

# Trattamento chirurgico del sequestro corneale nel gatto mediante cheratectomia focale e copertura con la terza palpebra: studio retrospettivo e review della letteratura

## RIASSUNTO

**Scopo:** Effettuare una accurata disamina della bibliografia internazionale inerente il sequestro corneale o nigrum del gatto e riportare uno studio retrospettivo volto a valutare i risultati del trattamento chirurgico di tale affezione mediante cheratectomia focale e copertura con la III palpebra.

**Materiali e metodi:** È stata analizzata una casistica compresa tra gli anni 2003-2010 relativa a 14 casi (15 occhi) di nigrum osservati nel gatto. Tutti i soggetti sono stati sottoposti a trattamento chirurgico mediante cheratectomia lamellare. La sede dello stroma esposto veniva poi coperta con la terza palpebra fissata alla palpebra superiore per 7 giorni. I controlli erano effettuati a distanza di 7, 14, 30 e 60 giorni dopo l'intervento. Il follow-up successivo è stato realizzato mediante controllo clinico ad un tempo variabile di 1-6 anni dall'intervento chirurgico.

**Risultati:** La sede del sequestro è risultata assiale (86%) o parassiale ventro-mediale (14%). In 12 casi (86%) la lesione era associata ad entropion mediale della palpebra inferiore. Durante il decorso postoperatorio non sono mai state evidenziate complicanze e si è sempre ottenuta la guarigione con persistenza di una normale funzione visiva e mantenimento di una soddisfacente trasparenza corneale. In nessun caso è stata riscontrata al follow-up recidiva della lesione.

**Conclusioni:** La cheratectomia lamellare con copertura con la nittitante, di facile esecuzione, poco invasiva e priva di complicanze, rappresenta una valida alternativa come supporto alla terapia chirurgica del nigrum corneale nel gatto.

## REVISIONE DELLA LETTERATURA SULL'ARGOMENTO

Il sequestro corneale (corneal nigrum, mummificazione corneale, corneal black spot, cheratite necrotizzante primaria, degenerazione focale, cheratite cronica ulcerativa)<sup>1</sup> è un'affezione oftalmica, riportata nel gatto<sup>2,3</sup> e nel cavallo<sup>4,5</sup>. Un caso di sequestro corneale è stato segnalato anche in un cane Shih Tzu<sup>6</sup>.

Tale lesione fu descritta nel gatto, per la prima volta nel 1965 da Verwer, come una placca pigmentata e necrotica al centro della cornea, caratterizzata da mummificazione dell'epitelio e delle lamelle stromali, secondaria a cheratocongiuntivite cronica di varia eziologia, come riportato da Startup nel 1988<sup>7</sup>.

La lesione appare, da un punto di vista clinico, caratterizzata da una placca necrotica dura, sollevata rispetto alla superficie corneale, a volte con infiltrati cristallini per la presenza di lipidi o calcio<sup>8</sup>, localizzata in posizione centrale o paracentrale, talvolta in relazione alla presenza di una causa scatenante.

La necrosi, nella maggior parte dei casi, interessa da meno della metà ai due terzi dello spessore dello stroma, benché sia possibile il coinvolgimento dell'intero stroma fino alla membrana di Descemet<sup>7,9</sup>.

**Manuela Ragozzino, Barbara Lamagna,  
Anna Guardascione, Maria Pia Pasolini,  
Luigi Auletta, Francesco Lamagna**

Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie,  
Sezione di Clinica Chirurgica, Facoltà di Medicina Veterinaria,  
Università degli Studi di Napoli "Federico II"

“Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 14/01/2011 ed accettato per la pubblicazione dopo revisione il 10/02/2012”.

La lesione, che presenta un diametro variabile, più o meno esteso, con bordi irregolari e forma circolare o ellissoidale, è spesso circondata da un alone giallo-ambrato con neovascolarizzazione periferica ed edema corneale<sup>9</sup>.

Nei casi cronici si possono osservare vascolarizzazione corneale, edema stromale perilesionale e infiammazione corneale, come riferito inizialmente da Gelatt nel 1971<sup>10</sup>. La cheratite generalizzata è rara.

Il sequestro, nella review di Startup realizzata nel 1988 su 100 casi, viene descritto come costantemente pigmentato, anche se con un'intensità della colorazione variabile, da una tinta leggermente brunastra, ambra chiara, ad una nera ben definita<sup>7</sup>. La natura della pigmentazione del sequestro non è stata, comunque, del tutto chiarita: inizialmente in uno studio è stato riferito che verosimilmente tale pigmentazione non fosse costituita da melanina, essendo idrosolubile e non emosiderinica<sup>7</sup>. Una ricerca più recente a riguardo, ha evidenziato un quantitativo di ferro 100 volte superiore in un caso di sequestro corneale in un gatto, rispetto al contenuto di ferro rilevato in cornee normali, dimostrando, inoltre, che tale concentrazione non derivava dalla neovascolarizzazione limbica<sup>11</sup>. In seguito, in uno studio realizzato utilizzando differenti tecniche di laboratorio, la microscopia elettronica a scansione ha comprovato che la colorazione del sequestro non dipendeva dalla presenza del ferro, la spettroscopia UV/visibile ha rivelato la presenza in 2 sequestri di gruppi cromofori compatibili con granuli di melanina, mentre la microscopia ottica su 10 sequestri ha riscontrato la presenza di particelle compatibili con granuli di melanina<sup>12</sup>. Tuttavia, successivi studi realizzati mediante microscopia elettronica a trasmissione, non hanno evidenziato presenza di melanina<sup>13</sup>.

È stato, inoltre, ipotizzato che il film lacrimale possa essere coinvolto nella pigmentazione bruna del sequestro, benché le valutazioni analitiche effettuate sul film lacrimale di gatti affetti da sequestro confrontati con controlli non abbiano riscontrato presenza di elementi che possano rendersi responsabili della pigmentazione<sup>14,12</sup>.

