

EFFETTO DEGLI AMINOACIDI SOMMINISTRATI PER VIA TOPICA IN PAZIENTI CON SECCHENZA OCULARE

Marta SACCHETTI, Antonio DI ZAZZO, Stefano BONINI

Dipartimento di Oftalmologia, Università Campus Bio-medico di Roma

ABSTRACT

Aims: the aim of this study was to evaluate the efficacy of topical treatment with preservative free artificial tears enriched with amino acids (Blu Sal A[®] eye drops) in patients with dry eye. **Methods:** twenty consecutive patients with mild to moderate dry eye were included in this open-label study. Patients were randomized in the group A (N=10) treated with Blu Sal[®] eye drops and in the group B (N=10) treated with Blu Sal A[®] eye drop, five times daily for three months. **Ocular signs** (conjunctival hyperemia and superficial punctate keratitis) and symptoms (itching, burning, photophobia, tearing, dryness, foreign body sensation), tear film function tests (Schirmer test and break-up time) and corneal epithelial changes were evaluated at each time point.

Results: Patients treated with Blu Sal A[®] eye drops showed a significant amelioration of ocular burning ($p=0,04$) and dryness ($p=0,03$) when compared to patients treated with artificial tears without amino acids. A significant improvement of symptoms, conjunctival hyperaemia and corneal involvement was observed after 1 and 3 months of treatment in both groups ($p < 0.05$).

Conclusions: the treatment with preservative free Blu Sal eye drops supplemented with amino acids allowed a better control of ocular symptoms in patients with dry eye compared with the treatment with the sole preservative free eye drops.

Ottica fisiopat 2012; XVII: 25-34

25

INTRODUZIONE E OBIETTIVO

L'occhio secco è una delle patologie oculari più frequenti con una prevalenza tra il 5% e il 35% nella popolazione adulta^{1,2}. Tale condizione è caratterizzata da alterazioni qualitative e/o quantitative del film lacrimale che si associano ad infiammazione della superficie oculare, a sintomi da discomfort oculare ed aumentata osmolarità lacrimale³⁻⁵. La classificazione eziopatogenetica include l'occhio secco da carenza della componente acquosa e l'occhio secco evaporativo. L'occhio secco da carenza della componente acquosa è associato a riduzione della secrezione lacrimale causata da malattie sistemiche (sindrome di Sjögren, graft-versus-host disease), ostruzione dei dotti

lacrimali (sindrome di Stevens Johnson, pemfigoide oculare cicatriziale, ustioni), blocco del riflesso neurale (diabete, paralisi di Bell, chirurgia della superficie oculare), effetti collaterali di farmaci, chemioterapia e radiazioni. L'occhio secco evaporativo è dovuto alla eccessiva evaporazione del film lacrimale causata da esposizione della superficie oculare per alterazioni palpebrali, ridotta frequenza di ammiccamento, uso di lenti a contatto e di videoterminali. Inoltre, numerosi fattori ambientali possono causare alterazioni del film lacrimale ed esacerbare o provocare una condizione di secchezza oculare. Tra le cause ambientali di secchezza oculare si riconoscono l'uso di videoterminali e la permanenza in ambienti troppo ventilati o troppo caldi e secchi che

AUTORE CORRISPONDENTE:

Prof. Stefano Bonini
Direttore Dip.
Oftalmologia
Università Campus
Bio-Medico di Roma
Via Alvaro del
Portillo 200, 00128
Roma
Tel: 06/225419185
Fax: 06/22541456
e-mail: s.bonini@
unicampus.it

PAROLE CHIAVE:

occhio secco, superficie oculare, cornea, lacrime artificiali, aminoacidi.

KEY WORDS:

Dry eye, ocular surface, cornea, artificial tears, amino acids.

umentano l'evaporazione del film lacrimale e, se prolungati possono causare una condizione di occhio secco evaporativo^{4,5}. I sintomi dell'occhio secco, quali bruciore, secchezza, secrezione e arrossamento sono molto frequentemente associati anche a cause ambientali⁶.

L'adeguata gestione dei pazienti con secchezza oculare rappresenta una sfida per gli oculisti, infatti, sebbene diversi trattamenti topici e sistemici siano disponibili per l'occhio secco, attualmente il trattamento standard è in gran parte legato all'uso di sostituti lacrimali e antinfiammatori topici^{7,8}. Lo scopo dei sostituti lacrimali è quello di mantenere una buona lubrificazione della superficie oculare, apportando sia volume che sostanze in grado di migliorare la stabilità del film lacrimale^{9,10}.

