stopyra, 2019).

3.2 Formulazioni senza Conservanti Vs Formulazioni con Conservanti

I sostituti lacrimali sono disponibili in commercio sia come unità monouso sia come confezioni multidose. Questi ultimi richiedono l'aggiunta di conservanti, ma tali sostanze, se utilizzate cronicamente, possono avere un effetto tossico dose-dipendente a carico della superficie oculare, aggravando i processi infiammatori in caso di patologia (Dogru et al., 2013; Pflugfelder et al., 2007).

La riconosciuta tossicità del benzalconio cloruro (BAK), conservante comunemente utilizzato nelle soluzioni per colliri, ha portato allo sviluppo di conservanti meno tossici (ma anche con minori supporti scientifici) tra cui il poliquaternio-1, il clorbutanolo, disodio edetato (EDTA) (Barabino et al., 2020; Baudouin et al., 2010). Tuttavia, è stato dimostrato che l'assenza di conservanti (anche quelli più sicuri) migliora la guarigione della ferita corneale ex vivo (Schrage et al., 2012). Un'altra alternativa è rappresentata dai cosiddetti “conservanti morbidi”, che agiscono degradandosi in ioni cloruro e acqua (clorito di sodio) o ossigeno e acqua (perborato di sodio) durante la somministrazione e che risulterebbero meno tossici (benché manchino sufficienti studi in merito) (Brignole-Baudouin et al., 2011).

Nonostante i possibili effetti tossici dei conservanti, la loro assenza rappresenta un notevole rischio per la contaminazione microbica; di conseguenza, i prodotti monodose devono essere smaltiti entro poche ore dall'apertura (Jones et al., 2017).

3.3 Sostituti Lacrimali nel Cane: in Anestesia, in corso di Lesioni Corneali e Cheratocongiuntivite Secca.

Come osservato nel capitolo precedente, in corso di anestesia generale la riduzione della produzione basale e riflessa della lacrimazione, associata alla cheratopatia da esposizione, inducono condizioni favorevoli per la formazione di abrasioni o ulcere corneali. Secondo le ultime linee guida dell'American Animal Hospital Association, l'applicazione di lubrificanti oculari dovrebbe essere garantita durante le procedure anestesologiche nel cane e nel gatto per ridurre l'incidenza della formazione di lesioni corneali (Grubb et al., 2020).

Nello studio di Dawson et al., i cani furono trattati con la somministrazione di carbossimetilcellulosa, applicata al momento dell'induzione e ogni 2-4 ore durante l'anestesia generale. Le lesioni corneali post anestetiche registrate furono principalmente le abrasioni corneali (18,9%), con una bassa incidenza di ulcere corneali (0,5%) (Dawson & Sanchez, 2016).

Ioannides et al., invece, utilizzarono subito dopo l'intubazione la somministrazione topica bilaterale di un gel oculare a base di carbomer associata all'applicazione di un taping palpebrale su un solo occhio. Gli autori non evidenziarono nessuna differenza in termini di lesioni e valori di STT-1 tra il gruppo trattato con il gel oftalmico e il gruppo trattato con il gel oftalmico associato al taping palpebrale, con un totale di abrasioni corneali pari all'8% (Ioannides et al., 2022).

Di Palma et al. nel 2020 misero a confronto tre lubrificanti oftalmici diversi in corso di anestesia generale nei cani non-brachicefalici. I lubrificanti furono somministrati subito dopo l'intubazione e poi ad ogni ora di anestesia generale. In particolare, i sostituti lacrimali utilizzati furono: gocce oculari a base di acido ialuronico allo 0,25%, gocce oculari a base di carbossimetilcellulosa all'1% e un gel oftalmico a base di acido ialuronico all'1%. Gli autori non evidenziarono nessuna differenza tra i gruppi in merito alla comparsa di abrasioni corneali postoperatorie (evidenziate nel 10% dei cani). L'applicazione di sostituti lacrimali a base di acido ialuronico allo 0,25% riportò valori di STT-1 significativamente più alti rispetto al gruppo trattato con carbossimetilcellulosa ad un'ora di anestesia e dopo 24 ore dall'estubazione (Di Palma et al., 2020).

Una frequenza di applicazione ottimale in anestesia non è stata individuata nel cane, ma Bedos et al nel 2023 ha determinato il tempo di ritenzione precorneale di cinque diversi lubrificanti oculari comunemente usati in medicina veterinaria in cani non sottoposti ad anestesia: Artificial Tears

Solution (alcol polivinilico all'1.4%), I-Drop Vet Plus (acido ialuronico allo 0,25%), Optixcare Eye Lube Plus (acido ialuronico allo 0,25%), Systane Ultra (0,4% polietilenglicole 400 e 0,3% glicole propilenico), and Artificial Tears Ointment (vasellina bianca) (Hynnekleiv et al., 2022). I tempi (mediana, range) di ritenzione precorneale sono stati significativamente diversi tra i 5 lubrificanti, variando da 40 minuti (20-90 min) per Artificial Tears Ointment, 35 minuti (20-90 min) per Systane Ultra, 30 min (10-60 min) per I-Drop Vet Plus, 25 minuti (10-60 min) per Optixcare Eye Lube Plus e 10 minuti (10-20 min) per Artificial Tears Solution. Nel predetto studio, tutti i lubrificanti oculari hanno garantito un buon tempo di permanenza precorneale tranne quello a base di alcol polivinilico (Artificial Tears Solution). Nel sopraindicato studio, tutti i lubrificanti oculari hanno garantito un buon tempo di permanenza precorneale tranne quello a base di alcol polivinilico (Artificial Tears Solution).

In corso di cheratocongiuntivite secca (KCS) del cane, uno studio ha valutato l'efficacia di un collirio contenente acido ialuronico e di un gel topico a base di carbomer nel ridurre la patologia della superficie oculare e il discomfort in 25 cani affetti da KCS. Entrambi i sostituti lacrimali in esame erano somministrati due volte al giorno. L'acido ialuronico presentava valori significativamente inferiori in merito al grado di iperemia congiuntivale e di discomfort oculare, dimostrando un'efficacia nella gestione dei segni clinici migliore rispetto al carbomer (D. Williams et al., 2012).

Amalfitano et al. hanno valutato gli effetti dell'associazione di una crema perioftalmica di un pool di acidi grassi (FAG®) con un collirio a base di ialuronato allo 0,15% nell'alleviare i sintomi in cani affetti da KCS, riportando un miglioramento nei valori di STT-1 post trattamento e riducendo in maniera statisticamente significativa il grado di iperemia congiuntivale, secrezione oculare e disagio da parte dell'animale (Amalfitano et al., 2019).

In merito alla letteratura in medicina umana, diversi studi comparativi in pazienti con sindrome dell'occhio secco hanno dimostrato un'efficacia tendenzialmente sovrapponibile di diversi sostituti lacrimali (acido ialuronico, carbossimetilcellulosa e idrossipropilmetilcellulosa) (Hynnekleiv et al., 2024; Lee et al., 2011; C. J. White et al., 2014).

Williams et al. nel 2017 (David L Williams et al., 2017) hanno confrontato l'efficacia di due trattamenti topici (acido ialuronico allo 0,3% e acido ialuronico cross-linkato allo 0,75%) in corso di ulcere corneali acute in cani e gatti. L'acido ialuronico cross-linkato accelerava significativamente la

riparazione delle ulcere stromali corneali acute nei cani e nei gatti, rispetto all'acido ialuronico non reticolato.

In modelli animali su coniglio, nei quali era provocata sperimentalmente una lesione corneale, l'applicazione di carbossimetilcellulosa determinava la guarigione dell'epitelio corneale con modalità dose-dipendente (Garrett et al., 2008); mentre Zhang et al. nel 2018 (Zhang et al., 2018) hanno stabilito che la somministrazione di acido ialuronico allo 0,3% determinava un grado di ri-epitelizzazione maggiore a 24 ore rispetto alla carbossimetilcellulosa o a soluzioni con concentrazioni più basse di acido ialuronico (0,1%).

In uno studio condotto su cane, è stata valutata l'efficacia dell'acido ialuronico topico allo 0,2% in corso di ulcere corneali rispetto ad una soluzione a base di carbossimetilcellulosa con medesima viscosità. Il trattamento con entrambi i sostituti lacrimali, fornito tre volte al giorno, non ha riportato differenze statistiche significative nei punteggi dell'esame oftalmico clinico e nel tasso di epitelizzazione corneale (Gronkiewicz et al., 2017).

- Amalfitano, C., Pasolini, M. P., Nieddu, A., Della Valle, G., Fiorentin, P. G., Lamagna, F., & Lamagna, B. (2019). The effect of periocular fatty acids and 0.15% hyaluronate eye drops application on keratoconjunctivitis sicca in dogs: an exploratory study. *Topics in Companion Animal Medicine*, 35, 18–25.
- Augustin, A. J., Spitznas, M., Kaviani, N., Meller, D., Koch, F. H. J., Grus, F., & Göbbels, M. J. (1995). Oxidative reactions in the tear fluid of patients suffering from dry eyes. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 233, 694–698.
- Barabino, S., Benitez-Del-Castillo, J. M., Fuchsluger, T., Labetoulle, M., Malachkova, N., Meloni, M., Paaske Utheim, T., & Rolando, M. (2020). Dry eye disease treatment: the role of tear substitutes, their future, and an updated classification. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*, 24(17).
- Baudouin, C., Aragona, P., Messmer, E. M., Tomlinson, A., Calonge, M., Boboridis, K. G., Akova, Y. A., Geerling, G., Labetoulle, M., & Rolando, M. (2013). Role of hyperosmolarity in the pathogenesis and management of dry eye disease: proceedings of the OCEAN group meeting. *The Ocular Surface*, 11(4), 246–258.
- Baudouin, C., Labbé, A., Liang, H., Pauly, A., & Brignole-Baudouin, F. (2010). Preservatives in eyedrops: the good, the bad and the ugly. *Progress in Retinal and Eye Research*, 29(4), 312–334.
- Bielory, L., & Wagle, P. (2017). Ocular surface lubricants. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 17(5), 382–389.
- Brignole-Baudouin, F., Riancho, L., Liang, H., & Baudouin, C. (2011). Comparative in vitro toxicology study of travoprost polyquad-preserved, travoprost BAK-preserved, and latanoprost BAK-preserved ophthalmic solutions on human conjunctival epithelial cells. *Current Eye Research*, 36(11), 979–988.
- Bruix, A., Adan, A., & Casaroli-Marano, R. P. (2006). Efficacy of sodium carboxymethylcellulose in the treatment of dry eye syndrome. *Archivos de La Sociedad Espanola de Oftalmologia*, 81(2), 85–92.
- Calonge, M. (2001). The treatment of dry eye. *Survey of Ophthalmology*, 45, S227–S239.
- Chernos, M., Grecov, D., Kwok, E., Bebe, S., Babsola, O., & Anastassiades, T. (2017). Rheological study of hyaluronic acid derivatives. *Biomedical Engineering Letters*, 7, 17–24.
- Colligris, B., Crooke, A., Huete-Toral, F., & Pintor, J. (2014). An update on dry eye disease molecular treatment: advances in drug pipelines.

- Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 15(10), 1371–1390.
- Craig, J. P., Purslow, C., Murphy, P. J., & Wolffsohn, J. S. W. (2010). Effect of a liposomal spray on the pre-ocular tear film. *Contact Lens and Anterior Eye*, 33(2), 83–87.
- Dawson, C., & Sanchez, R. F. (2016). A prospective study of the prevalence of corneal surface disease in dogs receiving prophylactic topical lubrication under general anesthesia. *Veterinary Ophthalmology*, 19(2), 124–129.
- Deng, R., Su, Z., Hua, X., Zhang, Z., Li, D.-Q., & Pflugfelder, S. C. (2014). Osmoprotectants suppress the production and activity of matrix metalloproteinases induced by hyperosmolarity in primary human corneal epithelial cells. *Molecular Vision*, 20, 1243.
- Di Palma, C., Micieli, F., Lamagna, B., Nieddu, A., Uccello, V., Fatone, G., & Vesce, G. (2020). Schirmer tear test value and corneal lesions' incidence during general anesthesia for non-ophthalmic surgery in non-brachycephalic dogs: a pilot study comparing three different lubricant eye drop formulations. *Veterinary Sciences*, 7(1), 25.
- Dogru, M., Nakamura, M., Shimazaki, J., & Tsubota, K. (2013). Changing trends in the treatment of dry-eye disease. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 22(12), 1581–1601.
- Eftimov, P., Yokoi, N., Melo, A. M., Daull, P., & Georgiev, G. A. (2021). Interactions of meibum and tears with mucomimetic polymers: a hint towards the interplay between the layers of the tear film. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(5), 2747.
- Garrett, Q., Simmons, P. A., Xu, S., Vehige, J., Zhao, Z., Ehrmann, K., & Willcox, M. (2007). Carboxymethylcellulose binds to human corneal epithelial cells and is a modulator of corneal epithelial wound healing. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 48(4), 1559–1567.
- Garrett, Q., Xu, S., Simmons, P. A., Vehige, J., Xie, R. Z., Kumar, A., Flanagan, J. L., Zhao, Z., & Willcox, M. D. P. (2008). Carboxymethyl cellulose stimulates rabbit corneal epithelial wound healing. *Current Eye Research*, 33(7), 567–573.
- Garrigue, J.-S., Amrane, M., Faure, M.-O., Holopainen, J. M., & Tong, L. (2017). Relevance of lipid-based products in the management of dry eye disease. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 33(9), 647–661.
- Gelatt, K. N. (2021). *Veterinary ophthalmology* (6th ed.). Wiley-Blackwell. <https://www.wiley.com/en-fr/Veterinary+Ophthalmology%2C+2+Volume+Set%2C+6th+Edition>

- p-9781119441830
- Gomes, J A P, Amankwah, R., Powell-Richards, A., & Dua, H. S. (2004). Sodium hyaluronate (hyaluronic acid) promotes migration of human corneal epithelial cells in vitro. *The British Journal of Ophthalmology*, 88(6), 821.
- Gomes, Jose Alvaro P, Azar, D. T., Baudouin, C., Efron, N., Hirayama, M., Horwath-Winter, J., Kim, T., Mehta, J. S., Messmer, E. M., & Pepose, J. S. (2017). Tfos dewes ii iatrogenic report. *The Ocular Surface*, 15(3), 511–538.
- Gronkiewicz, K. M., Giuliano, E. A., Sharma, A., & Mohan, R. R. (2017). Effects of topical hyaluronic acid on corneal wound healing in dogs: a pilot study. *Veterinary Ophthalmology*, 20(2), 123–130.
- Grubb, T., Sager, J., Gaynor, J. S., Montgomery, E., Parker, J. A., Shafford, H., & Tearney, C. (2020). 2020 AAHA anesthesia and monitoring guidelines for dogs and cats. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 56(2), 59–82.
- Hynnekleiv, L., Magno, M., Moschowits, E., Tønseth, K. A., Vehof, J., & Utheim, T. P. (2024). A comparison between hyaluronic acid and other single ingredient eye drops for dry eye, a review. *Acta Ophthalmologica*, 102(1), 25–37.
- Hynnekleiv, L., Magno, M., Vernhardsdottir, R. R., Moschowits, E., Tønseth, K. A., Dartt, D. A., Vehof, J., & Utheim, T. P. (2022). Hyaluronic acid in the treatment of dry eye disease. *Acta Ophthalmologica*, 100(8), 844–860.
- Ioannides, J., Parker, J., Kumaratunga, V., Preston, J., Donaldson, D., MacFarlane, P., & Hartley, C. (2022). A prospective, masked, randomized, controlled superiority study comparing the incidence of corneal injury following general anesthesia in dogs with two methods of corneal protection. *Veterinary Ophthalmology*, 25(4), 291–296.
- Jones, L., Downie, L. E., Korb, D., Benitez-del-Castillo, J. M., Dana, R., Deng, S. X., Dong, P. N., Geerling, G., Hida, R. Y., & Liu, Y. (2017). TFOS DEWS II management and therapy report. *The Ocular Surface*, 15(3), 575–628.
- Jumelle, C., Gholizadeh, S., Annabi, N., & Dana, R. (2020). Advances and limitations of drug delivery systems formulated as eye drops. *Journal of Controlled Release*, 321, 1–22.
- Kaya, S., Schmidl, D., Schmetterer, L., Witkowska, K. J., Unterhuber, A., Aranha dos Santos, V., Baar, C., Garhöfer, G., & Werkmeister, R. M. (2015). Effect of hyaluronic acid on tear film thickness as assessed

- with ultra-high resolution optical coherence tomography. *Acta Ophthalmologica*, 93(5), 439–443.
- Labetoulle, M., Benitez-del-Castillo, J. M., Barabino, S., Herrero Vanrell, R., Daull, P., Garrigue, J.-S., & Rolando, M. (2022). Artificial tears: biological role of their ingredients in the management of dry eye disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(5), 2434.
- Lee, J. H., Ahn, H. S., & Kim, E. K. (2011). Efficacy of sodium hyaluronate and carboxymethylcellulose in treating mild to moderate dry eye disease. *Cornea*, 30(2), 175–179.
- Lichter, J. R., Marr, L. B., Schilling, D. E., Hudson, M. E., Boretsky, R. H., Barad, R. F., & Chelly, J. E. (2015). A Department-of-Anesthesiology-based management protocol for perioperative corneal abrasions. *Clinical Ophthalmology*, 1689–1695.
- Liu, Z., Chen, D., Chen, X., Bian, F., Qin, W., Gao, N., Xiao, Y., Li, J., Pflugfelder, S. C., & Li, D.-Q. (2020). Trehalose induces autophagy against inflammation by activating TFEB signaling pathway in human corneal epithelial cells exposed to hyperosmotic stress. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 61(10), 26.
- López-Cano, J. J., González-Cela-Casamayor, M. A., Andrés-Guerrero, V., Herrero-Vanrell, R., & Molina-Martínez, I. T. (2021). Liposomes as vehicles for topical ophthalmic drug delivery and ocular surface protection. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 18(7), 819–847.
- Moon, S.-W., Hwang, J.-H., Chung, S.-H., & Nam, K.-H. (2010). The impact of artificial tears containing hydroxypropyl guar on mucous layer. *Cornea*, 29(12), 1430–1435.
- Papa, V., Aragona, P., Russo, S., Di Bella, A., Russo, P., & Milazzo, G. (2001). Comparison of hypotonic and isotonic solutions containing sodium hyaluronate on the symptomatic treatment of dry eye patients. *Ophthalmologica*, 215(2), 124–127.
- Pflugfelder, S. C., Geerling, G., Kinoshita, S., Lemp, M. A., McCulley, J. P., Nelson, D., Novack, G. N., Shimazaki, J., & Wilson, C. (2007). Management and therapy of dry eye disease: report of the Management and Therapy Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocular Surface*, 5(2), 163–178.
- Rabinovich-Guilatt, L., Couvreur, P., Lambert, G., & Dubernet, C. (2004). Cationic vectors in ocular drug delivery. *Journal of Drug Targeting*, 12(9–10), 623–633.
- Schrage, N., Frentz, M., & Spoeler, F. (2012). The Ex Vivo Eye Irritation Test (EVEIT) in evaluation of artificial tears: Purite®-preserved

- versus unpreserved eye drops. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 250, 1333–1340.
- Snetkov, P., Zakharova, K., Morozkina, S., Olekhovich, R., & Uspenskaya, M. (2020). Hyaluronic acid: The influence of molecular weight on structural, physical, physico-chemical, and degradable properties of biopolymer. *Polymers*, 12(8), 1800.
- Stopyra, W. (2019). The impact of alpha lipoic acid eyedrops on tear break-up time in patients with dry eye disease. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 60(9), 2090.
- Tong, L., Petznick, A., Lee, S., & Tan, J. (2012). Choice of artificial tear formulation for patients with dry eye: where do we start? *Cornea*, 31, S32–S36.
- Troiano, P., & Monaco, G. (2008). Effect of hypotonic 0.4% hyaluronic acid drops in dry eye patients: a cross-over study. *Cornea*, 27(10), 1126–1130.
- Uchiyama, E., Di Pascuale, M. A., Butovich, I. A., & McCulley, J. P. (2008). Impact on ocular surface evaporation of an artificial tear solution containing Hydroxypropyl (HP) Guar. *Eye & Contact Lens*, 34(6), 331.
- White, C. J., Thomas, C. R., & Byrne, M. E. (2014). Bringing comfort to the masses: a novel evaluation of comfort agent solution properties. *Contact Lens and Anterior Eye*, 37(2), 81–91.
- Willcox, M. D. P., Argüeso, P., Georgiev, G. A., Holopainen, J. M., Laurie, G. W., Millar, T. J., Papas, E. B., Rolland, J. P., Schmidt, T. A., & Stahl, U. (2017). TFOS DEWS II tear film report. *The Ocular Surface*, 15(3), 366–403.
- Williams, D. L., Wirostko, B. M., Gum, G., & Mann, B. K. (2017). Topical cross-linked HA-based hydrogel accelerates closure of corneal epithelial defects and repair of stromal ulceration in companion animals. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 58(11), 4616–4622.
- Williams, D., Middleton, S., Fattahian, H., & Moridpour, R. (2012). Comparison of hyaluronic acid-containing topical eye drops with carbomer-based topical ocular gel as a tear replacement in canine keratoconjunctivitis sicca: A prospective study in twenty five dogs. *Veterinary Research Forum*, 3(4), 229.
- You, I. C., Li, Y., Jin, R., Ahn, M., Choi, W., & Yoon, K. C. (2018). Comparison of 0.1%, 0.18%, and 0.3% hyaluronic acid eye drops in the treatment of experimental dry eye. *Journal of Ocular*

Pharmacology and Therapeutics, 34(8), 557–564.

Zhang, Y., Lu, X.-Y., Hu, R.-J., Fan, F.-L., & Jin, X.-M. (2018). Evaluation of artificial tears on cornea epithelium healing. *International Journal of Ophthalmology*, 11(7), 1096.

Capitolo 4

Pilocarpina

*“The jaborandi has really extraordinary properties.
It will occupy an important place alongside the great medicines,
or it may fall into oblivion after a more or less long vogue.”*
—R. Poujol, 1879

La pilocarpina è un alcaloide presente nelle foglie delle piante jaborandi, in particolare *Pilocarpus jaborandi* (Figura 1) (Murube, 2005).

Nel 1570, l'esploratore Gabriel Soares de Souza descrisse che gli indiani Guarani del Brasile Meridionale usavano le foglie di una pianta chiamata "jaborandi" (parola indigena che significa "bocca bavosa"), che pochi minuti dopo l'ingestione induceva salivazione o sudorazione e che, se assunto in grandi dosi, determinava una secrezione polmonare e buccale tale da provocare la morte per asfissia (Soares de Souza, 1851).

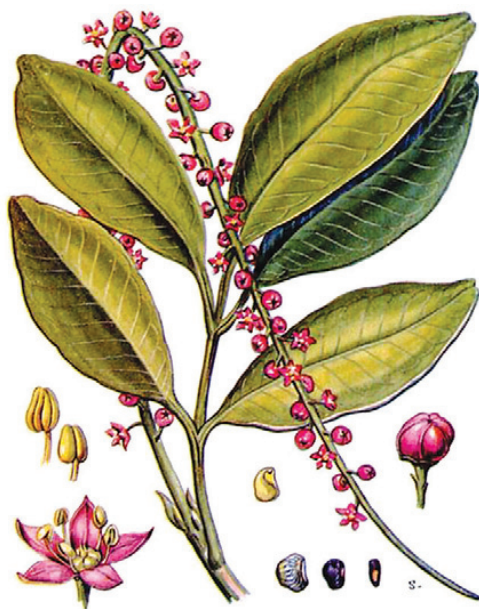


Figura 6. Pianta di *Pilocarpus* (Murube, 2005).

La pilocarpina è un agente colinergico parasimpaticomimetico che determina un ampio spettro di attività farmacologiche dovuta alla stimolazione dei recettori muscarinici M1, M2 ed M3, producendo una stimolazione delle ghiandole esocrine accompagnata da sudorazione, salivazione, lacrimazione, secrezione gastrica e pancreatica (Cifuentes et al., 2018).

Mentre l'acetilcolina ha un'azione muscarinica e nicotinica, la pilocarpina ha un'azione solo di agonista non selettivo dei recettori muscarinici.

La pilocarpina agisce sulle cellule innervate dalle fibre colinergiche post-gangliari ed il legame della pilocarpina con i recettori M3 avviene anche

quando questi sono disconnessi dai loro centri neurovegetativi o quando la degenerazione neurale è completa (Murube, 2005).

Il recettore M3 è un recettore muscarinico espresso nelle ghiandole gastriche, nelle ghiandole salivari e nelle cellule muscolari lisce, come quelle presenti nello sfintere pupillare e nei corpi ciliari (Carlson & Kraus, 2024). Gli agonisti colinergici dei recettori M3 provocano l'up-regulation del calcio e, in definitiva, la contrazione della muscolatura liscia (Tanasiewicz et al., 2016). Nell'apparato respiratorio, la pilocarpina determina ipersecrezione tracheobronchiale e broncospasmo per la contrazione della muscolatura bronchiale. La pilocarpina stimola i recettori M3 presenti sulla muscolatura liscia gastrointestinale, sulla cistifellea e sul dotto biliare portando ad un aumento del tono e della motilità, nonché una condizione di ipersecrezione salivare, gastrica, biliare e pancreatica (Hancock, 2007). La sua azione a livello della muscolatura del tratto urinario si traduce in un aumento della minzione. Nel sistema cardiocircolatorio, la pilocarpina determina un effetto cronotropo negativo e rilassa la muscolatura liscia vascolare (vasodilatazione), inducendo una conseguente ipotensione arteriosa sistemica. Stimola la secrezione di ghiandole lacrimali e sudoripare (Davies & Thompson, 2015; Murube, 2005). La pilocarpina stimola anche i recettori muscarinici del muscolo sfintere dell'iride (miosi) e del muscolo ciliare per aumentare l'accomodazione. La stimolazione dei muscoli ciliari e dello sfintere migliora il deflusso dell'umore acqueo (Hancock, 2007).