La lesione è stata descritta, nelle prime segnalazioni, nella maggior parte dei casi come monolaterale, eccetto che nel Persiano e in altre razze predisposte<sup>7,15</sup>, mentre in studi successivi su casistiche più ampie è stato segnalato coinvolgimento bilaterale anche nel gatto domestico a pelo corto<sup>3</sup>. È possibile che un soggetto che presenta un'affezione monolaterale, successivamente presenti coinvolgimento anche dell'occhio controlaterale.

I segni clinici più comuni che accompagnano il sequestro corneale sono il dolore oculare<sup>3</sup> l'epifora<sup>7,16</sup>, il blefarospasmo<sup>7,15</sup> e la fotofobia<sup>7</sup>, lo scolo oculare brunastro, la chemosi, l'ulcerazione corneale con neovascolarizzazione ed edema corneale<sup>15</sup>.

Le razze maggiormente colpite sono il Persiano, il British Colorpoint, il Burmese, l'Himalaiano e il Siamese, ma numerose segnalazioni coinvolgono anche il gatto comune domestico a pelo corto<sup>3,7,15,17</sup>. È stata individuata una predisposizione di razza nel Persiano<sup>15</sup> a contrarre tale patologia, ma vi sono anche altre razze segnalate, come il Siamese e il Burmese, in cui il nigrum sembra essere idiopatico<sup>11,18</sup>. Non è mai stata documentata, invece, una predisposizione di sesso<sup>7,15,19</sup>.

L'età d'insorgenza della patologia è variabile dai 5 mesi a 17 anni, anche se mediamente sono colpiti gatti tra i 2 e i 7 anni d'età<sup>7</sup>.

L'eziologia del sequestro corneale è di fatto sconosciuta<sup>3,20</sup> ed anche la patogenesi non è stata completamente chiarita, seppure a riguardo siano state proposte molte teorie<sup>21</sup>.

Le cause di sequestro corneale possono essere riconducibili a: 1) una distrofia corneale primitiva responsabile di necrosi stromale prima e mumificazione corneale dopo; 2) una necrosi coagulativa corneale dovuta a fattori meccanici, infettivi e metabolici<sup>7</sup>.

Una teoria, molto condivisa, sottolinea l'importanza dell'irritazione e del danno corneale, come fattore scatenante<sup>15,22</sup>. In molti gatti colpiti, infatti, si possono evidenziare patologie oculari croniche, non specifiche e cause specifiche d'irritazione oculare come i difetti anatomici<sup>2</sup>. Featherstone et al. riferiscono, inoltre, che la posizione del sequestro corrisponde al sito di azione di una causa presuntivamente identificabile<sup>3</sup>.

Tra i fattori predisponenti meccanici sono stati segnalati: l'entropion e il lagoftalmo<sup>23</sup>, la trichiasi del canto mediale<sup>7</sup>, i traumi corneali iatrogeni (cheratotomia a griglia)<sup>2</sup>, le cauterizzazioni con nitrato d'argento<sup>24</sup>.

Tra i fattori infettivi, esiste la possibilità di una relazione tra il sequestro corneale e una irritazione secondaria a cheratite virale<sup>23</sup>. L'Herpesvirus felino (FHV-1), in particolare, è riconosciuto come possibile causa di sequestro, benché il suo coinvolgimento non sia stato completamente spiegato o provato<sup>8,15</sup>.

È stata, infatti, riferita la formazione del sequestro corneale in gatti infettati sperimentalmente con FHV-1 e in gatti a cui erano stati somministrati corticosteroidi per via topica<sup>25</sup>. In realtà, tuttavia, l'identificazione del DNA dell'Herpesvirus felis mediante la nested PCR non è risultata significativamente differente in gatti con cornee sane e cornee con sequestro<sup>25</sup>. È possibile, comunque, che la presenza di un tessuto necrotico possa complicare la rilevazione del DNA virale<sup>26</sup>. Tamponi congiuntivali di gatti con sequestro corneale sono stati sottoposti a PCR per l'Herpesvirus felis, Chlamidia psittaci e Mycoplasma felis; solo tre tamponi congiuntivali, in una serie di 11 gatti affetti da sequestro corneale, sono risultati positivi all'Herpesvirus felis<sup>27</sup>.

Nasissse et al. hanno ipotizzato che il sequestro possa costituire una conseguenza specifica di un'infezione da Herpesvirus (FHV-1) ed una up-regulation di citochine pro infiammatorie<sup>28</sup>, per cui la formazione del sequestro non sarebbe una risposta specifica all'FHV-1, ma piuttosto una conseguenza non specifica di un significativo danno stromale.

Con lo sviluppo dell'infezione oculare virale, si verifica una apoptosi dei cheratociti. L'apoptosi è una forma involutiva di morte cellulare programmata che limita l'infiammazione o il rilascio dei contenuti cellulari, compresi gli enzimi, responsabili della degradazione cellulare e dei tessuti adiacenti. Quindi, l'apoptosi si può considerare un meccanismo di protezione tissutale dall'agente virale stesso. L'apoptosi dei cheratociti e delle cellule epiteliali conseguente alla cheratite, ostacola l'ulteriore danno allo stroma corneale, causato non solo dai patogeni, ma anche dalle cellule infiammatorie<sup>29</sup>.

In un recente studio<sup>13</sup>, la presenza del DNA del *Toxoplasma gondii* nel sequestro corneale e nel sangue in due casi e il titolo di IgG positivo in altri due gatti, in cui il DNA del parassita era stato isolato nel sequestro, hanno suggerito la necessità d'indagare sul ruolo che il *Toxoplasma* gioca nella patogenesi del sequestro.

Per quanto riguarda i difetti metabolici, sono stati identificati come fattori predisponenti all'insorgenza di sequestro corneale nel gatto le anomalie del film lacrimale precorneale, la cheratocongiuntivite secca e la distrofia stromale primaria.

Featherstone et al. infatti, ritengono che il contenuto in lipidi delle lacrime si riduca significativamente in occhi con sequestro corneale se comparato con occhi di gatti normali<sup>12</sup>.

Il film lacrimale che ricopre il sequestro, inoltre, spesso appare instabile e all'esame con il biomicroscopio rivela un'accelerazione del Break-Up Time (BUT) in confronto con quello della cornea controlaterale o di cornee di gatti normali<sup>27</sup>.