La salute dell'epitelio della superficie oculare dipende oltre che dal film lacrimale, anche dall'integrità degli strati sottostanti, la membrana basale e lo stroma, coi quali ha ampi scambi metabolici¹¹. La possibilità di fornire un supporto metabolico agli epitelii della superficie oculare attraverso la somministrazione topica di aminoacidi (prolina, lisina, glicina, leucina) associati ad una lacrima artificiale priva di conservanti, è stata recentemente dimostrata^{12,13}.

L'obiettivo di questo studio è di valutare gli effetti della somministrazione topica di Blu Sal A[®] monodose, una lacrima artificiale arricchita con una miscela di aminoacidi, in pazienti affetti da secchezza oculare lieve o moderata, rispetto alla somministrazione di solo Blu Sal[®] collirio monodose, senza

l'aggiunta di aminoacidi. A tal fine sono stati valutati sintomi e segni di secchezza oculare, la funzione lacrimale e l'integrità e la morfologia della superficie oculare.

METODOLOGIA

Lo studio monocentrico, controllato, randomizzato, in aperto è stato effettuato presso il Dipartimento di Oftalmologia, Università di Roma Campus Bio-Medico. Venti pazienti consecutivi di ambo i sessi, di età compresa tra 30 e 70 anni affetti da secchezza oculare lieve o moderata dovuta a fattori ambientali (occhio secco evaporativo non associato a sindrome di Sjogren) sono stati inclusi nello studio. I pazienti con patologie oculari concomitanti, o in terapia con immunosoppressori topici e/o sistemici o pilocarpina sono stati esclusi. Dopo un periodo di wash-out di 1 settimana, i pazienti sono stati suddivisi in 2 gruppi, ciascuno di 10 individui, secondo una lista di randomizzazione. Il GRUPPO A ha ricevuto il trattamento con Blu Sal[®] collirio monodose (Sooft Italia) mentre il GRUPPO B è stato trattato con Blu Sal A[®] collirio monodose (Sooft Italia) arricchito con aminoacidi. Entrambi i gruppi hanno effettuato il trattamento 5 volte al giorno per 3 mesi. I pazienti sono stati esaminati all'arruolamento (baseline), dopo 1 mese, e dopo 3 mesi di trattamento. La storia clinica è stata raccolta e un esame oculare completo è stato effettuato. In particolare segni (iperemia congiuntivale e cheratite puntata superficiale) e sintomi (prurito, bruciore, fotofobia, lacrimazione,

secchezza oculare, sensazione di corpo estraneo) sono stati valutati in base alla gravità con un punteggio da 0 a 3 (0 = assente, 1 = lieve, 2 = moderato, 3 = severo) ad ogni time point.

I test di funzione lacrimale sono stati effettuati ad ogni time point per valutare la presenza e la severità di alterazioni quantitative (Schirmer test tipo I) e qualitative (break-up time-BUT) del film lacrimale. La colorazione vitale con fluoresceina è stata utilizzata per evidenziare clinicamente la sofferenza epiteliale di cornea e congiuntiva, valutati attraverso lo schema di Oxford¹⁴.

Inoltre, la microscopia confocale corneale in vivo è stata effettuata con Confoscan 4 (Nidek Technologies, Vigonza, Italia) per verificare l'integrità dell'epitelio e lo stato dello stroma superficiale e la densità delle fibre nervose corneali all'inizio e alla fine del trattamento¹⁵⁻¹⁷. In breve, dopo l'applicazione di una goccia di anestetico topico, sono state acquisite immagini della cornea centrale utilizzando l'allineamento automatico sull'apice corneale con l'ausilio dello z-ring. Le migliori immagini sono state utilizzate per valutare la densità dell'epitelio superficiale e dell'epitelio basale, nonché delle fibre nervose del plesso sub-basale epiteliale e dei cheratociti dello stroma anteriore. La conta cellulare è stata effettuata manualmente utilizzando il software Adobe Photoshop 6.0 (Adobe Systems, San Jose, CA, USA) da due operatori distinti, la media delle conte è stata poi utilizzata per le analisi. La densità cellulare è stata espressa come numero di cellule per mm² e la densità dei nervi in $\mu\text{m}/\text{mm}^2$.

La tollerabilità del trattamento e gli eventuali eventi avversi sono stati anche valutati.