La pilocarpina è un'ammina terziaria, somministrata per via orale ma anche per via congiuntivale (in oftalmologia), dove attraversa facilmente la cornea e si verifica un assorbimento sistemico. Tuttavia, a causa della rapida clearance sulla superficie oculare, studi sperimentali sul coniglio hanno evidenziato solo il 2% della quota applicata topicamente va incontro ad assorbimento intraoculare (Schoenward 1990). Essa, inoltre, attraversa la barriera ematoencefalica dopo somministrazione parenterale o sistemica. Non sono disponibili dati specifici sulla farmacocinetica della pilocarpina nel cane (Hancock, 2007).

La pilocarpina è indicata come trattamento di diverse patologie, tra cui il glaucoma, la xerostomia da ipofunzione delle ghiandole salivari causata dalla radioterapia per il cancro della testa e del collo e per il trattamento dei pazienti affetti da sindrome di Sjögren (Panarese & Moshirfar, 2023).

Inoltre, è utilizzata in modelli animali per indurre uno stato epilettico sperimentale (Curia et al., 2008).

4.1 Gli effetti della Pilocarpina sull'Occhio nel Cane

Gli agenti parasimpaticomimetici topici in oftalmologia veterinaria sono impiegati principalmente per la loro attività miotica e di riduzione della pressione intraoculare. Questo effetto potrebbe essere dovuto all'attività diretta sulle porzioni di muscolo ciliare che si inseriscono nella zona dell'angolo iridocorneale, con conseguente aumento del drenaggio dell'umore acqueo attraverso il trabecolato (Maggs et al., 2008).

La pilocarpina è un agente parasimpaticomimetico ad azione diretta. Agisce in modo diretto sulla componente muscolare dello sfintere pupillare e del corpo ciliare, anche nell'occhio denervato. Gli effetti clinici principali sono quindi la riduzione della pressione intraoculare (attualmente sostituita da altri farmaci topici: inibitori dell'anidraasi carbonica e analoghi delle prostaglandine), la miosi e il miglioramento del deflusso dell'umor acqueo. L'effetto della pilocarpina sulla componente secretoria è stato sfruttato anche in corso di KCS via topica o sistemica, sebbene i farmaci che modulano le cellule T (ciclosporina, tacrolimus) risultano più efficaci e con minori effetti collaterali (Maggs et al., 2008).

Diverse formulazioni sono presenti in commercio (1%, 2%, 4%) e maggiormente utilizzata nel cane è quella all'1% (Maggs et al., 2008).

Il sovradosaggio di pilocarpina applicata per via topica o sistemica provoca salivazione, vomito, diarrea, incontinenza urinaria, iperemia congiuntivale, irritazione locale (a causa del basso pH), uveite tossica e aritmie cardiache (Maggs et al., 2008).

In considerazione del suo meccanismo d'azione, la pilocarpina è stata impiegata in corso di forme neurogene di KCS nel cane (Maggs et al., 2008). In questi pazienti di solito la patologia risulta monolaterale e in alcuni casi mal rispondono alla terapia con ciclosporina topica (Grahm & Storey, 2004). La pilocarpina può essere utilizzata localmente in forma diluita in lacrime artificiali (0,125% o 0,25%) somministrate ogni 6-8 ore (Maggs et al., 2008) o per via orale una goccia per 10 kg di peso corporeo di una soluzione all'1% o al 2% mescolata al cibo dell'animale due volte al giorno (Maggs et al., 2008; Moore, 1999). La dose può essere aumentata gradualmente (incrementi di 1 goccia ogni 2-3 giorni) fino allo sviluppo di segni di tossicità sistemica (ad es. salivazione, vomito, diarrea) o fino alla comparsa dei sintomi, determinando un aumento dei valori di STT-1 (Moore, 1999). Lo STT-1 deve essere monitorato frequentemente nel corso di diversi mesi di terapia per valutare l'efficacia nella stimolazione delle ghiandole lacrimale (Maggs et al., 2008).

Smith et al. nel 1994 studiarono la produzione lacrimale in cani sani in seguito alla somministrazione topica di pilocarpina a diverse concentrazioni (0,25%, 1%, 2%). Gli autori non riportarono alcuna differenza statisticamente significativa nella produzione lacrimale acquosa nell'occhio trattato con pilocarpina rispetto all'occhio non sottoposto a trattamento (Smith et al., 1994).

In un altro lavoro retrospettivo, la somministrazione combinata di ciclosporina topica, sostituti lacrimali e pilocarpina sistemica (colliri somministrati per via orale con pilocarpina 1-2%: 1 goccia ogni 10kg due volte al giorno) era effettuata per il trattamento della KCS neurogena in 11 cani. Un numero di 5 cani su 10 guarì dopo un tempo medio di trattamento con pilocarpina di 125 giorni (range 84-204 giorni). Informazioni più dettagliate, soprattutto in merito al follow up, mancano a causa della natura retrospettiva dello studio (Matheis et al., 2012).

Wegg et al. nel 2019 hanno pubblicato uno studio retrospettivo in 11 cani affetti da KCS neurogena unilaterale trattati con pilocarpina somministrata per via topica (0,1% ogni 6 ore) e/o sistemica (2%, dose iniziale di 1 goccia ogni 10 kg due volte al giorno). Il 63,6% dei pazienti dimostrò un recupero ottimale con valori di STT-1 in range di normalità in un periodo di 24 ± 5.1 giorni di trattamento. Gli effetti collaterali includevano iperemia congiuntivale e blefarospasmo in seguito alla somministrazione della soluzione oftalmica, ed effetti avversi sistemici in seguito alla somministrazione di pilocarpina orale, come scialorrea, vomito, debolezza, diarrea e rigurgito. Sta di fatto che in tale studio diversi farmaci aggiuntivi (ciclosporina, tacrolimus) furono somministrati insieme al trattamento con pilocarpina, rendendo gli effetti del singolo farmaco poco chiari (Wegg, 2020).

Galley et al. nel 2022 hanno pubblicato una serie di casi clinici di cani affetti da KCS neurogena il cui trattamento era incentrato sull'uso della sola pilocarpina, della pilocarpina $\pm$ un lacrimostimolante (ciclosporina, tacrolimus), o solo lacrimostimolante (tre gruppi di trattamento) (Galley et al., 2022). Ai cani trattati con pilocarpina orale al 2% è stata somministrata una dose di una goccia ogni 10 kg, che variava da una a tre volte al giorno. La maggior parte delle dosi aumentava di una goccia ogni 1-3 giorni fino a quando non venivano notati effetti collaterali sistemici (ipersalivazione, vomito e diarrea), per ritornare ai dosaggi precedenti.

Undici casi con follow-up sono risultati responsivi (48%) con risoluzione dei segni clinici in un tempo mediano di 4 mesi (1-10), e tutti sono stati trattati con pilocarpina orale ($\pm$ lacrimostimolante) (Galley et al., 2022).

- Carlson, A. B., & Kraus, G. P. (2024). Physiology, Cholinergic Receptors.
- Cifuentes, M., Del Barrio-Díaz, P., & Vera-Kellet, C. (2018). Pilocarpine and artificial saliva for the treatment of xerostomia and xerophthalmia in sjögren syndrome: a double-blind randomized controlled trial. *British Journal of Dermatology*, 179(5), 1056–1061.
- Curia, G., Longo, D., Biagini, G., Jones, R. S. G., & Avoli, M. (2008). The pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Journal of Neuroscience Methods*, 172(2), 143–157.
- Davies, A. N., & Thompson, J. (2015). Parasympathomimetic drugs for the treatment of salivary gland dysfunction due to radiotherapy. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 10.
- Galley, A. P., Beltran, E., & Tetas Pont, R. (2022). Neurogenic keratoconjunctivitis sicca in 34 dogs: a case series. *Veterinary Ophthalmology*, 25(2), 140–152.
- Grahn, B. H., & Storey, E. S. (2004). Lacrimostimulants and lacrimomimetics. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 34(3), 739–753.
- Hancock, J. (2007). Pilocarpine. In B. D. Enna SJ (Ed.), *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference* (pp. 1–7). Elsevier.
- Maggs, D. J., Miller, P. E., Ofri, R., & Slatter, D. H. (2008). *Slatter's fundamentals of veterinary ophthalmology*.
- Matheis, F. L., Walser-Reinhardt, L., & Spiess, B. M. (2012). Canine neurogenic keratoconjunctivitis sicca: 11 cases (2006–2010). *Veterinary Ophthalmology*, 15(4), 288–290.
- Moore, C. P. (1999). Diseases and surgery of the lacrimal secretory system. *Veterinary Ophthalmology*, 583–607.
- Murube, J. (2005). Pilocarpine and Tear Secretion. *The Ocular Surface*, 3(3), 119–125. [https://doi.org/10.1016/S1542-0124\(12\)70194-5](https://doi.org/10.1016/S1542-0124(12)70194-5)
- Panarese, V., & Moshirfar, M. (2023). Pilocarpine.
- Smith, E. M., Biankminci, N. C., & Farver, T. B. (1994). Effect of topical pilocarpine treatment on tear production in dogs. *JOURNAL-AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION*, 205, 1286.
- Soares de Souza, G. (1851). Manuscript. First complete printed edition in Lisbon: Academia Real das Ciências. (pp. 1581–1587).
- Tanasiewicz, M., Hildebrandt, T., & Obersztyn, I. (2016). Xerostomia of various etiologies: A review of the literature. *Advances in Clinical and Experimental Medicine: Official Organ Wroclaw Medical University*, 25(1), 199–206.
- Wegg, M. L. (2020). A retrospective evaluation of systemic and/or topical

pilocarpine treatment for canine neurogenic dry eye: 11 cases.
Veterinary Ophthalmology, 23(2), 341–346.
<https://doi.org/10.1111/VOP.12731>.

Capitolo 5

Parte sperimentale

5.1 Lesioni Corneali e Valutazione Quali-quantitativa del Film Lacrimale del Cane in corso di Anestesia Generale: confronto tra due Trattamenti Topici di Protezione Corneale

In medicina umana le abrasioni corneali rappresentano la principale complicanza oculare perioperatoria. Il tasso cumulativo di abrasione corneale stimato è pari allo 0,64% (intervallo di confidenza al 95% 0,36 - 1,35) (Papp et al., 2019).

Nel cane, l'incidenza delle lesioni corneali in seguito ad anestesia generale per procedure non oftalmiche è stata riportata in alcuni lavori. Park et al. nel 2013 registrarono l'insorgenza di ulcere corneali perioperatorie nell'1,9 % dei soggetti (Y. W. Park et al., 2013). Dawson & Sanchez valutarono che il 19,1% di soggetti sottoposti a chirurgia non oftalmica, trattati a scopo preventivo con somministrazione intraoperatoria di caramellosa sodica topica ogni 2-4 ore, presentava lesioni corneali (18,6% abrasioni, 0,5% ulcere corneali) (Dawson & Sanchez, 2016).

Di Palma et al. hanno evidenziato la presenza di abrasioni corneali nel 10% dei soggetti sottoposti a chirurgie non oftalmiche in anestesia generale, in cani trattati con tre diversi lubrificanti oculari somministrati topicamente ogni ora nel corso dell'anestesia (Di Palma et al., 2020); una percentuale lievemente inferiore (8%) di abrasioni corneali è stata descritta da Ioannides et al. in cani trattati con carbomer topico associato o meno all'uso di un tape oculare (Ioannides et al., 2022).

È noto, infatti, che l'anestesia generale sopprime importanti riflessi protettivi per la superficie oculare (riflesso palpebrale e corneale), provoca lagofalmo e riduce la produzione lacrimale sia nell'uomo che nel cane (Dawson & Sanchez, 2016; Di Palma et al., 2020; Kaye et al., 2019).

È stato concluso che la conseguente instabilità del FLP e la cheratopatia da esposizione, insieme a potenziali traumi meccanici e chimici, possono, quindi, determinare la comparsa di lesioni corneali (Papp et al., 2019).

Diverse strategie, pertanto, sono state proposte al fine di proteggere la cornea del cane durante l'anestesia generale (Ioannides et al., 2022) e, allo stato attuale, la prevenzione è legata principalmente all'impegno di sostituti lacrimali (Grubb et al., 2020). Questi ultimi sono abitualmente utilizzati per conferire maggiore stabilità al FLP in caso di anomalie quantitative e/o qualitative, nonché promuovere processi di guarigione in corso di lesioni corneali (Grahn & Storey, 2004). La loro azione è essenzialmente quella di svolgere un'attività lacrimomimetica in un contesto, come quello

dell'anestesia generale, caratterizzato da una notevole riduzione della produzione lacrimale basale e riflessa (Herring et al., 2000).