Atrofia delle cellule calciformi e accelerazione del BUT lacrimale sono stati evidenziati in un gatto con sequestro<sup>30</sup>.

Lo studio di Grahn<sup>27</sup> ha evidenziato i risultati di un'analisi al microscopio ottico di biopsie prelevate dai fornici dorsale nasale, ventrale nasale, temporale dorsale e temporale ventrale della congiuntiva palpebrale al fine di confrontare il numero di cellule calciformi in occhi affetti da sequestro con quello degli occhi che non presentavano sequestro. Dai risultati è emerso che non vi sono significative differenze tra il numero di cellule calciformi in occhi con sequestro e in occhi senza sequestro. Inoltre, anche il BUT del film lacrimale valutato nei due gruppi non presentava differenze significative<sup>27</sup>.

Questo è in contrasto con un caso precedente riportato dallo stesso Autore, di cheratite ulcerati-

va, in un gatto affetto da sequestro che presentava una diminuzione del rapporto cellule calciformi/cellule epiteliali<sup>30</sup> in tutte le parti del fornice congiuntivale. In questo studio, tuttavia, la tendenza alla diminuzione del numero di cellule calciformi potrebbe essere correlato all'infiammazione corneale e congiuntivale associata al sequestro e non a un evento scatenante nella patogenesi del sequestro stesso. Il numero delle cellule calciformi, infatti, si riduce nel gatto quando si sviluppa una congiuntivite<sup>31,32</sup>.

In conclusione, non esiste un collegamento certo tra l'atrofia delle cellule calciformi e le anomalie qualitative del film lacrimale con la patogenesi del sequestro corneale nel gatto. È ipotizzabile, pertanto, che la tendenza all'aumento del BUT lacrimale in gatti con sequestro non sia un fattore eziologico, ma, più ragionevolmente, rappresenti un effetto del sequestro corneale.

Un altro fattore che è stato valutato nella patogenesi del sequestro corneale è rappresentato dalla riduzione della sensibilità corneale<sup>24</sup>. A sostegno dell'ipotesi di un coinvolgimento di tale fattore sono stati pubblicati studi sperimentali in cui è stata comprovata una riduzione significativa della sensibilità della porzione centrale della cornea nei gatti brachicefalici rispetto ai gatti domestici a pelo corto<sup>33</sup> e una significativa minore densità di fibre nervose sub-epiteliali e sub-basali nella cornea dei gatti Persiani rispetto ai gatti domestici a pelo corto<sup>34</sup>. È possibile ipotizzare, pertanto, che la combinazione di occhi sporgenti e ridotta sensibilità corneale possa rendersi responsabile, nei gatti brachicefalici, di una maggiore predisposizione a contrarre cheratiti croniche, ulcere corneali e sequestro.

Anche il fattore ereditario è stato correlato all'insorgenza del sequestro corneale<sup>35</sup>.

Per quanto riguarda l'evoluzione del sequestro, è possibile che questo possa rimanere stabile per molti anni oppure evolvere rapidamente in giorni o settimane<sup>7</sup>. La lesione può essere espulsa naturalmente dalla superficie corneale oppure estendersi fino alla membrana di Descemet ed indurre una perforazione corneale.

La diagnosi è clinica e prevede una visita oculistica completa per la valutazione del segmento anteriore e posteriore dell'occhio anche se, in caso di sequestro corneale, le strutture intraoculari non sono mai interessate.

La valutazione clinica comprende anche l'impiego di specifici ausili diagnostici: test della Fluoresceina, test del Rosa Bengala, test di Schirmer, Polymerase Chain Reaction (PCR) e un'accurata valutazione della sensibilità della cornea. Il sequestro non si colora con la fluoresceina ma il tessuto immediatamente circostante, spesso, trattiene il colorante<sup>16</sup>.

L'esame istologico al microscopio ottico rivela un consistente pattern di necrosi stromale, con per-

dita di cheratociti e uno scolorimento ambrato del collagene<sup>20</sup>. Tuttavia, studi realizzati mediante TME (microscopia elettronica a trasmissione) e HR-LM (microscopia ottica ad alta risoluzione) hanno rivelato che i sequestri, a differenza dei campioni di cornee prelevati da gatti sani, contenevano una sostanza elettrondensa amorfa, in continuità perifericamente con la membrana epiteliale basale intatta, mentre in tutti i campioni erano presenti cheratociti con varie espressioni morfologiche di apoptosi<sup>13</sup>. L'ultrastruttura di un tessuto corneale sano rileva sempre la presenza di cellule dell'epitelio basale corneale allineate, adiacenti ad un sottile strato acellulare, simile allo strato di Bowman dell'uomo, con al di sotto la stratificazione regolarmente organizzata di fibrille collagene orientate in differenti piani; i cheratociti sono allungati, con nuclei oblungi e irregolari, citoplasma con reticolo endoplasmatico rugoso e vescicole.

È stata descritta la mineralizzazione del sequestro corneale nel gatto<sup>8</sup>.

Tale mineralizzazione, confermata con la colorazione Von Kossa, è presumibilmente da attribuire alla deposizione di calcio. Tuttavia, cheratiti pregresse e la stessa chirurgia corneale possono predisporre ad una precipitazione intracellulare e pericellulare di fosfati di calcio. Per spiegare la precipitazione minerale sono stati proposti vari meccanismi; in ogni caso, dove si produce un difetto dell'epitelio si può sviluppare un essiccamento dello stroma e conseguire la precipitazione di fosfato di calcio insieme alla denaturazione delle proteine<sup>36,37</sup>. Inoltre, si può verificare un'esposizione dello stroma al film lacrimale. Anche l'aumento della concentrazione di calcio e di fosforo a seguito di un processo di evaporazione o della somministrazione di farmaci può essere responsabile della precipitazione di questi minerali<sup>38</sup>. Altri fattori predisponenti al deposito di calcio potrebbero essere le alterazioni del metabolismo dei glicosaminoglicani nello stroma corneale e le somministrazioni multiple topiche, con conseguente interazione e precipitazione di calcio attraverso il farmaco-veicolo<sup>38</sup>.