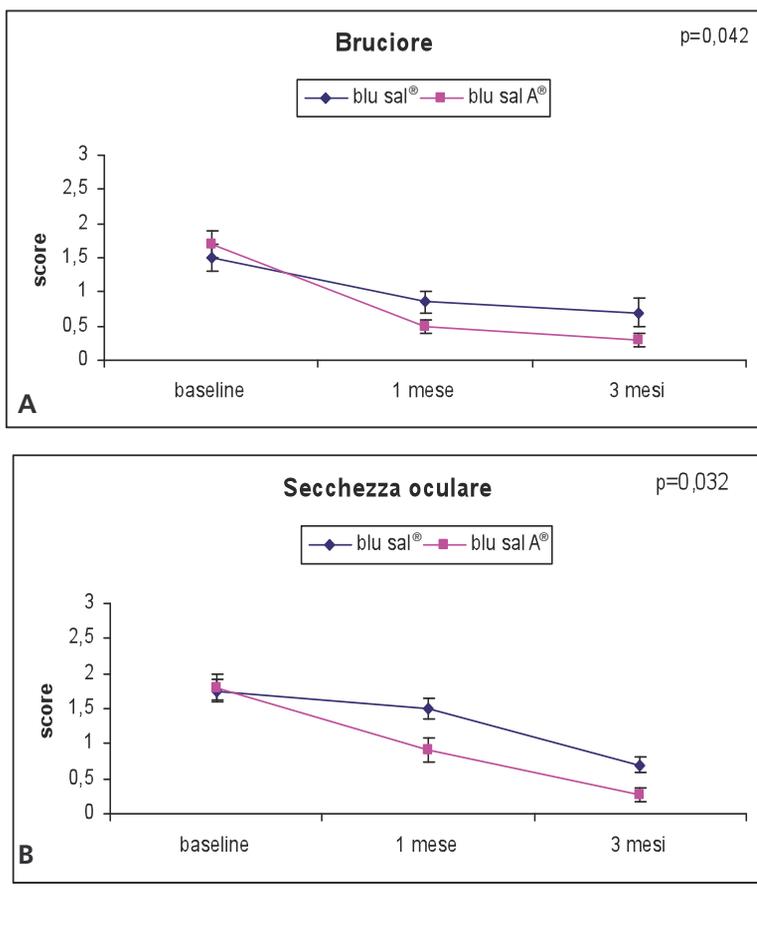
Il T-test è stato utilizzato per valutare l'andamento dei sintomi, dei segni e dei parametri lacrimali delle colorazioni vitali e dei parametri morfologici ottenuti alla microscopia confocale nei due gruppi di trattamento. Il test ANOVA per misure ripetute è stato utilizzato per valutare le differenze in segni, sintomi e parametri di funzione lacrimale, colorazioni vitali e parametri morfologici ai vari time points tra i due gruppi di trattamento. (StatView) Valori di $p < 0,05$ sono stati considerati significativi.

RISULTATI

Venti pazienti consecutivi affetti da secchezza oculare dovuta a fattori ambientali (occhio secco evaporativo non associato a sindrome di Sjogren) sono stati inclusi nello studio, 19 hanno terminato lo studio 1 non ha concluso lo studio per mancata compliance con il trattamento. Dieci pazienti (3 maschi, 7 femmine, età media 57 ± 10 anni) sono stati trattati con Blu Sal[®] collirio monodose (gruppo A) e dieci pazienti (5 maschi, 5 femmine, età media 52 ± 12 anni) con Blu Sal A[®] collirio monodose (gruppo B) per 3 mesi. Nessuno evento avverso è stato rilevato ed entrambi i trattamenti sono stati ben tollerati. Le caratteristiche cliniche dei pazienti inclusi nello studio sono illustrate in tabella 1.

Entrambi i trattamenti hanno mostrato un miglioramento significativo dei segni e sintomi e il gruppo trattato con Blu Sal A[®] ha mostrato una maggiore

fig. 1



I pazienti trattati con Blu sal A® collirio monodose hanno mostrato un miglioramento significativo dell'andamento dei sintomi di bruciore (A) e secchezza oculare (B) rispetto ai pazienti trattati con Blu Sal® collirio monodose, senza aggiunta di aminoacidi.

Effetto degli aminoacidi somministrati per via topica in pazienti con secchezza oculare

Tabella 1

Caratteristiche dei pazienti inclusi nello studio

Variabili	Gruppo A (Blu Sal®)	Gruppo B (Blu Sal A®)
Pazienti (N)	10	10
Età (anni) media ± DS	57 ± 10	52 ± 12
Sesso (N) Maschi Femmine	3 7	5 5
Schirmer test I media ± DS	8,3 ± 5	8,2 ± 5
BUT media ± DS	6,2 ± 3	6,6 ± 3