Risultano assenti, invece, in letteratura, studi mirati a valutare gli effetti sulla cornea, in corso di narcosi, di trattamenti topici lacrimostimolanti, come la pilocarpina.

Inoltre, benché molti lavori descrivano le alterazioni quantitative relative alla produzione lacrimale sierosa nel cane in anestesia generale (Raušer et al., 2022), ad oggi mancano studi sulle valutazioni qualitative del FLP associate alla cheratopatia da esposizione che si verifica in anestesia.

Lo scopo dello studio è stato quello di valutare le variazioni indotte dall'instillazione topica di pilocarpina al 2% su alcuni parametri relativi al FLP (STT-1, BUT, osmolarità) e sui valori di Pressione Intraoculare (PIO) in cani non-brachicefalici sottoposti ad anestesia generale per procedure non oftalmiche, e di paragonare l'effetto protettivo sull'epitelio corneale di tale collirio lacrimostimolante rispetto ad un sostituto lacrimale a base di acido ialuronico allo 0,25%.

5.2 Materiali e metodi

Il progetto di ricerca ha previsto uno studio clinico, randomizzato, cieco, a gruppi paralleli, approvato dall'Organismo Preposto al Benessere Animale dell'Università degli Studi di Napoli "Federico II" (PG/2021/0000969 del 07/01/2021). Lo studio è stato svolto presso l'Ospedale Veterinario Universitario Didattico (OVUD) del Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali dell'Ateneo "Federico II" di Napoli.

Tutti i proprietari dei cani arruolati hanno firmato un consenso informato scritto.

5.2.1 *Animali*

I pazienti inclusi nello studio erano cani di età superiore o uguale ai 6 mesi, sottoposti a chirurgia elettiva, e con una classe ASA (American Society of Anesthesiologists) I/II.

I criteri di inclusione erano: valori basali di STT-1 ≥ 15 mm/min, assenza di qualsiasi trattamento oculare per almeno 2 mesi prima dell'inizio dello studio e assenza di anomalie corneali in anamnesi o rilevate mediante la visita clinica specialistica.

Cani con patologie oculari pregresse o appartenenti a razze brachicefaliche sono stati esclusi.

La valutazione preanestetica comprendeva per tutti i cani un esame fisico, esame emocromocitometrico e profilo biochimico sierico. Ai pazienti di età superiore agli 8 anni o con alterazioni riscontrate alla visita preanestetica è stata richiesta una visita cardiologica specialistica.

5.2.2 *Esame oftalmologico*

L'esame oftalmologico era effettuato da un singolo operatore, non informato circa il trattamento, ed includeva: esame neuro-oftalmico, STT-I (Dina-HitexSpol, Bucovice, CZ), esame con lampada a fessura (KowaSL-15, Kowa Company Ltd., Japan) senza impiego di agenti midriatici, valutazione dell'osmolarità del FLP mediante osmometro I Pen (I-Med Pharma, Dollard-des-Ormeaux, QC, Canada), BUT (Taurun Enterprises-Optitech Eyecare, Prayagraj, IND), valutazione della pressione intraoculare (IOP) tramite tonometro Icare TONOVET (Icare Finland Oy, Helsinki, Finlandia) test di colorazione oculare con fluoresceina (Taurun Enterprises-Optitech Eyecare, Prayagraj, IND) e test di colorazione con verde di lissamina (Dina-HitexSpol, Bucovice, CZ).

Le valutazioni su ciascun occhio sono state effettuate in maniera randomizzata.

Lo STT-1 è stato valutato posizionando la striscia di carta bibula sterile nella parte laterale della palpebra inferiore per 1 minuto; la parte bagnata della striscia è stata misurata in mm/min utilizzando la gradazione presente sulla striscia stessa.

Un osmometro I-PEN Osmolarity System è stato utilizzato per misurare l'osmolarità del FLP (OSM), valutando l'impedenza elettrica tramite sensori monouso. La misurazione è avvenuta secondo le istruzioni del produttore: il sensore del dispositivo è stato posizionato con un angolo di 30-45 gradi rispetto al piano orizzontale sulla congiuntiva all'interno della palpebra inferiore (I-Med Pharma Inc, 2016).

La misurazione della IOP è stata eseguita tramite dispositivo Icare TONOVET (Icare Finland Oy, Helsinki, Finlandia) secondo le istruzioni del produttore.

Il BUT è stato valutato utilizzando strisce di fluoresceina sodica diluite con 0,3 ml di soluzione salina sterile (in una siringa). Una goccia di fluoresceina diluita è stata instillata sulla superficie oculare e, successivamente, le palpebre sono state chiuse. Dopo l'apertura delle palpebre, la cornea è stata osservata utilizzando il filtro blu cobalto della lampada a fessura. Il BUT è stato misurato utilizzando un cronometro per stabilire il tempo tra l'apertura della palpebra e lo sviluppo della prima area di rottura del film lacrimale sulla cornea (Faghihi et al., 2022).

Per i test colorimetrici della superficie oculare sono stati impiegati fluoresceina (per evidenziare la presenza di disepitelizzazioni corneali) e verde di lissamina (per evidenziare la presenza di cellule epiteliali corneali devitalizzate). Una positività ai test colorimetrici è stata registrata come lesione oculare e quindi ha determinato la conseguente esclusione dallo studio.

5.2.3 Trattamento e Protocollo di Studio

Tutti i valori ottenuti per ogni singolo occhio in fase preanestetica sono stati registrati come valori basali (T-0).

Dopo la valutazione oftalmologica, i soggetti sono stati assegnati in maniera randomizzata (www.randomizer.org) ad uno dei due gruppi da trattare con diverso trattamento oculare durante l'anestesia generale. In particolare: gruppo HA trattato con acido ialuronico allo 0.25% (Lacrivet, Aurora Biofarma, Milano, Italia); gruppo P trattato con pilocarpina 2% (Pilocarpina Cloridrato Allergan 20mg/ml collirio, Allergan S.p.A., Roma, Italia).

Il protocollo anestetico è stato scelto dall'anestesista in base al paziente e alla procedura programmata.

Gli agenti di premedicazione inclusi sono stati dexmedetomidina, medetomidina, acepromazina, ketamina, metadone o una combinazione di queste molecole; gli agenti di induzione sono stati propofol, oppure è stata prescelta una coinduzione con propofol e midazolam.

Come agenti di mantenimento dell'anestesia generale sono stati utilizzati l'isoflurano o il sevoflurano. Alcuni pazienti, inoltre, hanno ricevuto blocchi nervosi periferici preoperatori con bupivacaina 0,25% - 0,5%.

Le misurazioni dello STT-1 sono state ripetute subito dopo l'induzione e l'intubazione endotracheale (T-int) e, successivamente, ogni ora di anestesia (T-1h e T-2h), fino all'estubazione (T-est).

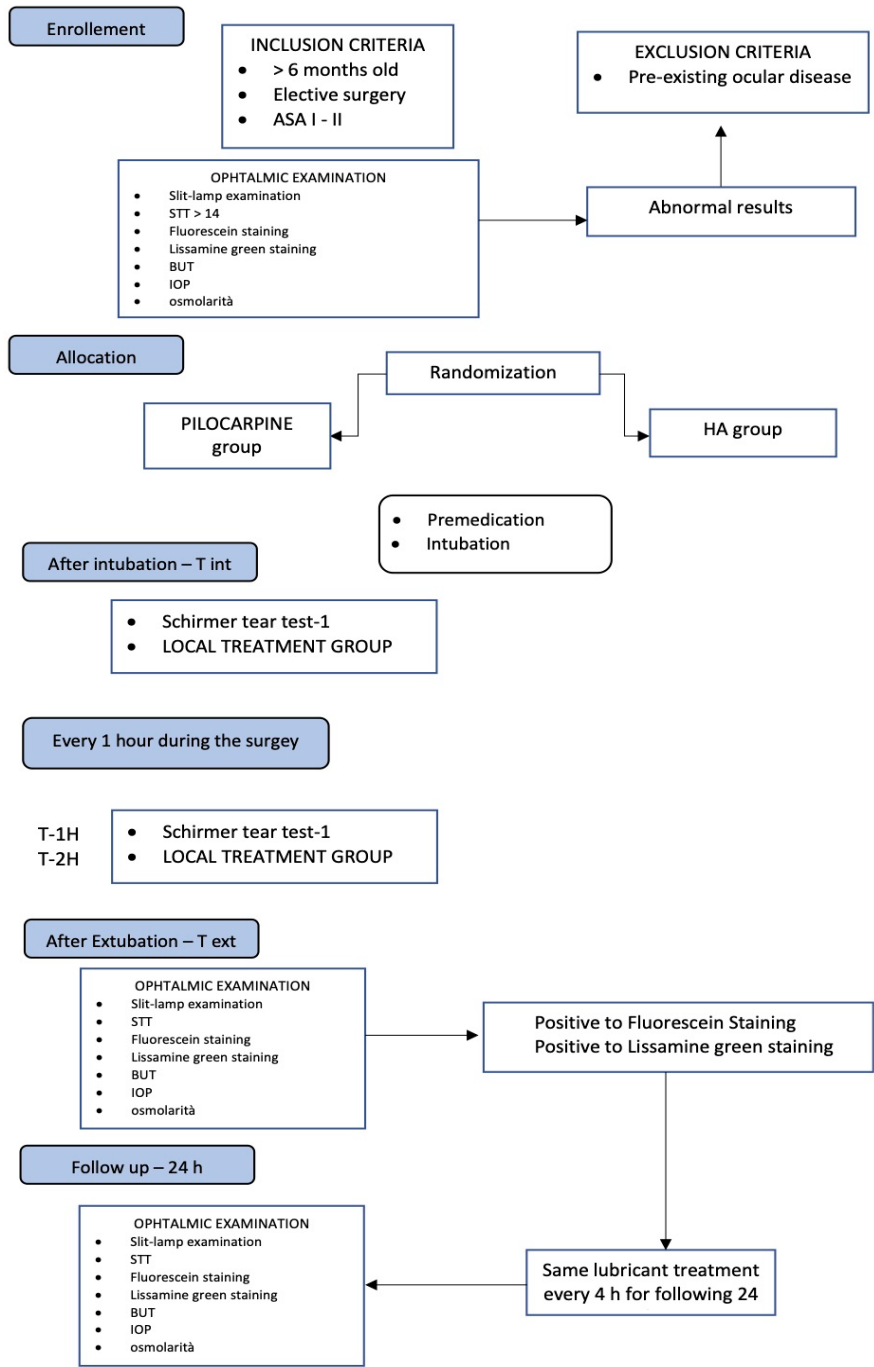
Dopo ogni misurazione della produzione lacrimale (T-int, T-1h, T-2h) è stata somministrata una goccia del trattamento (P - HA) secondo il gruppo di appartenenza del paziente.

È stata adottata la stessa tecnica di istillazione per entrambi i trattamenti: una singola goccia di prodotto è stata erogata direttamente sulla congiuntiva oculare evitando il contatto palpebrale, dopo aver occluso il condotto lacrimale premendo leggermente sull'angolo mediale della palpebra.

Durante la procedura anestesiológica è stato garantito un monitoraggio assiduo del paziente.

Lo stesso operatore che ha effettuato la visita oftalmologica basale ha ripetuto l'esame oftalmologico completo a fine anestesia, subito dopo l'estubazione (T-est) e, nuovamente, dopo 24 ore dalla fine dell'anestesia. A tutti i pazienti è stato proposto il ricovero di 24h post-intervento presso l'OVUD.

Tabella 4 – Diagramma di flusso decisionale dello studio clinico in esame.



In caso di erosione corneale (positività alla fluoresceina, positività al verde di lissamina), evidenziatasi al termine dell'anestesia, il paziente, nel corso del ricovero, è stato sottoposto a trattamento con lubrificante oculare (acido ialuronico allo 0,25%; Lacrivet, Aurora Biofarma, Milano, Italia) ogni 4 ore per le successive 24 ore.

Qualora fosse stata riscontrata l'insorgenza di ulcera corneale, al lubrificante oculare sarebbe stata aggiunta una terapia antibiotica topica somministrata ogni otto ore.

Per ciascun occhio risultato positivo al test del colorante vitale, sono state registrate la dimensione e la posizione delle lesioni evidenziate. A tale scopo la superficie corneale è stata idealmente divisa in tre segmenti orizzontali come descritto da Wan T. et al. (Wan 2014): per ciascuno di questi segmenti sono state registrate la posizione (mediale, centrale, o laterale) e la profondità (abrasione o ulcerazione) della lesione corneale.