La somministrazione di corticosteroidi topici probabilmente peggiora l'infiammazione stromale e la necrosi, per cui le cellule infiammatorie e lo stroma degenerato rilasciano enzimi collagenolitici che contribuiscono alla malacia e all'incremento del pH del tessuto, con conseguente precipitazione minerale nel tessuto necrotico<sup>38</sup>.

L'accumulo di calcio interpalpebrale è spesso dovuto ad evaporazione del film lacrimale nell'area centrale della cornea, più esposta, con conseguente aumento del pH nel tessuto e della concentrazione di soluti che favorisce la precipitazione e il deposito di calcio e fosfati<sup>38</sup>.

Comunque, le anomalie qualitative e/o quantitative del film lacrimale possono anche essere causa

di degenerazione e mineralizzazione corneale. Diminuzione della componente acquosa delle lacrime, aumento del pH lacrimale, infiammazioni corneali croniche sono riconosciuti come associati a deposizione corneale di calcio nel cane<sup>23</sup>.

La terapia del sequestro si basa sul concetto di reazione da corpo estraneo, per cui dopo un tempo variabile, da alcune settimane a mesi, il tessuto necrotico potrebbe essere espulso.

Startup et al.<sup>7</sup> in passato hanno suggerito che se il sequestro è recente ed è sottoepiteliale e non procura nessun disagio all'animale, è possibile non ricorrere ad alcun trattamento. Tuttavia, si deve tenere presente che il sequestro può diventare più profondo e causare una perforazione corneale soprattutto nei pazienti anziani e molto giovani<sup>10</sup>.

Il trattamento conservativo prevede l'utilizzo di antibiotici topici, di lacrime artificiali con funzione mucinomimetica di diversa composizione, con frequenza variabile da 2 a 6 volte al giorno per 6-10 settimane o per periodi anche più lunghi<sup>30</sup>.

Alcuni autori consigliano l'utilizzo di una lente a contatto morbida lasciata in situ anche per tre mesi, con conseguente guarigione del sequestro in un periodo compreso tra 1 e 6 mesi<sup>39</sup>.

Nei casi in cui la terapia conservativa o medica non abbia sortito effetto o in presenza di lesioni profonde, che si estendano oltre la metà dello stroma, si può ricorrere all'esecuzione di un intervento chirurgico di cheratectomia lamellare<sup>3</sup>.

I tempi di guarigione si riducono nei gatti trattati con courettage oppure cheratectomia rispetto a gatti trattati solo con la terapia farmacologica<sup>15</sup>.

Il trattamento chirurgico consiste nell'incidere l'epitelio corneale e parte dello stroma sottostante utilizzando una lama di Beaver n. 64 o un dissectore di Martinez; in genere si asporta da 1/3 a 2/3 dello spessore corneale<sup>40</sup>.

A seguito della cheratectomia la recidiva del sequestro non è rara ed è stata riportata anche dopo diversi giorni o mesi dall'intervento<sup>15</sup>.

Quando è interessato più della metà dello spessore corneale o al fine di prevenire l'insorgenza di recidive, è possibile far ricorso ad altre tecniche chirurgiche come lembi congiuntivali (penduncolato, a cappuccio, a 360 gradi), cheratoplastica lamellare (parziale) o penetrante (totale) autologa o eterologa, trasposizione sclerocorneale o corneocongiuntivale oppure, in alternativa, xenoinnesti con sottomucosa intestinale di maiale (SIS)<sup>41,42</sup>.

Il flap congiuntivale protegge la porzione di cornea che non è più adeguatamente lubrificata dal film lacrimale, fornisce un permanente rifornimento vascolare di nutrienti, garantisce una buona visione, provvede, inoltre, al supporto strutturale dopo la cheratectomia quando la profondità della lesione corneale richiede un'escissione profonda; anche se spesso determina la formazione di un leucoma di varia densità<sup>43</sup>.

Blogg et al. riportano l'uso della cheratectomia lamellare combinata all'innesto di un peduncolo congiuntivale per il trattamento di sequestri corneali con coinvolgimento dello stroma profondo (soprattutto quando l'escissione completa non è possibile) o in casi di recidive<sup>44</sup>.

Nello studio di Featherstone e Sansom<sup>3</sup>, tuttavia, l'incidenza di recidiva del sequestro corneale dopo la sola cheratectomia eseguita in 44 occhi, o la cheratectomia associata a flap o innesti eseguita in 30 occhi (sutura di un flap congiuntivale peduncolato in 22 occhi, sutura di un lembo congiuntivale a 180° in sovrapposizione in 1 occhio, sutura della congiuntiva bulbare a 360° in sovrapposizione in 1 occhio, innesto di SIS in 6 occhi), è stata evidenziata in 16 occhi e non si sono rilevate differenze significative tra le due tecniche chirurgiche in merito all'andamento della recidiva ( $p=0.56$ ). In aggiunta, Morgan<sup>15</sup> riferisce che l'esecuzione di un lembo congiuntivale non protegge il sito di cheratectomia dalla recidiva di sequestro.

Il lembo peduncolato congiuntivale e corneo-congiuntivale sono autotrapianti e perciò il tessuto donatore è prontamente disponibile con grande vantaggio biologico, ma in entrambi i casi sussiste lo svantaggio dello sviluppo di un leucoma o di una cicatrice nel sito del trapianto<sup>42</sup>. Sebbene la densità del leucoma diminuisca col tempo, specialmente nella cornea di gatto, persiste comunque una fibrosi corneale permanente.

Invece, quando si desidera una superficie otticamente trasparente nella sede dell'intervento, si preferiscono i trapianti corneali, a spessore parziale (lamellare) o a tutto spessore (penetrante)<sup>45</sup>.

La cheratoplastica lamellare (autologa o eterologa) è un'eccellente tecnica per il trattamento del sequestro corneale; il trapianto diviene otticamente trasparente entro 2 mesi dalla chirurgia, senza nessuna recidiva in un follow-up da 4 a 30 mesi<sup>45</sup>; un vantaggio non indifferente, è sicuramente la trasparenza del sito di trapianto, cosa molto importante soprattutto quando la lesione è localizzata nella parte centrale della cornea, dove è localizzato l'asse visivo.