fig. 2

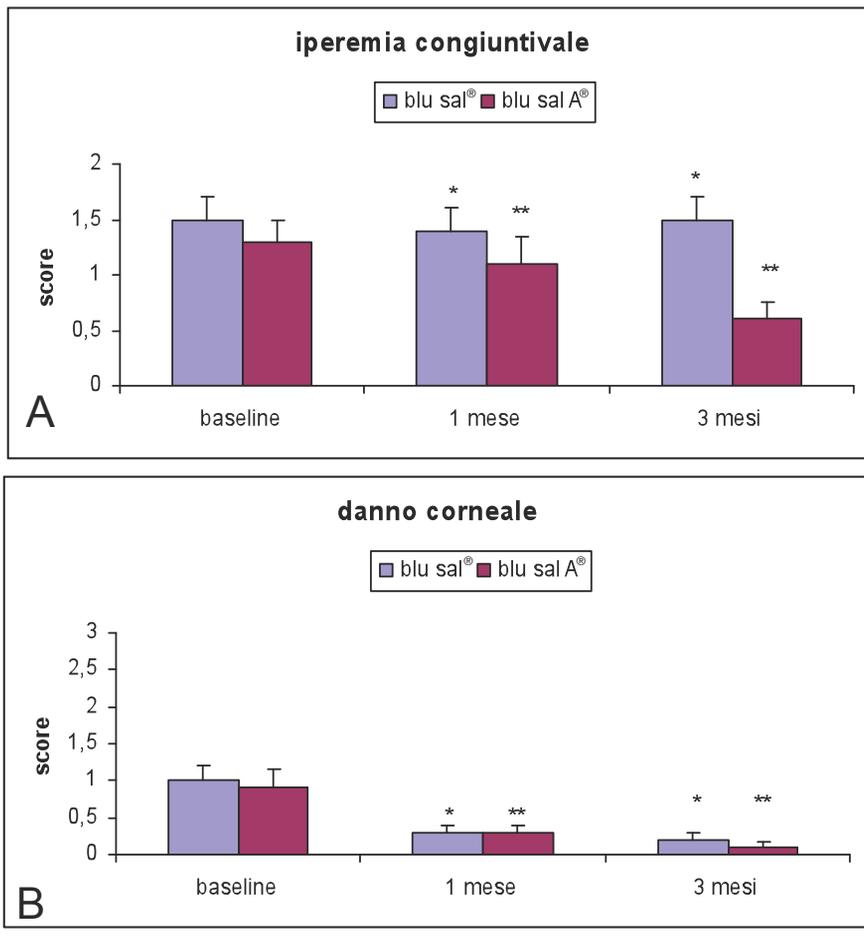


fig. 2 Entrambi i gruppi di trattamento hanno mostrato un miglioramento significativo dei segni di iperemia congiuntivale (A) e di danno corneale (B) dopo 1 e 3 mesi di trattamento.

efficacia nel migliorare la sensazione di bruciore ($p=0,0420$) e di secchezza oculare ($p=0,03$) rispetto ai pazienti trattati con Blu Sal® collirio monodose (Fig. 1).

L'iperemia congiuntivale e il coinvolgimento corneale hanno mostrato un miglioramento significativo dopo 1 mese e dopo 3 mesi di trattamento in entrambi i gruppi ($p<0,05$) (Fig. 2). Si è inoltre osservato un miglioramento significativo del bruciore (Fig. 3 A, $p<0,001$), prurito (Fig. 3 B, $p<0,05$), lacrimazione (Fig. 3 C, $p<0,05$) e sensazione di corpo estraneo (Fig. 3 D, $p<0,05$) già dopo 1 mese di trattamento nel gruppo Blu Sal® e nel gruppo Blu Sal A®, e tale miglioramento si è

mantenuto significativo anche dopo 3 mesi di trattamento. La fotofobia ha mostrato un miglioramento significativo solo dopo 3 mesi di trattamento (Fig. 3 E, $p<0,05$) in entrambi i gruppi, mentre la sensazione di secchezza ha mostrato un più rapido miglioramento nei pazienti trattati con Blu Sal A® collirio monodose ($p=0,007$ dopo 1 mese di trattamento), rispetto ai pazienti trattati con Blu Sal® collirio monodose ($p=$ non significativo dopo 1 mese), dopo 3 mesi entrambi i trattamenti hanno mostrato un miglioramento rispetto al baseline ($p<0,01$) (Fig. 3F). Inoltre, i pazienti trattati con Blu Sal® collirio monodose e Blu Sal A® hanno mostrato un miglioramento