Nel periodo perioperatorio tutti i pazienti inclusi nello studio hanno ricevuto una terapia antibiotica (Cefazolina 20 mg/kg EV ogni 12 ore) ed una terapia antinfiammatoria (Meloxicam 0,2 - 0,1 mg/kg SC ogni 24 ore).

L'eventuale somministrazione di ulteriori farmaci analgesici (oppioidi) o sedativi durante il periodo di degenza è stata opportunamente registrata.

5.2.4 Analisi Statistica

Tutti i dati numerici sono stati registrati utilizzando un foglio di calcolo computerizzato (Microsoft Excel).

L'analisi statistica è stata effettuata con il software Python.

È stato utilizzato il test di Mann – Whitney per confrontare i due gruppi (P – Pilocarpina; HA – Acido Ialuronico) per i seguenti parametri: STT-1, BUT, IOP, OSM; lo stesso test è stato effettuato per valutare la correlazione tra le lesioni e la durata dell'anestesia, il peso e l'età del soggetto affetto. Invece, per valutare la differenza tra il gruppo P e HA in merito alla presenza di lesioni corneali o alla somministrazione di atropina è stato utilizzato il test del Chi-quadrato.

All'interno di ciascun gruppo è stato utilizzato il test di Wilcoxon Signed-Rank per valutare le differenze tra le singole variabili (STT-1, IOP, BUT, Osmolarità) nei vari tempi considerati (T-0, T-int, T-1h, T-2h, T-est, T-24h). Per stabilire eventuali correlazioni tra il valore OSM e STT-1 a T-0 è stato impiegato il coefficiente di correlazione di Spearman.

Sono stati considerati significativi in tutte le analisi i valori di $p < 0,05$.

5.3 Risultati

Sono stati inclusi nello studio trenta cani (60 occhi).

L'età mediana dei soggetti arruolati era di 3 anni (range: 6 mesi – 11 anni); la popolazione in esame era rappresentata da 16 femmine (8 sterilizzate e 8 intere) e 14 maschi interi. Il peso mediano era 12 kg (range: 2 – 40 kg).

Era presente, inoltre, una notevole variabilità di razze: 11 Meticci, 5 Barboncini, 3 Labrador Retriever, 3 Pittbull, 2 Chihuahua, 1 Bassotto, 1 Jack Russell, 1 Maltese, 1 Pastore Maremmano, 1 Hovawart, 1 Pinscher.

Le procedure chirurgiche a cui i soggetti sono stati sottoposti erano diverse, ma in misura maggiore sono state effettuate procedure ortopediche (23 chirurgie ortopediche – 76%; 1 neurochirurgia – 3%; 6 chirurgie dei tessuti molli – 21%).

La durata mediana dell'anestesia è risultata essere di 113 minuti (range: 45 – 212 minuti). I decubiti registrati durante la procedura chirurgica sono stati: 73% dorsale, 20% laterale e 7% sternale.

I gruppi non differivano per età, sesso, peso e durata dell'anestesia.

In 10 cani sono stati somministrati oppioidi (buprenorfina, metadone) nell'immediato postoperatorio: 6 cani del gruppo HA, 4 cani del gruppo P. Nessun sedativo è stato somministrato ai cani in esame nell'immediato postoperatorio.

Le differenze tra i due gruppi P e HA sono state valutate per ogni valore (STT-1, BUT, OSM, IOP, positività lissamina, positività fluoresceina) nei diversi tempi ed è stata riscontrata significatività esclusivamente per i valori di STT-1 (che sono risultati superiori nel gruppo P) nei seguenti momenti: T-1h, T-2h (p-Value<0,05), T-est (p-Value<0,001).

I valori medi di STT-1 nei diversi tempi nei due gruppi sono riportati in Tabella 5.

Nessuna differenza significativa tra i gruppi è stata trovata in tutti i tempi per gli altri valori sia per l'occhio sinistro sia per l'occhio destro.

Tabella 5. STT-1 (mm/min): Schirmer Tear Test-1; OS: occhio sinistro; OD: occhio destro; (mediana; range); * differenza significativa tra i gruppi P e HA con p-value < 0,05; ** differenza molto significativa con p-value < 0,001.

STT-1 (mm/min)				
Tempo	Pilocarpina		Acido ialuronico	
	OS	OD	OS	OD
T-0	17 (15 - 27)	20 (15 - 28)	19 (14 - 36)	20 (15 - 28)
T-int	6 (0 - 21)	7 (0 - 16)	8 (0 - 18)	6 (0 - 14)
T-1h *	19,5 (8 - 25)	20 (0 - 30)	6 (0 - 15)	3,5 (0 - 11)
T-2h *	23 (14 - 32)	18 (3 - 25)	5 (0 - 9)	5 (0 - 6)
T-est **	18 (5 - 25)	17 (3 - 25)	4 (0 - 15)	5 (1 - 17)
T-24h	18 (10 - 26)	18,5 (2 - 30)	16 (10 - 27)	15 (6 - 28)

Inoltre, all'interno dello stesso gruppo sono state valutate le differenze tra i valori di STT-1, BUT, IOP, OSM nei diversi tempi.

Nel gruppo P una differenza significativa per entrambi gli occhi è stata riscontrata sia tra i valori basali di STT-1 rispetto a quelli rilevati subito dopo l'intubazione, sia tra i valori di STT-1 dopo l'intubazione e quelli registrati al momento dell'estubazione.

Nel gruppo HA una riduzione significativa per entrambi gli occhi è stata riscontrata tra i valori basali (T0) di STT-1 e quelli a diversi tempi (T-int, T-1h, T-est, t-24h).

In merito al BUT (Tabella 6), l'analisi delle misurazioni all'interno dei singoli gruppi nei vari tempi per entrambi gli occhi ha suggerito una tendenza verso una diminuzione dei valori registrati ma non tale da essere statisticamente significativa.

Tabella 6 – BUT: Break up Time; OS: occhio sinistro; OD: occhio destro; (mediana; range).

BUT (secondi)				
Tempo	Pilocarpina		Acido ialuronico	
	OS	OD	OS	OD
T-0	15 (5 - 25)	16 (5 - 28)	20 (7 - 24)	20 (7 - 23)
T-est	10 (7 - 15)	9 (0 - 10)	16 (2 - 26)	17(2 - 30)
T-24h	9 (4 - 14)	9 (6 - 12)	20 (5 - 30)	20 (4 - 25)

La pressione intraoculare dell'occhio destro ha mostrato variazioni significative (riduzione) solo nel gruppo Pilocarpina al tempo t-24h rispetto ai valori basali (Tabella 7).

Tabella 7 - IOP: Pressione intraoculare; OS: occhio sinistro; OD: occhio destro; (mediana; range).

IOP (mmHg)				
		<i>Pilocarpina</i>	<i>Acido ialuronico</i>	
Tempo	OS	OD	OS	OD
T-0	21 (10 - 25)	19 (11 - 26)	18,5 (11 - 28)	19 (10 - 25)
T-est	18 (14 - 25)	17 (14 - 25)	15 (7 - 28)	17 (8 - 29)
T-24h	14 (9 - 25)	15 (9 - 20)	17 (9 - 26)	18 (9 - 24)

In merito all'osmolarità (Tabella 8), l'analisi delle misurazioni all'interno dei singoli gruppi nei tempi T-est e T-24h rispetto ai valori basali non ha riportato nessuna differenza significativa per entrambi gli occhi.

Tabella 8 – OSM: osmolarità del FLP; OS: occhio sinistro; OD: occhio destro; (mediana; range).

OSM (mOsm/L)				
		<i>Pilocarpina</i>	<i>Acido ialuronico</i>	
Tempo	OS	OD	OS	OD
T-0	288 (275 - 307)	295 (275 - 369)	293 (283 - 338)	293 (281 - 320)
T-est	295 (272 - 369)	294 (272 - 340)	297 (282 - 344)	297 (275 - 340)
T-24h	305 (284 - 329)	291 (276 - 329)	290 (276 - 335)	303,5 (275 - 355)

Inoltre, l'analisi ha evidenziato una correlazione debole e non statisticamente significativa riguardo all'ipotesi di una correlazione inversa tra i valori dell'osmolarità e quelli dello STT-1 in T0.

Subito dopo l'estubazione (T-est) la positività alla fluoresceina è stata riscontrata in 7 occhi (4 OS; 3 OD) con una percentuale totale di lesioni dell'11,7%; il 71% (n= 5/7) delle erosioni sono state riscontrate nel gruppo HA mentre il 29% nel gruppo P (n= 2/7).

Invece, a 24 ore (T-24h), erosioni corneali si sono evidenziate in 9 occhi (3 OS; 6 OD) con una percentuale del 15%; il 78% (n= 7/9) delle erosioni sono state riscontrate nel gruppo HA mentre il 22% nel gruppo P (n= 2/9).

Il maggior numero di casi di positività alla fluoresceina riscontrato nel gruppo HA rispetto al gruppo P, tuttavia, non ha evidenziato significatività statistica.

La positività al verde di lissamina è stata riscontrata a T-24h solo in 2 occhi dello stesso cane appartenente al gruppo HA (con una percentuale del 3% sul totale degli occhi esaminati).

Tutte le lesioni riscontrate sono risultate erosioni corneali; nessuna ulcera corneale è stata diagnosticata.

In merito alle erosioni corneali dell'immediato postoperatorio (T-est), una lesione era localizzata nel segmento superiore (Figura 1); tre erosioni di forma lineare disposte orizzontalmente, invece, erano localizzate nel segmento centrale; tre occhi presentavano una lesione lineare verticale (una localizzata nella parte centrale, una nella parte laterale della superficie corneale), occupando due segmenti orizzontali (centrale e superiore).



Figura 7- Erosione corneale localizzata nel quadrante superiore

Di queste, 4/7 erosioni (il 57% delle erosioni diagnosticate a T-est) sono risultate guarite nelle immediate 24 ore successive (T-24h).

A T-24h le erosioni diagnosticate erano principalmente lineari orizzontali e localizzate nel segmento centrale (5/9 occhi), una era estesa diffusamente a tutti i segmenti (superiore, centrale, inferiore) (Figura 2), una si presentava come una lesione puntiforme laterale localizzata nel segmento superiore e due come lesioni laterali verticali (Figura 3) occupanti il segmento orizzontale superiore e centrale.



Figura 8 - Erosione corneale estesa

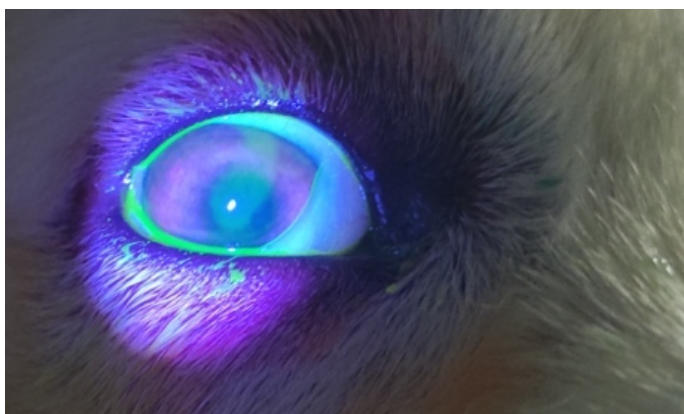


Figura 9 – Erosione corneale laterale verticale occupante il segmento orizzontale superiore e centrale.

A T-24 le lesioni diagnosticate con verde di lissamina (2 occhi) erano anche queste lineari centrali orizzontali.

Gran parte delle lesioni corneali sono guarite nelle successive 24 ore, tranne che per un paziente con erosione corneale bilaterale risultato positivo alla fluoresceina dopo ulteriori 24 ore da T-24h e negativo al controllo clinico effettuato dopo sette giorni dalla chirurgia.

In merito al decubito, le lesioni a T-est appartenevano a pazienti posizionati nell'86% in decubito dorsale e nel 14% in decubito laterale; gli occhi con

lesioni a T-24h appartenevano a pazienti posizionati nel 78% in decubito dorsale, nell'11% in decubito laterale e nell'11 in decubito sternale.

Le lesioni a T-est, inoltre, sono state individuate nel 100% dei casi in corso di procedure ortopediche; a T-24h le lesioni sono state diagnosticate nell'89% in pazienti che erano stati sottoposti a procedure ortopediche e nell'11% in pazienti che erano stati sottoposti a neurochirurgie.

La somministrazione di oppioidi nell'unità di terapia intensiva è stata registrata solo in uno dei pazienti che ha presentato un'erosione corneale a 24 ore (n= 1/9; 11%).

Inoltre, il 29% delle lesioni a T-est e il 44% delle lesioni a T-24h è stato riscontrato in soggetti a cui era stata somministrata atropina intraoperatoria. La durata dell'anestesia, il peso e l'età del paziente non hanno mostrato una correlazione statistica con la presenza di lesioni all'interno dei singoli gruppi. Negli animali in cui è stata registrata la presenza di lesioni corneali a T-est e a T-24h, la durata mediana dell'anestesia è stata di 110 min (105 – 212 min).