I trapianti corneali si epitelizzano entro 5 giorni e la sede del trapianto inizia ad acquistare trasparenza entro 1-4 settimane dopo la chirurgia. Non vi sono, inoltre differenze tra allotrapianto o eterotrapianto in relazione al grado di edema postoperatorio, vascolarizzazione corneale periferica e trasparenza definitiva<sup>45</sup>.

I trapianti penetranti, specialmente quelli con epitelio, hanno maggiori rischi di rigetto rispetto ai trapianti lamellari<sup>46</sup>.

La probabilità di riconoscimento immunologico e di rigetto del trapianto aumenta in caso di preesistente vascolarizzazione corneale; ma il riconoscimento immunologico è diretto principalmente contro l'epitelio e l'endotelio corneale<sup>47</sup>.

L'assenza di epitelio e di endotelio nei trapianti è probabilmente uno dei fattori critici della traspa-

renza ottica del trapianto, indipendentemente dalla presenza di una preesistente vascolarizzazione corneale<sup>47</sup>.

L'uso di corticosteroidi e ciclosporina, dopo un intervento di cheratoplastica lamellare, è sempre raccomandato, per ridurre la probabilità di vascolarizzazione corneale e di conseguente rigetto del trapianto stesso<sup>45</sup>.

La trasposizione corneo-congiuntivale o corneo-sclerale è un tipo di cheratoplastica lamellare, mobile, autologa, con avanzamento della cornea periferica sana fino al difetto assiale, preservando la trasparenza centrale della cornea con formazione di una cicatrice periferica nel punto in cui la sclera o la congiuntiva è stata avanzata nel sito donatore<sup>40</sup>.

Andrew et al.<sup>9</sup> in uno studio retrospettivo su 17 casi, hanno dimostrato che la cheratectomia lamellare combinata con la trasposizione corneo-congiuntivale è da considerarsi una buona alternativa chirurgica, in quanto consente di ottenere una migliore trasparenza corneale (il risultato finale comporta una leggera e lineare opacità che persiste dal limbo trasposto, senza formazione di una cicatrice centrale) e assenza di recidive, in un follow-up da 30 gg a 7 anni.

Alcuni Autori hanno ottenuto buoni risultati in merito alla trasparenza corneale utilizzando la membrana amniotica equina dopo la cheratectomia lamellare<sup>48</sup>.

Molto interessante è l'utilizzo della sottomucosa di piccolo intestino di maiale (SIS)<sup>41</sup>, un materiale trilaterale, costituito dalla *tonaca muscularis mucosae*, dalla tonaca sottomucosa e dallo strato compatto della tonaca mucosa. Si tratta di un biomateriale biodegradabile, a base di collagene, acellulare, translucido, non immunogenico, xenogenico, con proprietà trombotiche e trombo resistenti. La SIS è utilizzata ampiamente anche per la rigenerazione della vescica, nei trapianti vascolari, nella riparazione del legamento crociato anteriore<sup>49</sup> e del tendine di Achille nell'uomo. Rappresenta un'alternativa al tessuto congiuntivale, in quanto, essendo porosa, permette un buon assorbimento di preparazioni topiche oftalmiche. Una caratteristica importante della SIS è la resistenza alle infezioni batteriche secondarie. Istopatologicamente è dimostrato che la SIS si comporta come un'impalcatura su cui si può riformare una struttura che istologicamente è simile al tessuto originale. Questo biomateriale è indicato per il trattamento di cheratiti ulcerative, promuovendo la riparazione con formazione di una cicatrice di entità trascurabile. Il materiale dopo 7 settimane viene completamente inglobato dalla cornea con una minima risposta vascolare<sup>41</sup>. La riparazione corneale è evidenziabile mediante la formazione di una cicatrice, con o senza la presenza di un leggero pigmento. Il risultato estetico, già due settimane dopo l'intervento, è molto soddisfacente, ri-

sultando solo una leggera opacità corneale con lo spessore corneale che appare normale<sup>41</sup>. Tuttavia, l'uso della SIS, soprattutto associato a un'asportazione incompleta del collagene degenerato, non sembra impedire le recidive<sup>41,42</sup>.

Alcuni Autori, ancora, preferiscono l'impiego di colle tissutali o di lenti a contatto<sup>39</sup>.

### SCOPO DELLO STUDIO RETROSPETTIVO

Esistono in letteratura pochi lavori clinici relativi ad una valutazione del follow-up in rapporto alle diverse tecniche applicabili per la terapia del sequestro corneale nel gatto.



FIGURA 1A - Gatto Persiano M, Anni I: sequestro corneale occhio dx: si possono osservare vascolarizzazione corneale, edema stromale perilesionale e infiammazione corneale.

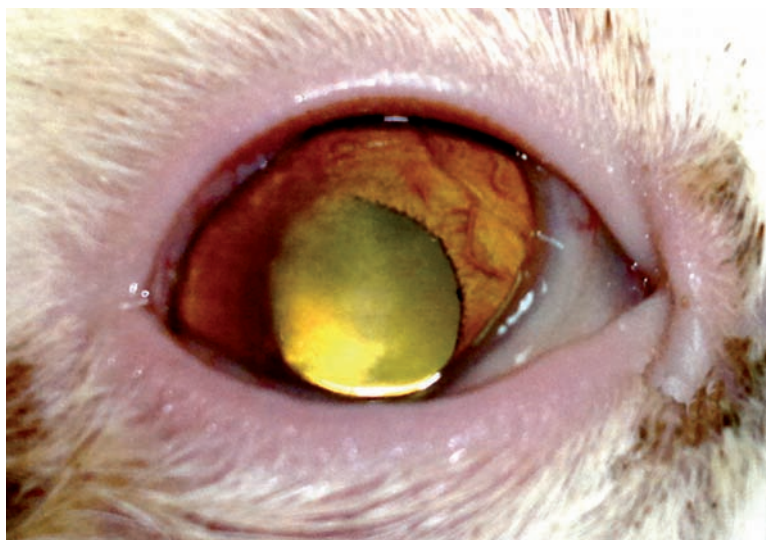


FIGURA 1B - Aspetto della cornea in quattordicesima giornata.