fig. 3

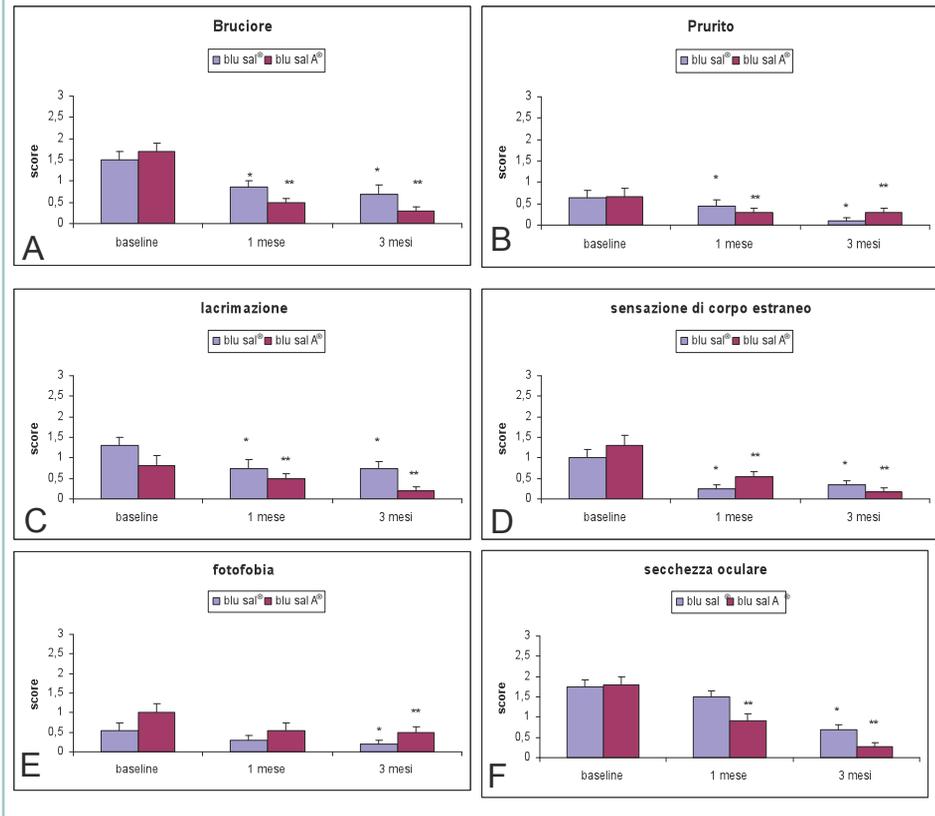


fig. 3

Andamento dei sintomi di bruciore (A), prurito (B), lacrimazione (C), sensazione di corpo estraneo (D), fotofobia (E) e secchezza oculare (F) nei due gruppi durante i tre mesi di trattamento.

Effetto degli aminoacidi somministrati per via topica in pazienti con secchezza oculare

Tabella 2

Densità cellulari dell'epitelio corneale e dello stroma anteriore e densità dei nervi del plesso sub-basale nei due gruppi di trattamento

	Baseline		Dopo 3 mesi di trattamento	
	Blu sal® collirio	Blu sal A® collirio	Blu sal® collirio	Blu sal A® collirio
Densità epitelio superficiale (cell/mm ²)	1145 ± 163	1012 ± 191	1239 ± 450	1204 ± 148
Densità epitelio basale (cell/mm ²)	4472 ± 1481	4957 ± 916	5095 ± 674	6203 ± 2685
Densità dei nervi plesso sub-basale (µm/mm ²)	6075 ± 3555	6340 ± 2165	7014 ± 2615	8321 ± 3479
Densità dei cheratociti nello stroma anteriore (cell/mm ²)	1018 ± 240	1137 ± 388	1005 ± 75	1074 ± 281

significativo della colorazioni con fluoresceina dopo 3 mesi di trattamento ($p=0,004$), ma non dei parametri lacrimali (Fig. 4). Nove pazienti ($N=4$ nel gruppo A e $N=5$ nel gruppo B) hanno effettuato

l'esame al microscopio confocale prima e dopo 3 mesi di trattamento (Fig. 5). Non si sono osservate differenze significative tra i due gruppi di trattamento dei parametri valutati (Tab. 2).