Nel gruppo pilocarpina in fase di risveglio, in due pazienti è stata osservata la presenza di un accumulo di secrezione oculare mucosa bilaterale, in due pazienti una miosi marcata bilaterale (Figura 10), ed in un paziente scialorrea ed iperemia congiuntivale (Figura 11).

Tali segni clinici non sono stati riscontrati alla visita clinica svolta a 24 ore dalla fine dell'anestesia.



Figura 10 - Miosi.



Figura 11 – Miosi e iperemia congiuntivale

La somministrazione di anticolinergici (atropina) come trattamento di bradiaritmie è stata necessaria in 5 pazienti (3 gruppo HA; 2 gruppo P); non è stata evidenziata alcuna differenza significativa statisticamente nella distribuzione tra il gruppo P e il gruppo HA della variabile atropina.

5.4 Discussione

È comprovato che l'anestesia generale determina una riduzione della produzione lacrimale nel cane (Herring et al., 2000), nel cavallo (Scarabelli et al., 2018), nell'uomo (Grixti et al., 2013) e in altre specie animali (Turner & Albassam, 2005).

Nel nostro studio tale effetto dell'anestesia generale sulla produzione lacrimale si è reso evidente al momento dell'induzione all'anestesia in entrambi i gruppi (STT-1 a T-int mediana OS – OD: 6 – 7 mm/min).

Sono state evidenziate, tuttavia, differenze significative in merito all'effetto dei due trattamenti testati (gruppo P e gruppo HA) sulla produzione acquosa lacrimale. In particolare, ad un'ora e a due ore di anestesia, nonché a fine anestesia (T-1h, T-2h, T-est), i cani trattati con pilocarpina 2% presentavano valori di STT-1 maggiori rispetto a quelli del gruppo trattato con acido ialuronico 0,25%.

Dall'analisi della produzione lacrimale nel gruppo trattato con la pilocarpina al 2% nei diversi tempi, infatti, non sono state registrate differenze statisticamente significative tra i valori basali e quelli successivi alla sua somministrazione, evidenziando dei valori di STT-1 nei range fisiologici a T-1h e a T-2h (T-1h mediana OS – OD: 19,5 – 20 mm/min; T-2h mediana OS – OD: 23 – 18 mm/min).

Per i cani che hanno ricevuto il lubrificante oculare, invece, una riduzione clinicamente significativa dei valori di STT-1 (STT-1 < 10 mm/min (Raušer et al., 2022) è stata registrata non solo in fase di induzione ma anche durante l'anestesia (T-1h, T-2h) fino al risveglio (T-est). Una riduzione statisticamente significativa rispetto ai valori basali, ma con valori più vicini ai range fisiologici, è stata, inoltre, dimostrata ancora a 24 ore dalla fine dell'anestesia.

I dati raccolti relativi ai valori di STT-1 intraoperatori per il gruppo HA sono in accordo con la letteratura veterinaria recente in cui la produzione sierosa lacrimale nel cane risulta ridursi in modo significativo durante l'anestesia (Di Palma et al., 2020; Herring et al., 2000b; Shepard et al., 2011). Ugualmente, il dato di una persistenza di valori di STT-1 inferiori a quelli basali anche a 24 ore dalla fine dell'anestesia trova riscontro nella letteratura precedente (Dawson & Sanchez, 2016).

L'impiego della soluzione oftalmica a base di acido ialuronico allo 0,25%, a protezione della superficie oculare nei cani sottoposti a narcosi, è stato stabilito in seguito ad uno studio pilota effettuato nel 2020 presso l'OVUD del Dipartimento di Medicina Veterinaria della "Federico II" di Napoli (Di

Palma et al., 2020). Nello studio in oggetto tre diverse formulazioni oftalmiche lubrificanti (collirio HA allo 0,25%, collirio di caramellosa sodica all'1%, gel oftalmico all'HA all'1%) erano state testate in corso di anestesia generale nel cane. Tutte le soluzioni sono risultate efficaci nell'evitare l'insorgenza di ulcere corneali; i cani trattati con la soluzione a base di HA allo 0,25%, tuttavia, presentavano valori di STT-1 più alti rispetto al gruppo caramellosa sodica all'1% ad 1 ora di anestesia, mentre più alti ad entrambi gli altri due gruppi a 24 ore dall'anestesia, suggerendo che con tale tipo di lubrificante si potesse ottenere maggiore umettamento della superficie corneale del cane in corso di anestesia.

In base ai nostri risultati, in corso di anestesia generale la somministrazione topica di pilocarpina al 2% ha determinato un recupero ottimale verso la normalità dei valori di STT-1, applicandola successivamente al decremento iniziale in fase di induzione. Nessun tipo di trattamento oculare protettivo ha mostrato lo stesso effetto sulla produzione lacrimale sierosa del cane in corso di anestesia generale (Dawson & Sanchez, 2016; Di Palma et al., 2020; Ioannides et al., 2022).

Non esistono ad oggi, secondo le nostre conoscenze, altri studi relativi all'effetto sulla produzione sierosa lacrimale della pilocarpina applicata topicamente in corso di anestesia generale.

La pilocarpina determina la sua azione principalmente a livello del sistema nervoso periferico, su cellule innervate da fibre colinergiche postgangliari. La sua azione sui recettori muscarinici avviene anche quando questi sono disconnessi dai loro centri neurovegetativi o in caso di degenerazione neurale (Murube, 2005). In corso di anestesia generale, la risposta autonoma è depressa comportando una mancata funzione dei nervi afferenti ed efferenti (Acosta et al., 2004). Inoltre, alcuni farmaci anestetici presentano un'attività vagolitica che riduce la stimolazione parasimpatica sulla ghiandola lacrimale (Wodey et al., 2003). In base ai nostri risultati, l'attività parasimpaticomimetica della pilocarpina sulla secrezione della ghiandola lacrimale si è resa efficace anche in condizione di anestesia generale.

Analizzando l'effetto della pilocarpina sulla pressione intraoculare (IOP), è stata riscontrata una riduzione della IOP statisticamente significativa solo a 24 ore post anestesia (mediana 15mmHg, range 9 – 20 mmHg) rispetto ai valori basali, ma non in maniera clinicamente rilevante (16.8 ± 3.2 (Passareli et al., 2021)). La pilocarpina, con la sua azione diretta sul muscolo ciliare, presenta un'attività miotica e di riduzione della pressione intraoculare marcata (Allerton, 2020). L'azione di sedativi e anestetici sulle variazioni

della pressione intraoculare nel cane è stata analizzata nella revisione sistematica di Pierce-Tomlin et al. nel 2020, stabilendo come siano ancora ampiamente sconosciuti gli effetti di alcuni sedativi e anestetici iniettabili o di combinazioni di questi (Pierce-Tomlin et al., 2020). Nei cani del nostro studio, l'effetto clinico prolungato della pilocarpina sulla pressione intraoculare, fino a 24 ore dalla fine dell'anestesia, potrebbe essere stato determinato dalla maggiore frequenza di applicazione rispetto a quelle riportate in letteratura (Allerton, 2020). Tuttavia, è interessante sottolineare che differenze statisticamente significative tra i due gruppi (HA e P) non sono state evidenziate nei valori di IOP registrati in tutti i tempi.

Il breakup time (BUT) fornisce informazioni qualitative sulla stabilità del FLP. Esso, in particolare, può fornire una valutazione indiretta della componente lipidica e mucinica delle lacrime (Gelatt, 2021; Moore, 1990). In base all'analisi statistica, differenze significative non si sono evidenziate tra i cani trattati con pilocarpina e quelli con acido ialuronico, ma dalla descrizione dei risultati è presente una tendenza all'accelerazione del BUT nei tempi successivi l'anestesia rispetto a quelli basali in entrambi i gruppi di trattamento, benché non significativa.

Inoltre, è stato dimostrato che il BUT dipende dalla riduzione della tensione superficiale da parte delle mucine e di altri agenti tensioattivi ma non tanto dalla quantità di contenuto acquoso nelle lacrime (Tiffany et al., 1998). Nel nostro studio, l'assenza di differenze tra i gruppi e nei diversi tempi potrebbe essere stata determinata da una sostanziale mancanza di alterazione qualitativa del FLP. Un lavoro svolto in gatti sani dimostra come il BUT diminuisca significativamente dopo 40 minuti di anestesia generale (Madruga et al., 2023). Inoltre, nel medesimo studio, l'applicazione topica di una goccia di acido ialuronico allo 0,15% è stata in grado di mantenere la stabilità del film lacrimale fino a 75 minuti negli occhi sottoposti a trattamento (Madruga et al., 2023). Infatti, l'acido ialuronico è stato associato ad un miglioramento del BUT anche in corso di sindrome dell'occhio secco nell'uomo rispetto all'uso della soluzione fisiologica, mentre si dimostra sovrapponibile l'effetto rispetto a quello di altre lacrime artificiali (Yang et al., 2021). Anche nel cane in corso di KCS, il BUT risulta migliorare in seguito all'applicazione di acido ialuronico allo 0,1%, dimostrando un tempo di permanenza di circa 30 minuti sulla superficie oculare in cani svegli (Madruga et al., 2018).

In merito alla frequenza di applicazione in anestesia generale nel cane, le linee guida AAHA per l'anestesia del cane e del gatto e lo studio di Dawson et al. hanno consigliato un'applicazione di prodotti lubrificanti topici circa

ogni due ore (Dawson & Sanchez, 2016; Grubb et al., 2020). Tuttavia, risulta importante considerare il tempo di ritenzione corneale dei diversi lubrificanti utilizzati per migliorare la stabilità del FLP; per esempio, pomate o formulazioni con alta viscosità registrano un tempo di permanenza superiore rispetto ad altre lacrime artificiali (Bedos et al., 2023). Eppure, secondo Bedos et al. (Bedos et al., 2023), anche le lacrime artificiali a base di acido ialuronico (glicosaminoglicano con reologia viscoelastica) hanno dimostrato un prolungato tempo di permanenza sulla superficie oculare. Infatti, le lacrime artificiali testate nel sopracitato studio (Bedos et al., 2023) a base di acido ialuronico allo 0,25% (I-Drop Vet Plus) presentavano un tempo di permanenza di 25 minuti. In cani svegli, però, il tempo di permanenza potrebbe essere minore rispetto a quelli in anestesia, in quanto la somministrazione di colliri aumenta bruscamente il volume totale sulla superficie oculare con un conseguente blocco dell'omeostasi e aumento del turnover lacrimale (50%/min) (Sebbag & Mochel, 2020). Pertanto, in anestesia potrebbe esserci un tempo di ritenzione maggiore per riduzione del volume totale e della produzione lacrimale riflessa. In seguito a tali considerazioni, in questo lavoro è stata utilizzata un'applicazione più frequente (ogni ora).

L'ampia variabilità dei risultati di BUT registrati è in linea con quanto espresso in letteratura (Faghihi et al., 2022; Moore, 1990; Saito et al., 2001; Sebbag et al., 2023; Seyer et al., n.d.), secondo cui tale misurazione risulta spesso imprecisa e difficilmente riproducibile (Vanley et al., 1977).

Per tale motivo, ad integrazione del BUT, nel seguente studio abbiamo valutato anche le variazioni di osmolarità, la quale fornisce informazioni sull'equilibrio della dinamica del FLP tra produzione – drenaggio – evaporazione (Tomlinson et al., 2006).

L'analisi dei risultati ha evidenziato l'assenza di differenze significative tra i valori di osmolarità misurata nei due gruppi di trattamento oltre che nei diversi tempi all'interno dello stesso gruppo. Inoltre, i valori basali di STT-1 e di osmolarità non hanno evidenziato una correlazione inversa statisticamente significativa (assenza di valori maggiori di osmolarità in pazienti con una produzione lacrimale acquosa basale minore).

In letteratura, diversi studi hanno valutato l'osmolarità del film lacrimale del cane in condizioni fisiologiche e in corso di cheratocongiuntivite secca (KCS) con due diversi dispositivi: TearLab e I-Pen. Il confronto dei due dispositivi per la misurazione non ha evidenziato differenze significative (Kim & Kim, 2023). Gran parte dei lavori hanno dimostrato una tendenza all'aumento dei valori di osmolarità in condizioni di KCS rispetto ai cani

sani (Brito et al., 2022; Lamkin et al., 2020; Williams & Buckingham, 2017), congruamente a quanto avviene nella sindrome dell’occhio secco in medicina umana(Craig et al., 2017).

Nella tabella (Tabella 4) successiva sono espressi i valori presenti in letteratura in merito all’osmolarità registrati nel cane e quelli presenti nel nostro lavoro:

Tabella 9. Valori osmolarità del FLP del cane presenti in letteratura e nel seguente lavoro.