Per tale ragione abbiamo ritenuto opportuno descrivere le nostre esperienze al fine di definire l'efficacia dell'asportazione del sequestro mediante cheratectomia associata a copertura con la terza palpebra, nel trattamento del sequestro corneale in casi caratterizzati da una profondità della lesione non estesa oltre la metà dello spessore corneale, valutando i tempi di guarigione, l'eventuale disagio postoperatorio e la frequenza delle recidive.

### MATERIALI E METODI

È stata analizzata una casistica compresa tra gli anni 2003-2010 relativa a 14 casi (15 occhi) di ni-grum osservati nel gatto.

Per ogni caso sono stati raccolti i dati riguardanti il segnalamento, l'anamnesi, la descrizione del quadro clinico, gli eventuali esami di laboratorio, la terapia effettuata, il decorso e l'esito finale.

In tutti i casi è stato effettuato un esame oftalmologico completo mediante utilizzo di lampada a fessura, oftalmoscopia diretta e indiretta, Shirmer Test, test della fluoresceina e tonometria per appianazione.

All'esame neuroftalmico è stata valutata la reazione al gesto di minaccia, riflesso pupillare diretto e consensuale, riflesso palpebrale e riflesso corneale. Non sono stati effettuati esami colturali di tamponi congiuntivali ed esami PCR per la ricerca di Herpesvirus felino tipo I, Chlamidia psittacii, Micoplasma spp. e Toxoplasma spp.

I gatti affetti presentavano un ampio range di segni clinici oculari comprendenti dolore, blefarospasmo, scolo oculare, iperemia congiuntivale, moderata chemosi, vari gradi di vascolarizzazione superficiale corneale, edema corneale perilesionale e in tutti i casi la presenza di una placca bruno-nerastra assiale o parassiale (Figg. 1A e 2A).

In 2 occhi era presente un lieve deficit del film lacrimale (STT < 7 mm/min).

In tutti i casi sono stati verificati i valori dell'emocromo e del profilo biochimico sierico, nonché l'eventuale positività sierologica ai test ELISA per la ricerca di FeLV e FIV.

Tutti i soggetti sono stati sottoposti a trattamento chirurgico. L'intervento è stato eseguito dopo premedicazione con acepromazina (0,1 mg/kg i.m.) e butorfanolo (0,2 mg/kg i.m.), induzione della narcosi con propofolo (2-4 mg/kg e.v.), intubazione orotracheale e mantenimento con isoflurano.

Il campo chirurgico è stato preparato mediante disinfezione con soluzione 0,1% di povidone ioduro. Si è proceduto alla cheratectomia lamellare utilizzando una lama n. 64 Beaver, assicurandosi che l'incisione fosse abbastanza profonda da asportare tutto il tessuto stromale necrotico. In tutti i soggetti trattati non è mai stato necessario approfondire la cheratectomia oltre la metà dello spessore corneale. Raggiunto il tessuto corneale

integro e trasparente, si procedeva alla separazione della lesione mediante cheratotomo o con una forbice corneale a punta fine.

La sede dello stroma esposto veniva poi coperta con la terza palpebra, previa scarificazione sulla superficie bulbare, ricca in follicoli linfatici e vascolarizzazione. La terza palpebra veniva, quindi, fissata alla palpebra superiore con punti nodosi staccati a materassaio orizzontali in nylon 5/0 per 7 giorni. Tali suture venivano applicate a circa 2 mm dal margine della terza palpebra, seguendo la direzione del movimento della terza palpebra, in modo da prevenire eccessiva tensione sulle suture, secondo la tecnica di Severin modificata<sup>50</sup>.

La correzione dell'entropion dell'angolo mediale, quando presente, è stata effettuata nella medesima seduta operatoria, mediante tecnica di Hotz Celsus modificata, effettuando la sutura a punti nodosi staccati in nylon 5/0. Dopo l'intervento è stata prescritta una terapia farmacologica a base di tobramicina collirio (4 volte al giorno per 2 settimane).

I controlli erano effettuati a distanza di 7, 14, 30 e 60 giorni dopo l'intervento (Figg. 1B e 2B). In 4 gatti in cui, alla rimozione del flap della III palpebra, l'epitelizzazione era completa ma erano presenti infiammazione e vascolarizzazione superficiale, è stato somministrato un collirio a base di gentamicina e desametasone tre volte al giorno per due settimane e poi una volta al giorno per altri 7 giorni.

Nei soggetti che presentavano ridotta produzione di lacrime sono state prescritte lacrime artificiali tre volte al dì.

Il follow-up successivo è stato realizzato mediante controllo clinico ad un tempo variabile di 1-6 anni dall'intervento chirurgico.

## RISULTATI

Di 1450 gatti condotti a visita nel tempo considerato, 206 (14%) erano affetti da patologie oculari e di questi il 7% (14 soggetti) era affetto da sequestro corneale; 12 erano di razza Persiana, 2 erano incrocio di Persiano (Tab. 1).

L'età dei gatti affetti oscillava tra i 3 e i 10 anni (età media 5,25 anni  $\pm$  29,37 mesi); 8 erano maschi castrati (57%) e 6 femmine (43%) sterilizzate. In un solo caso la lesione era bilaterale. La sede del sequestro è risultata assiale (86%) o parassiale ventro-mediale (14%). In 12 casi (86%) la lesione era associata ad entropion mediale della palpebra inferiore (Tab. 1).

Nessun soggetto presentava affezioni sistemiche, anomalie del profilo biochimico o dell'emocromo né positività agli esami sierologici per FIV e FeLV. Tutti i soggetti sono stati trattati chirurgicamente mediante cheratectomia dell'area necrotica e successiva copertura protettiva con la terza palpebra.

Durante il decorso non sono mai state evidenziate complicazioni. I proprietari hanno riferito in tutti i casi, una buona tollerabilità da parte dei soggetti trattati, in assenza di particolari segni di disagio nei giorni successivi all'intervento.

In tutti i casi la sede della cheratectomia è risultata al primo controllo postoperatorio a 7 giorni, caratterizzata da completa riepitelizzazione, non trattenendo la fluoresceina.