fig. 4

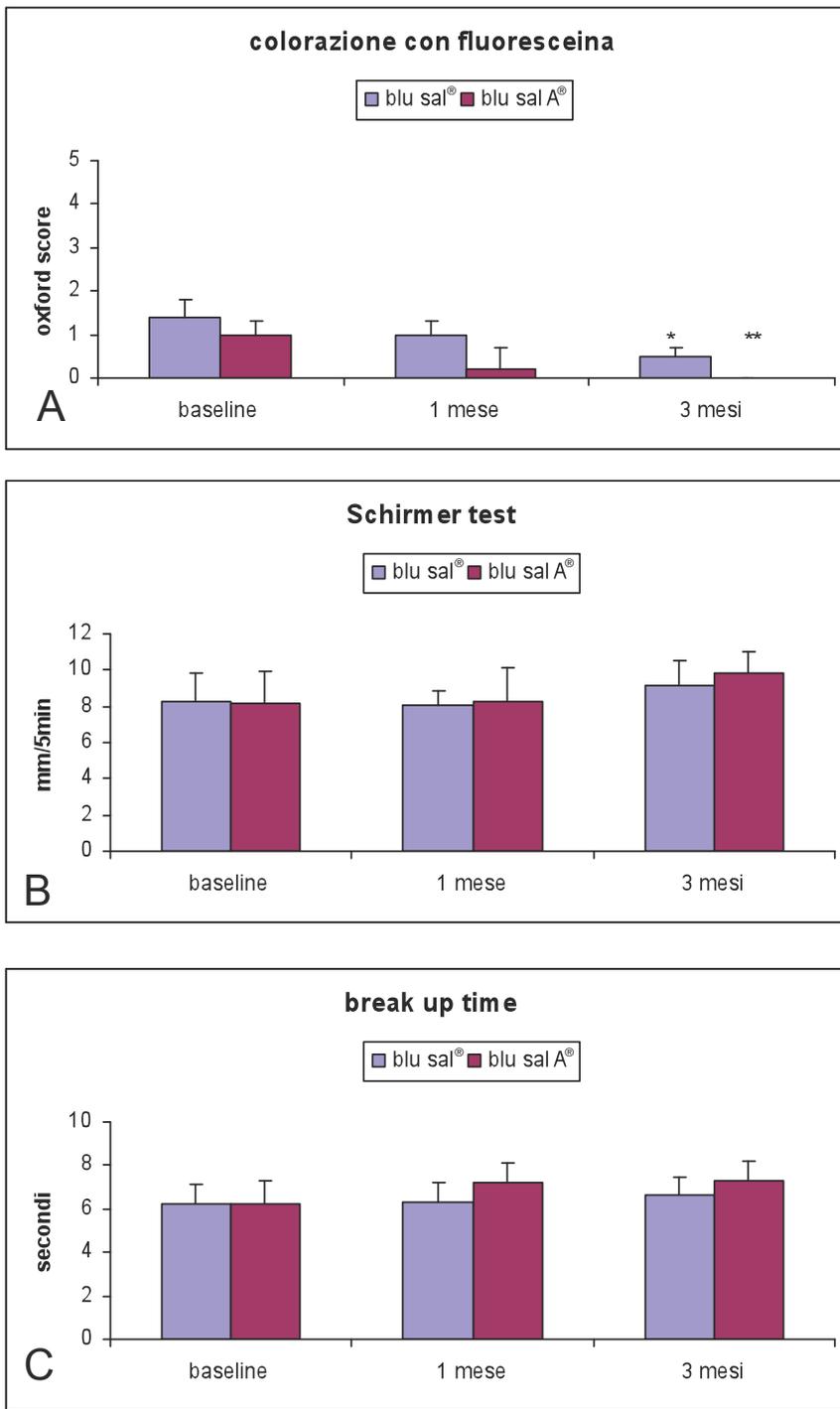


fig. 4
Modificazioni della colorazione vitale (A) con fluoresceina e dei test di funzione lacrimale, Schirmer test (B) e BUT (C) nei due gruppi durante i tre mesi di trattamento.

DISCUSSIONE

In questo studio monocentrico, randomizzato, in aperto, si è voluto focalizzare l'attenzione sul ruolo degli aminoacidi (Glicina, Lisina, Prolina,

Leucina) in una lacrima artificiale la cui composizione di base è una soluzione salina fisiologica (Blu Sal®), comparando i due preparati (con e senza aminoacidi) in un gruppo di pazienti con secchezza oculare lieve o