Osmolarità Film Lacrimale nel Cane (mOsm/l) (media ± dv)				
	pazienti sani		pazienti KCS	
	TearLab	I-PEN	TearLab	I-PEN
Sebbag 2017	337,4 ± 16,2		306,2 ± 18	
Williams 2017	339 ± 23		350 ± 27	
			321,58 ±	
Lamkin2020	318,55 ± 15,87		17,39	
Brito 2022		315,27 ± 6,15		353,02 ± 16,58
Kim 2023	340,42 ± 15,87	321,58 ± 17,39		
STUDIO IN ESAME (mediana± range)				
T0 (P - HA) OS	291 (275 - 338)			
T0 (P - HA) OD	294 (275 - 320)			
P T-est OS	296 (272 - 369)			
P T-est OD	294 (272 - 373)			
HA T-est OS	297 (282 - 344)			
HA T-est OD	297 (275 - 340)			
P T-24h OS	305 (284 - 329)			
P T-24h OD	291 (276 - 329)			
HA T-24h OS	290 (276 - 335)			
HA T-24h OD	304 (275 - 355)			

A conoscenza degli autori, non esistono dati pubblicati sulle variazioni dell’osmolarità in anestesia generale.

La pilocarpina, quindi, ha determinato la produzione di un film lacrimale con un’osmolarità simile a quella dei valori basali. Ugualmente, il gruppo trattato con l’acido ialuronico non ha presentato modifiche sui valori di osmolarità. Infatti, l’ipotesi iniziale di un aumento dell’osmolarità in corso di anestesia generale a causa della perdita di equilibrio tra produzione ed evaporazione/drenaggio del film lacrimale non è stata suffragata. Tuttavia,

anche la scelta di una formulazione di acido ialuronico collirio isosmolare/iposmolare (collirio HA 0,25%, Lacrivet: 260-300 mOsm/Kg) potrebbe aver determinato un potenziale effetto diluente in corso di situazioni caratterizzate da un'elevata evaporazione del FLP e potenziale iperosmolarità (Baudouin et al., 2013).

Il seguente studio ha dimostrato l'assenza di differenze statisticamente significative tra l'applicazione topica di un lacrimostimolante (pilocarpina 2%) rispetto a quella di un lacrimomimetico (acido ialuronico allo 0,25%) nell'insorgenza di lesioni corneali (erosioni/ulcere) in corso di anestesia generale nel cane. Entrambi i trattamenti, inoltre, sono risultati protettivi al 100% nei confronti della formazione di ulcere corneali.

La positività alla fluoresceina è risultata dell'11,7% a T-est (71% HA; 29% P) e del 15% a T-24 (78% HA; 22% P).

Nell'immediato periodo postoperatorio, la percentuale di erosioni corneali descritta nel cane in altri studi, nei quali trattamenti di protezione corneale sono stati impiegati, è abbastanza in linea coi risultati ottenuti nel presente lavoro, e va dall'8% (Ioannides et al., 2022) al 10% (Di Palma et al., 2020). Nello studio di Dawson et al., il 18,6% degli occhi dei cani in esame sviluppò un'erosione corneale a 24 ore successive l'anestesia generale, mentre lo 0,5% presentò un'ulcera corneale. Anche in questo studio i cani erano stati sottoposti a trattamento con lubrificante topico a base di caramellosa sodica all'1% applicata circa ogni 2 ore a scopo preventivo. I valori risultano simili a quelli registrati nel nostro studio al medesimo tempo (15% a T-24h). Nel nostro caso, inoltre, c'è una lieve tendenza all'incremento delle lesioni corneali tra il risveglio e il controllo a 24 ore. Tale condizione potrebbe essere associata in parte anche alla gestione del paziente nell'unità di terapia intensiva. In medicina umana, la somministrazione di oppioidi è associata ad un rischio maggiore di erosioni/ulcere corneali, insieme a tanti altri fattori di rischio come la sedazione, la ventilazione a pressione positiva, la presenza di lagofalmo, la somministrazione di bloccanti neuromuscolari (Hartford et al., 2019). Nel nostro studio, la somministrazione di oppioidi nell'unità di terapia intensiva è stata effettuata solo in uno dei pazienti che ha presentato un'erosione oculare a 24 ore (n= 1/9). In medicina veterinaria, è stato associato il rischio di ulcere corneali in cani e gatti sottoposti a ventilazione a pressione positiva (PPV) nell'unità di terapia intensiva (Cagle et al., 2022). Chandler et al. hanno valutato invece una riduzione dei valori di STT-1 in pazienti canini

ricoverati, senza fornire, però, informazioni in merito all'esecuzione di test colorimetrici sulla totalità del campione in esame (presenza di erosioni/ulcere) (Chandler et al., 2013). L'insorgenza di tali lesioni nel nostro lavoro potrebbe essere stata determinata dalla condizione di cheratopatia da esposizione insorta nel periodo perioperatorio, da traumi diretti meccanici (museruole), dalla presenza di personale medico o studenti in formazione non adeguatamente informato e sensibile in merito alla tematica, dall'uso di dispositivi riscaldanti. In particolare, i dispositivi riscaldanti potrebbero determinare condizioni favorevoli per l'evaporazione del FLP. Infatti, il tasso medio di evaporazione del FLP a 25°C risulta il doppio di quello osservato a 10°C e triplicato rispetto ai valori registrati a 5°C in medicina umana (Abusharha et al., 2016). Tuttavia, uno studio condotto in neonati sottoposti a trattamento riscaldante con lampada a infrarossi non ha evidenziato l'insorgenza di complicanze a carico della superficie corneale (Baumgart et al., 1993)

Il verde di lissamina è un colorante organico ampiamente utilizzato in medicina umana, e risulta meno tossico e meno irritante rispetto al Rosa Bengala. Il suo impiego permette di visualizzare le cellule necrotiche o disvitali, anche in assenza del film lacrimale (a differenza del Rosa Bengala) (Gelatt, 2021), condizione potenzialmente presente in corso di anestesia generale. Pertanto, la bassa percentuale di positività a tale colorante evidenzia l'assenza di lesioni corneali associate ad una condizione di sofferenza corneale prolungata tale da indurre una necrosi cellulare. Il rilievo delle lesioni corneali positive alla fluoresceina, invece, è verosimilmente, dovuto a fattori traumatici. La positività al verde di lissamina è stata valutata in condizioni associate all'anestesia generale nel cane solo nello studio pilota antecedente (Di Palma et al., 2020): registrando dei valori percentuali simili (4% a T-est) allo studio in esame (3% a T-24h). Lo studio di Park et al. del 2013 ha fornito un esame sui possibili fattori di rischio per l'insorgenza di ulcere corneali perioperatorie nel cane, come: la durata dell'anestesia, il tipo di chirurgia (neurochirurgie) e la morfologia cefalica (cranio piccolo) (Park et al., 2013). Tali fattori sono in linea con quanto riportato in medicina umana (Grixti et al., 2013). Secondo Dawson et al., la durata dell'anestesia non è risultata determinante nell'insorgenza di erosioni o ulcere corneali in corso di anestesia generale nel cane (Dawson & Sanchez, 2016).

Nel nostro studio, la durata dell'anestesia e il peso non hanno mostrato una correlazione statistica con la presenza di lesioni all'interno dei singoli

gruppi. Negli animali in cui è stata registrata la presenza di lesioni corneali a T-est e a T-24h la durata mediana dell'anestesia è stata di 110 min (105 – 212 min).

In medicina umana, ulteriori fattori di rischio per l'insorgenza di lesioni corneali sono rappresentati dal decubito prono (Cucchiara & Black, 1988) e laterale, da procedure chirurgiche sulla testa e sul collo, e dall'età avanzata dei pazienti (Roth et al., 1996). Nel nostro studio, l'età del paziente non ha mostrato una correlazione statistica con la presenza di lesioni; il decubito dorsale è stato quello più registrato all'interno della popolazione e nel gruppo dei pazienti che ha riportato lesioni. Un solo cane sottoposto ad una procedura di neurochirurgia ha presentato una erosione corneale a T-24h. Maggiori studi dovrebbero essere effettuati per stabilire in maniera più accurata i fattori di rischio specifici nel cane nell'insorgenza delle lesioni corneali.

Nel nostro studio, il 29% delle lesioni a T-est e il 44% delle lesioni a T-24h sono avvenute in pazienti a cui era stata somministrata atropina intraoperatoria. Nel cane, è dimostrato che gli anticolinergici determinino una riduzione dello STT-1 (Herring et al., 2000a), tuttavia, secondo nostra conoscenza, non è presente in letteratura una correlazione statistica tra la somministrazione di atropina e la presenza di lesioni corneali in anestesia generale.

In merito agli effetti avversi della pilocarpina, in medicina veterinaria sono segnalati: iperemia congiuntivale, miosi e blefarospasmo in seguito alla somministrazione per uso oftalmico; scialorrea, vomito, debolezza, bradiaritmie, diarrea e rigurgito in seguito alla somministrazione per via orale (Allerton, 2020; Wegg, 2020). Nel nostro studio, non si sono evidenziate differenze significative tra i gruppi in merito alla somministrazione di atropina. Quindi, l'ipotesi della maggiore richiesta di simpaticomimetici nel gruppo trattato con pilocarpina, per possibili bradiaritmie, decade. In fase di risveglio (T-est), in due pazienti si è manifestata la presenza di muco; in due si è resa evidente la presenza di miosi bilaterale e in un paziente si è manifestata iperemia congiuntivale e scialorrea subito dopo il risveglio. Manifestazioni sistemiche clinicamente significative non sono state evidenziate, e i segni clinici sono scomparsi al controllo successivo (T-24h). Quindi, secondo i nostri risultati, gli effetti avversi segnalati (33% dei pazienti del gruppo P) hanno avuto una localizzazione topica e una breve durata.

Un limite dello studio è rappresentato principalmente dalla dimensione non ottimale del campione in esame. Inoltre, un ulteriore limite potrebbe

ricondursi all'assenza di un periodo di adattamento prima di alcune misurazioni effettuate sul film lacrimale (BUT e osmolarità), nonostante tali misurazioni siano avvenute in ambiente controllato per temperatura e umidità come la terapia intensiva e la sala operatoria.

Ulteriormente, le misurazioni delle dimensioni del cranio o la valutazione di indici cefalici avrebbe potuto fornire informazioni aggiuntive in merito al comportamento del film lacrimale del cane.

L'assenza di un protocollo standard in merito al decubito adottato durante la procedura, al tipo di chirurgia e al protocollo anestesilogico, uniti alla mancata registrazione dell'impiego dei diversi dispositivi riscaldanti (lampade ad infrarossi o dispositivi ad aria forzata) rappresentano ulteriori limiti dello studio.

In medicina veterinaria, ulteriori studi dovrebbero essere effettuati per implementare le informazioni in merito al comportamento della superficie corneale in anestesia generale di occhi patologici o di cani appartenenti a razze brachicefaliche. Inoltre, ulteriori strategie di protezione della superficie oculare dovrebbero essere implementate e indagate, mentre ricerche andrebbero svolte anche nel valutare il comportamento della superficie oculare durante il periodo di ricovero nell'unità di terapia intensiva.

5.5 Conclusioni

Il presente studio ha confrontato l'incidenza delle lesioni corneali e i cambiamenti quali-quantitativi del film lacrimale in corso di anestesia generale in cani sottoposti a due trattamenti diversi: un lacrimomimetico e un lacrimostimolante; riportando per entrambi i gruppi il 100% di protezione nell'insorgenza di ulcere corneali.

L'applicazione della pilocarpina topica ha dimostrato di essere l'unico trattamento topico in grado di aumentare la produzione lacrimale sierosa in corso di anestesia generale. Tuttavia, l'aumento del volume lacrimale non ha determinato la totale scomparsa di lesioni corneali. Un suo possibile impiego anche in modelli animali potrebbe essere prescelto, al fine di poter avere valori fisiologici di STT-1 durante procedure in anestesia generale e conservando valori simili a quelli basali di IOP, BUT e osmolarità anche in fase di risveglio.

Nella letteratura presente in medicina umana e veterinaria, molto valore è stato attribuito alla produzione lacrimale nel determinismo delle lesioni corneali perioperatorie. Nel nostro studio, nonostante l'aumento del volume lacrimale, lesioni corneali si sono ugualmente verificate, sottolineando l'eziopatogenesi multifattoriale nel determinismo della loro insorgenza.