In tutti i soggetti a 30 giorni si è ottenuta la guarigione con persistenza di una normale funzione visiva e mantenimento di una soddisfacente trasparenza corneale.

In nessun caso è stata riscontrata al follow-up recidiva della lesione.



FIGURA 2A - Gatto Persiano F Anni 8: sequestro corneale occhio sn: non si evidenzia vascolarizzazione corneale ed edema stromale.

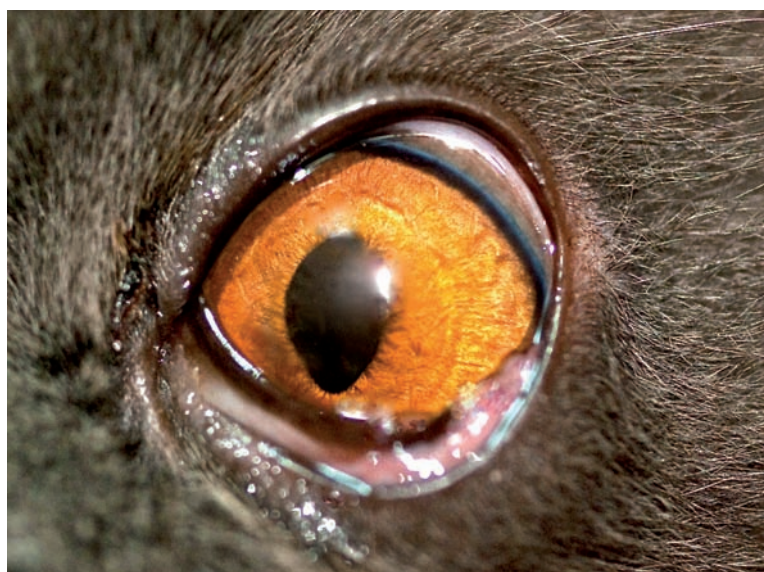


FIGURA 2B - Aspetto della cornea in quattordicesima giornata.

**TABELLA I**  
Casi di sequestro corneale esaminati nel periodo 2003-2010

Razza	Sesso (anni)	Età	Occhio	Localizzazione	Alterazioni Palpebrali	Anomalie del film lacrimale
Gatto Persiano	Mc	5	DX	ASSIALE	Entrop.mediale p.inf.	
Gatto Persiano	Mc	4,5	SN	ASSIALE	Entrop.mediale p.inf.	
Gatto Persiano	Fst	3	DX	ASSIALE	Entrop.mediale p.inf.	
Gatto Persiano	Fst	8	SN	ASSIALE	Nessuna	
Gatto Persiano	Mc	5	DX	ASSIALE	Entrop.mediale p.inf.	STT I 5 mm/min
Gatto Persiano	Mc	3,5	SN	ASSIALE	Entrop.mediale p.inf.	
Gatto Persiano	Fst	4	SN	ASSIALE	Entrop.mediale p.inf.	
Gatto Persiano	Fst	7	BILATERALE	ASSIALE	Entrop.mediale p.inf.	
Gatto Persiano	Mc	10	DX	ASSIALE	Entrop.mediale p.inf.	
Gatto Persiano	Mc	6	SN	ASSIALE	Entrop.mediale p.inf.	
Gatto Incrocio Persiano	Fst	8,5	SN	PARASSIALE VENTRALE	Entrop.mediale p.inf.	STT I 6 mm/min
Gatto Persiano	Mc	3	DX	ASSIALE VENTRALE	Entrop.mediale p.inf.	
Gatto Incrocio Persiano	Fst	5	SN	PARASSIALE VENTRALE	Entrop.mediale p.inf.	
Gatto Persiano	Mc	1	DX	ASSIALE	Nessuna	

## DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Nella nostra casistica è emersa un'evidente predisposizione al "nigrum" nei gatti Persiani, in accordo con quanto riportato in letteratura<sup>15</sup>. Alcuni Autori individuano nelle anomalie palpebrali la principale se non l'unica causa della patologia<sup>51</sup>. Tuttavia, benché nella maggior parte dei nostri casi il sequestro fosse associato ad entropion mediale della palpebra inferiore, affezione comune nei gatti Persiani, la sede del sequestro, per lo più assiale, non sembrerebbe indicare nell'anomalia palpebrale la principale causa d'insorgenza della patologia.

Per quanto riguarda i risultati dell'approccio terapeutico, nella nostra casistica il trattamento chirurgico, coadiuvato dalla copertura con la terza palpebra, ha fornito esiti soddisfacenti in tutti i casi, garantendo una buona trasparenza corneale al termine del trattamento. Non sono state, inoltre, osservate complicanze postoperatorie né recidive per un follow-up compreso tra 1 e 6 anni.

L'incidenza delle recidive riportata in letteratura varia dal 12%<sup>15</sup> al 38%<sup>3</sup>.

L'uso di flap congiuntivali è associato a residua opacità corneale localizzata e non si è rivelato significativamente efficace nel prevenire le recidive<sup>3, 15</sup>, benché Blogg et al<sup>44</sup> abbiano evidenziato buoni risultati in seguito alla riduzione laterale e mediale del flap, senza procedere alla sua resezione, suggerendo l'importanza di preservare un apporto vascolare permanente all'area corneale trattata.

La trasposizione corneocongiuntivale, invece, non è risultata associata a recidive, in 17 casi, ad un follow-up da 1 mese a 7 anni e ha consentito di ottenere una migliore trasparenza<sup>9</sup>.

La cheratoplastica lamellare in 6 occhi ha evidenziato un ottimo risultato relativamente alla trasparenza corneale e assenza di recidive ad un follow-up da 4 a 30 mesi<sup>45</sup>.

L'utilizzo della membrana amniotica ha impedito l'insorgenza di recidive ad un follow-up fino a 9 mesi, ma l'insorgenza di alcune complicanze postoperatorie ha suggerito di escludere tale tecnica per il trattamento dei sequestri molto profondi e non vascolarizzati<sup>48</sup>.

L'applicazione della SIS, infine, come già detto, non sembra impedire l'insorgenza delle recidive<sup>41,42</sup>.