fig. 5

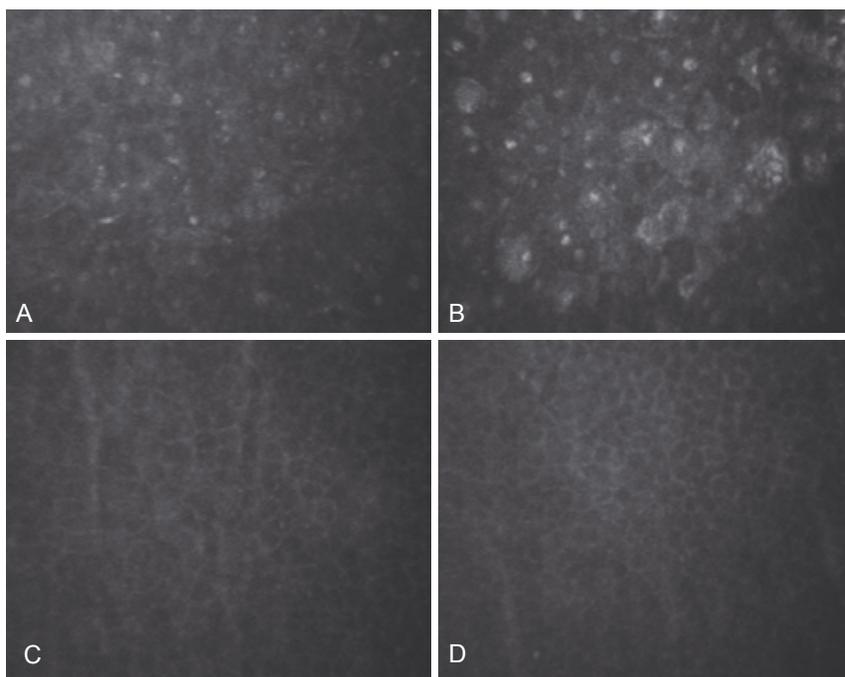


fig. 5
 Immagini di
 microscopia
 confocale
 che mostrano
 un maggiore
 trofismo
 dell'epitelio
 superficiale
 (A) e
 dell'epitelio
 basale corneale
 (C) dopo
 tre mesi di
 trattamento (B
 e D).

moderata dovuta a fattori ambientali. I risultati dello studio hanno evidenziato come il trattamento con lacrime artificiali arricchite con aminoacidi (Blu Sal A® collirio monodose) si è dimostrato più efficace nel controllo dei sintomi di secchezza oculare e bruciore, in pazienti affetti da occhio secco rispetto al trattamento con le stesse lacrime artificiali (Blu Sal® collirio monodose) senza aggiunta di aminoacidi. La sensazione di secchezza oculare e il bruciore sono i sintomi più importanti nei pazienti con occhio secco evaporativo e il trattamento con lacrime artificiali addizionate con aminoacidi ha mostrato una maggiore efficacia nel controllo di tali sintomi. Infatti, l'aggiunta di aminoacidi alle lacrime artificiali ha lo scopo di unire all'azione lubrificante della lacrima artificiale, un apporto trofico e metabolico degli aminoacidi alla superficie oculare, tale apporto ha consentito un migliore controllo della sintomatologia irritativa,

probabilmente legato ad un migliore trofismo della superficie oculare¹³. I pazienti inclusi in questo studio risultano affetti da occhio secco scatenato e/o peggiorato da fattori ambientali quali uso di videoterminali o esposizione prolungata ad ambienti secchi o ad aria condizionata e presentavano un quadro clinico di occhio secco lieve o moderato. Questa condizione ha fatto sì che i pazienti mostrassero un miglioramento significativo di sintomi e segni anche solo con la somministrazione di lacrime artificiali. In particolare, l'iperemia congiuntivale, la cheratite puntata superficiale, il bruciore, la lacrimazione, il prurito e la sensazione di corpo estraneo sono migliorate significativamente in entrambi i gruppi di trattamento già dopo 1 mese e tale miglioramento si è mantenuto dopo tre mesi di trattamento. La fotofobia ha richiesto un tempo più lungo per mostrare un miglioramento significativo (3 mesi),

mentre il trattamento con lacrime artificiali addizionate con amminoacidi ha mostrato una più rapida efficacia sulla secchezza oculare rispetto al solo trattamento con lacrime artificiali.

I test di funzione lacrimale e le colorazioni vitali, sebbene abbiano mostrato un trend di miglioramento maggiore nei pazienti trattati con Blu Sal A®, tale miglioramento non ha raggiunto la significatività statistica, probabilmente dovuta al grado lieve-moderato della secchezza oculare all'inclusione.

Il trattamento con lacrime artificiali addizionate con amminoacidi ha anche mostrato una efficacia nel migliorare la morfologia dell'epitelio corneale e una tendenza, seppure non significativa, ad un aumento della densità corneale epiteliale. Infatti, oltre alla componente lacrimale, l'occhio secco si caratterizza per il coinvolgimento di tutte le strutture della superficie oculare inclusi gli epiteli congiuntivale e corneale e l'innervazione sensitiva^{18,19}.

La presenza di amminoacidi in una lacrima artificiale semplice come il Blu Sal® collirio ha consentito un miglior controllo della sintomatologia irritativa nei pazienti con occhio secco rispetto al trattamento con Blu Sal® collirio monodose senza addizione di amminoacidi, evidenziando perciò il ruolo degli amminoacidi in una situazione clinica di ampio rilievo epidemiologico.

RIASSUNTO

Obiettivi: l'obiettivo dello studio è di valutare l'efficacia della somministrazione topica di una

lacrima artificiale arricchita con una miscela di amminoacidi (Blu Sal A® collirio monodose), in pazienti affetti da secchezza oculare lieve o moderata.