- Abusharha, A. A., Pearce, E. I., & Fagehi, R. (2016). Effect of Ambient Temperature on the Human Tear Film. *Eye & Contact Lens*, 42(5), 308–312. <https://doi.org/10.1097/ICL.0000000000000210>
- Acosta, M. C., Peral, A., Luna, C., Pintor, J., Belmonte, C., & Gallar, J. (2004). Tear Secretion Induced by Selective Stimulation of Corneal and Conjunctival Sensory Nerve Fibers. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 45(7), 2333–2336. <https://doi.org/10.1167/IOVS.03-1366>
- Allerton, F. (2020). BSAVA Small Animal. London: BSAVA.
- Baudouin, C., Aragona, P., Messmer, E. M., Tomlinson, A., Calonge, M., Boboridis, K. G., Akova, Y. A., Geerling, G., Labetoulle, M., & Rolando, M. (2013). Role of hyperosmolarity in the pathogenesis and management of dry eye disease: proceedings of the OCEAN group meeting. *The Ocular Surface*, 11(4), 246–258. <https://doi.org/10.1016/J.JTOS.2013.07.003>
- Baumgart, S., Knauth, A., Casey, F. X., & Quinn, G. E. (1993). Infrared eye injury not due to radiant warmer use in premature neonates. *American Journal of Diseases of Children* (1960), 147(5), 565–569. <https://doi.org/10.1001/ARCHPEDI.1993.02160290071029>
- Bedos, L., Allbaugh, R. A., Roy, M., Kubai, M. A., & Sebbag, L. (2023). Precorneal retention time of ocular lubricants measured with fluorophotometry in healthy dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 26 Suppl 1(S1), 81–88. <https://doi.org/10.1111/VOP.13065>
- Brito, F. L. da C., Voitená, J. N., Marinho, T. O. C., Moore, B. A., & Montiani-Ferreira, F. (2022). Assessment of tear film osmolarity using the IPen® Vet osmometer in Pug and Shih-Tzu dogs with and without keratoconjunctivitis sicca. *Veterinary Ophthalmology*, 25(3), 219–224.
- Cagle, L. A., Hopper, K., & Epstein, S. E. (2022). Complications associated with long-term positive-pressure ventilation in dogs and cats: 67 cases. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* (San Antonio, Tex. : 2001), 32(3), 376–385. <https://doi.org/10.1111/VEC.13177>
- Chandler, J. A., van der Woerd, A., Prittie, J. E., & Chang, L. (2013). Preliminary evaluation of tear production in dogs hospitalized in an intensive care unit. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* (San Antonio, Tex. : 2001), 23(3), 274–279. <https://doi.org/10.1111/VEC.12055>
- Craig, J. P., Nichols, K. K., Akpek, E. K., Caffery, B., Dua, H. S., Joo, C.-K., Liu, Z., Nelson, J. D., Nichols, J. J., & Tsubota, K. (2017). TFOS DEWS II definition and classification report. *The Ocular Surface*,

- 15(3), 276–283.
- Cucchiara, R. F., & Black, S. (1988). Corneal abrasion during anesthesia and surgery. *Anesthesiology*, 69(6), 978–979. <https://doi.org/10.1097/00000542-198812000-00034>
- Dawson, C., & Sanchez, R. F. (2016). A prospective study of the prevalence of corneal surface disease in dogs receiving prophylactic topical lubrication under general anesthesia. *Veterinary Ophthalmology*, 19(2), 124–129.
- Di Palma, C., Micieli, F., Lamagna, B., Nieddu, A., Uccello, V., Fatone, G., & Vesce, G. (2020). Schirmer tear test value and corneal lesions' incidence during general anesthesia for non-ophthalmic surgery in non-brachycephalic dogs: a pilot study comparing three different lubricant eye drop formulations. *Veterinary Sciences*, 7(1), 25.
- Faghihi, H., Ophthalmology, S. R.-V., & 2023, undefined. (2022). Tear film breakup time and Schirmer tear test in normal dogs: effects of age, sex, reproductive status, skull type, and nasolacrimal duct patency. *Wiley Online Library* H Faghihi, SM Rajaei *Veterinary Ophthalmology*, 2023•Wiley Online Library, 26(S1), 72–80. <https://doi.org/10.1111/vop.13021>
- Gelatt, K. N. (2021). *Veterinary ophthalmology* (6th ed.). Wiley-Blackwell. <https://www.wiley.com/en-fr/Veterinary+Ophthalmology%2C+2+Volume+Set%2C+6th+Edition-p-9781119441830>
- Grahn, B. H., & Storey, E. S. (2004). Lacrimostimulants and lacrimomimetics. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 34(3), 739–753.
- Grixti, A., Sadri, M., & Watts, M. T. (2013). Corneal protection during general anesthesia for nonocular surgery. *The Ocular Surface*, 11(2), 109–118.
- Grubb, T., Sager, J., Gaynor, J. S., Montgomery, E., Parker, J. A., Shafford, H., & Tearney, C. (2020). 2020 AAHA anesthesia and monitoring guidelines for dogs and cats. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 56(2), 59–82.
- Hartford, J. B., Bian, Y., Mathews, P. M., De Rojas, J., Garg, A., Rasool, N., Schroder, S. K., & Trief, D. (2019). Prevalence and Risk Factors of Exposure Keratopathy Across Different Intensive Care Units. *Cornea*, 38(9), 1124–1130. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000001961>
- Herring, I. P., Pickett, J. P., Champagne, E. S., & Marini, M. (2000a). Evaluation of aqueous tear production in dogs following general

- anesthesia. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 36(5), 427–430.
- Herring, I. P., Pickett, J. P., Champagne, E. S., & Marini, M. (2000b). Evaluation of aqueous tear production in dogs following general anesthesia. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 36(5), 427–430.
- I-Med Pharma Inc. (2016). I Pen - user manual. https://imedpharma.com/wp-content/uploads/2018/08/I-PEN_0718_UserManual_8.5x5.5_EN.pdf
- Ioannides, J., Parker, J., Kumaratunga, V., Preston, J., Donaldson, D., MacFarlane, P., & Hartley, C. (2022). A prospective, masked, randomized, controlled superiority study comparing the incidence of corneal injury following general anesthesia in dogs with two methods of corneal protection. *Veterinary Ophthalmology*, 25(4), 291–296.
- Kaye, A. D., Renschler, J. S., Cramer, K. D., Anyama, B. O., Anyama, E. C., Gayle, J. A., Armstead-Williams, C. M., Mosieri, C. N., Saus, J. A., & Cornett, E. M. (2019). Postoperative management of corneal abrasions and clinical implications: a comprehensive review. *Current Pain and Headache Reports*, 23, 1–9.
- Kim, H., & Kim, J. (2023). Randomized comparison of in vivo performance of TearLab® and I-PEN® osmometry in normal dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 26(5), 440–445.
- Lamkin, I. D., Zimmerman, K. L., Smith Fleming, K. M., & Martins, B. C. (2020). Osmolarity of basal and reflex tears of normal dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 23(4), 747–753.
- Madruga, G. M., Ribeiro, A. P., Magalhães, T. B. S., Rondelli, L. A. S., & Furlan, F. H. (2018). Effect of 0.15% sodium hyaluronate and 0.5% carboxymethylcellulose on tear film breakup time in healthy dogs and in dogs with keratoconjunctivitis sicca. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 70(5), 1388–1396. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-97330>
- Madruga, G. M., Ribeiro, A. P., & Martins, L. R. (2023). Effect of 0.15% sodium hyaluronate on tear film breakup time in healthy anesthetized cats. *Veterinary Ophthalmology*, 26(1), 46–52. <https://doi.org/10.1111/VOP.13030>
- Moore, C. P. (1990). Qualitative Tear Film Disease. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 20(3), 565–581. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(90\)50071-6](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(90)50071-6)
- Murube, J. (2005). Pilocarpine and Tear Secretion. *The Ocular Surface*,

- 3(3), 119–125. [https://doi.org/10.1016/S1542-0124\(12\)70194-5](https://doi.org/10.1016/S1542-0124(12)70194-5)
- Papp, A. M., Justin, G. A., Vernau, C. T., Aden, J. K., Fitzgerald, B. M., Kraus, G. P., & Legault, G. L. (2019). Perioperative corneal abrasions after nonocular surgery: a systematic review. *Cornea*, 38(7), 927–932.
- Park, Y. W., Son, W. G., Jeong, M. B., Seo, K., Lee, L. Y., & Lee, I. (2013). Evaluation of risk factors for development of corneal ulcer after nonocular surgery in dogs: 14 cases (2009-2011). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 242(11), 1544–1548. <https://doi.org/10.2460/JAVMA.242.11.1544>
- Passareli, J. V. G. C., Nascimento, F. F., Estanho, G. J. G., Lizandra, C. R., Kanashiro, G. P., Giuffrida, R., & Andrade, S. F. (2021). Comparison among TonoVet, TonoVet Plus, Tono-Pen Avia Vet, and Kowa HA-2 portable tonometers for measuring intraocular pressure in dogs. *Veterinary World*, 14(9), 2444. <https://doi.org/10.14202/VETWORLD.2021.2444-2451>
- Pierce-Tomlin, T., Shaughnessy, M. R., & Hofmeister, E. H. (2020). A systematic review of the effects of injectable sedative and anesthetic drugs and inhalant anesthetics on intraocular pressure in the dog. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 47(2), 145–151. <https://doi.org/10.1016/J.VAA.2019.10.006>
- Raušer, P., Novák, L., & Mrázová, M. (2022). Influence of anesthetics on aqueous tear production in dogs: A systematic review. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*.
- Saito, A., Izumisawa, Y., Yamashita, K., & Kotani, T. (2001). The effect of third eyelid gland removal on the ocular surface of dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 4(1), 13–18.
- Scarabelli, S., Timofte, D., Malalana, F., & Bardell, D. (2018). Corneal abrasion and microbial contamination in horses following general anaesthesia for non-ocular surgery. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 45(3), 278–284. <https://doi.org/10.1016/J.VAA.2017.12.002>
- Sebbag, L., & Mochel, J. P. (2020). An eye on the dog as the scientist's best friend for translational research in ophthalmology: Focus on the ocular surface. *Medicinal Research Reviews*, 40(6), 2566–2604. <https://doi.org/10.1002/MED.21716>
- Sebbag, L., Paula, A., Silva, S. M., Álex, |, Santos, P. B., Cláudia, A., Raposo, S., & Oriá, A. P. (2023). An eye on the Shih Tzu dog: Ophthalmic examination findings and ocular surface diagnostics. *Wiley Online Library* Sebbag, APSM Silva, ÁPB Santos, ACS

- Raposo, AP OriáVeterinary Ophthalmology, 2023•Wiley Online Library, 26(S1), 59–71. <https://doi.org/10.1111/vop.13022>
- Seyer, L., Wills, R., of, C. B.-A. J., & 2021, undefined. (n.d.). Investigation of fluorescein stain–based tear film breakup time test reliability in dogs in a clinical setting. Am Vet Med AssocLD Seyer, RW Wills, CM BetbezeAmerican Journal of Veterinary Research, 2021•Am Vet Med Assoc. Retrieved January 29, 2024, from <https://avmajournals.avma.org/view/journals/ajvr/82/12/ajvr.21.01.0002.xml>
- Shepard, M. K., Accola, P. J., Lopez, L. A., Shaughnessy, M. R., & Hofmeister, E. H. (2011). Effect of duration and type of anesthetic on tear production in dogs. American Journal of Veterinary Research, 72(5), 608–612.
- Tiffany, J. M., Pandit, J. C., & Bron, A. J. (1998). Soluble mucin and the physical properties of tears. Advances in Experimental Medicine and Biology, 438, 229–234. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5359-5_33
- Tomlinson, A., Khanal, S., Ramaesh, K., Diaper, C., & McFadyen, A. (2006). Tear film osmolarity: Determination of a referent for dry eye diagnosis. Investigative Ophthalmology and Visual Science, 47(10), 4309–4315. <https://doi.org/10.1167/iovs.05-1504>
- Turner, P. V., & Albassam, M. A. (2005). Susceptibility of rats to corneal lesions after injectable anesthesia. Comparative Medicine, 55(2), 175–182. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15884781/>
- Vanley, G. T., Leopold, I. H., & Gregg, T. H. (1977). Interpretation of tear film breakup. Archives of Ophthalmology (Chicago, Ill. : 1960), 95(3), 445–448. <https://doi.org/10.1001/ARCHOPHT.1977.04450030087010>
- Wegg, M. L. (2020). A retrospective evaluation of systemic and/or topical pilocarpine treatment for canine neurogenic dry eye: 11 cases. Veterinary Ophthalmology, 23(2), 341–346.
- Williams, D. L., & Buckingham, A. (2017). Measurement of tear osmolarity in the canine eye: a new diagnostic tool for canine keratoconjunctivitis sicca. J Vet Sci, 3, 8–12.
- Wodey, E., Senhadji, L., Pladys, P., Carre, F., & Ecoffey, C. (2003). The relationship between expired concentration of sevoflurane and sympathovagal tone in children. Anesthesia and Analgesia, 97(2), 377. <https://doi.org/10.1213/01.ANE.0000068825.96424.F3>
- Yang, Y. J., Lee, W. Y., Kim, Y. J., & Hong, Y. P. (2021). A Meta-Analysis

of the Efficacy of Hyaluronic Acid Eye Drops for the Treatment of Dry Eye Syndrome. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(5), 1–14. <https://doi.org/10.3390/IJERPH18052383>