Procedure di base: in questo studio monocentrico, controllato, randomizzato, eseguito in aperto sono stati inclusi 20 pazienti con occhio secco lieve o moderato. I pazienti sono stati suddivisi in 2 gruppi che hanno effettuato il trattamento con Blu Sal® collirio monodose (N=10) o con Blu Sal A® collirio monodose (N=10) 5 volte al giorno per 3 mesi. I segni (iperemia congiuntivale e cheratite puntata superficiale) e i sintomi (prurito, bruciore, fotofobia, lacrimazione, secchezza oculare, sensazione di corpo estraneo) oculari, i test di funzione lacrimale (test di Schirmer e break-up time) e le alterazioni epiteliali corneali sono stati valutati. Risultati: Il trattamento con Blu Sal A® collirio ha evidenziato una migliore efficacia nel controllo del bruciore ($p=0,0420$) e della secchezza oculare ($p=0,03$) rispetto al trattamento con Blu Sal® collirio, privo di amminoacidi. Un miglioramento significativo dei sintomi, dell'iperemia congiuntivale e del coinvolgimento corneale è stato osservato dopo 1 mese e dopo 3 mesi in entrambi i gruppi di trattamento ($p<0,05$).

Conclusioni: Il trattamento con Blu Sal A® collirio monodose addizionato con amminoacidi ha consentito un miglior controllo della sintomatologia irritativa nei pazienti con occhio secco rispetto al trattamento con Blu Sal® collirio monodose senza addizione di amminoacidi.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Lemp MA. *Epidemiology and classification of dry eye*. Adv Exp Med Biol **438**: 791-803, 1998
- 2 *The epidemiology of dry eye disease: report of the Epidemiology Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop* (2007). Ocul Surf **5**(2): 93-107, 2007
- 3 *The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop* (2007). Ocul Surf **5**(2): 75-92, 2007
- 4 Pflugfelder SC. *Differential diagnosis of dry eye conditions*. Adv Dent Res **10**(1): 9-12, 1996
- 5 Behrens A et al. *Dysfunctional tear syndrome: a Delphi approach to treatment recommendations*. Cornea **25**(8): 900-907, 2006
- 6 Wolkoff P, Nojgaard JK, Troiano P, Piccoli B. *Eye complaints in the office environment: precorneal tear film integrity influenced by eye blinking efficiency*. Occup Environ Med **62**: 4-12, 2005
- 7 *Management and therapy of dry eye disease: report of the Management and Therapy Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop* (2007). Ocul Surf **5**(2): 163-78, 2007
- 8 Lemp MA. *Advances in understanding and managing dry eye disease*. Am J Ophthalmol **146**, 350-356, 2008
- 9 Gilbard JP. *Topical therapy for dry eyes*. Trans Ophthalmol Soc UK **104** (Pt 4): 484-488, 1985
- 10 Doughty MJ, Glavin S. *Efficacy of different dry eye treatments with artificial tears or ocular lubricants: a systematic review*. Ophthalmic Physiol Opt **29**: 573-583, 2009
- 11 Chen JJ, Rao K, Pflugfelder SC. *Corneal epithelial opacity in dysfunctional tear syndrome*. Am J Ophthalmol **148**: 376-382, 2009.
- 12 Torres Munoz I, Grizzi F, Russo C, Camesasca FI, Dioguardi N, Vinciguerra P. *The role of amino acids in corneal stromal healing: a method for evaluating cellular density and extracellular matrix distribution*. J Refract Surg **19**: S227-30, 2003
- 13 Micera A, Stampacchiacchiere B, Mastrella L, Lambiase A, Bonini S. *Effetto degli aminoacidi sulla sopravvivenza delle cellule congiuntivali di linea*. Ottica Fisiopatologica - Focus **13**: 1-8, 2008
14. *Methodologies to diagnose and monitor dry eye disease: report of the Diagnostic Methodology Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop* (2007). Ocul Surf. **5**(2): 108-152, 2007
15. Guthoff RF, Zhivov A, Stachs O. *In vivo confocal microscopy, an inner vision of the cornea - a major review*. Clin Experiment Ophthalmol **37**(1): 100-117, 2009 Jan
16. Mustonen RK, McDonald MB, Srivannaboon S, Tan AL, Doubrava W, Kim CK. *Normal human corneal cell populations evaluated by in vivo scanning slit confocal microscopy*. Cornea. **17**: 485-492, 1998
17. Oliveira-Soto L, Efron N. *Morphology of corneal nerves using confocal microscopy*. Cornea **20**: 374-384, 2001
18. Niederer RL, McGhee CN. *Clinical in vivo confocal microscopy of the human cornea in health and disease*. Prog Retin Eye Res **29**(1): 30-58, 2010 Jan. Epub 2009 Nov 26. Review.
19. Zhang X et al. *Tear Dynamics and Corneal Confocal Microscopy of Subjects with Mild Self-Reported Office Dry Eye*. Ophthalmology 2010.