Trattandosi di uno studio retrospettivo non è stato possibile effettuare comparazioni con altre procedure chirurgiche di supporto alla cheratectomia o con l'assenza di tecniche di supporto dopo la cheratectomia.

Ciononostante l'esperienza derivata dalla nostra casistica fornisce alcune utili indicazioni riguardo la possibilità di trattare sequestri che non superino in profondità la metà dello spessore corneale, ottenendo tempi di guarigione brevi, una buona gestione del paziente e assenza di recidive della lesione.

In particolare, occorre valutare che questo tipo di copertura offre protezione alla cornea assiale che non può essere adeguatamente ricoperta dal film lacrimale in soggetti particolarmente esoftalmici o in presenza di una ridotta secrezione lacrimale, ri-



duce il dolore e previene traumi ulteriori sulla sede d'intervento.

Il contatto con un tessuto vascolarizzato, a temperatura più elevata, inoltre, favorisce i processi di riparazione corneale, mentre la scarificazione della mucosa congiuntivale consente di ottenere il rilascio di un trasudato sieroso che fornisce le sostanze trofiche necessarie alla guarigione corneale<sup>52</sup>.

La nostra esperienza sembra indicare, pertanto, che la copertura con la III palpebra, di facile esecuzione, non invasiva, caratterizzata, inoltre, dall'assenza di complicanze, rappresenta una valida alternativa per completare la terapia chirurgica del nigrum corneale nel gatto.

Occorre, peraltro, rilevare che decisiva per la prevenzione delle recidive è innanzitutto la completa asportazione dello stroma degenerato, essendo stata descritta la maggiore incidenza (38%) di recidive nei casi in cui era stata realizzata una cheratectomia incompleta<sup>3</sup>, nonché la permanenza di neovascolarizzazione corneale dopo l'intervento<sup>12</sup>.

## RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia il sig. Antonio Calamo per la collaborazione alla preparazione delle immagini fotografiche.

## Parole chiave

Gatto, sequestro, cheratectomia, III palpebra.

## ■ Surgical treatment of feline corneal sequestration using focal keratectomy and third eyelid flap: a retrospective study and literature review

### Summary

**Aim:** To perform a thorough review of international bibliography about feline corneal sequestration and to report a retrospective study to evaluate results of surgical treatment using lamellar keratectomy and third eyelid flap.

**Methods:** Records of 14 cats (15 eyes) with corneal sequestration presented from 2003 to 2010, were reviewed. All cats were surgically treated performing a lamellar keratectomy. The stromal defect was covered with a third eyelid flap secured to the superior lid for 7 days. Postoperative examinations were performed 7, 14, 30, and 60 days after surgery. Subsequent follow-up was obtained by clinical examination over a period of one-to-six years from surgery.

**Results:** Sequestra were axial (86%) or ventromedial paraxial (14%). In 12 cases (86%) a medial lower lid entropion was associated. Postoperative recovery was uneventful: in all cases eyes were visual and cornea was clear. There were no recurrences.

**Conclusions:** Lamellar keratectomy associated with nictitating membrane flap is a relatively easily performed and non invasive procedure representing a valid support for surgical treatment of corneal sequestra in cats.

### Key words

Cat, sequestrum, keratectomy, third eyelid.

## BIBLIOGRAFIA

1. Crispin S.; The Cornea. In BSAVA Manual of Small Animal Ophthalmology. British Small Animal Veterinary Association, 2002; 152.
2. La Croix Nc., Olivero D.K.; Van der Woerd A. Nonhealing corneal ulcers in cats: 29 cases (1991-1999) J Vet Med Ass 2000; 218, 733-735.
3. Featherstone H.J. and Sansom J.; Feline corneal sequestra: a review of 64 cases (80 eyes) from 1993 to 2000. Veterinary Ophthalmology 2004; 7, 4, 213-227.
4. Hakanson N.E., Dubielzig R.R.; Chronic superficial corneal erosions with anterior stromal sequestration in three horses. Veterinary and Comparative Ophthalmology 1994; 4:179-183.
5. McClellan G.J., Archer F.J.; Corneal stromal sequestration and keratoconjunctivitis sicca in a horse. Veterinary Ophthalmology 2000; 3: 207-212.
6. Bouhanna L., Liscoet L.B. and Raymond-Letron I.; Corneal stromal sequestration in a dog. Veterinary Ophthalmology 2008; 11, 4: 211-214.
7. Startup F.G.; Corneal necrosis and sequestration in the cat. A review and record of 100 cases. J Small Anim Pract 1988; 29: 476-86.
8. Gemensky A.J. and Wilkie D.A.; Mineralized corneal sequestrum in a cat. JAVMA 2001; vol 219 n.11: 1568-1571.
9. Andrew S.E., Tou S., Brooks D.E.; Corneoconjunctival transposition for the treatment of feline corneal sequestra a retrospective study of 17 cases 1990-1998. Vet Ophthalmol. 2001; 4: 107-111.
10. Gelatt K.N.; Corneal sequestration in a cat. Veterinary Medicine Small Animal Clinician 1971; 66: 561- 562.
11. Ejima H., Hara N., Kajigaya H.; Detection of iron in a blackish lesion in a case of feline corneal sequestration. Journal of Veterinary Medical Science 1993; 55: 1051-1052.
12. Featherstone HJ, Franklin VJ, Samson J. Feline corneal sequestrum: laboratory analysis of ocular samples from 12 cats. Veterinary Ophthalmology 2004; 7:229-238.
13. Cullen C.L., Wadowska D.W., Singh A., Melekhovets Y.; Ultrastructural findings in feline corneal sequestra. Vet Ophthalmol 2005; 8, 5: 295-303.
14. Davidson H.J., Gerlach J.A., Bull R.W.; Determination of protein concentrations and their molecular weight in tears from cats with normal corneas and cats with corneal sequestrum. American Journal of Veterinary Research 1992; 53: 1756-1759.
15. Morgan R.V.; Feline corneal sequestration. A retrospective study of 42 cases 1987-1991. Journal of the American Animal Hospital 1994; 30: 24-28.
16. Dice P.F.; Primary corneal Disease in the dog and cat. Vet Clin North Am Sm Anim Pract 1980; 10, 2: 339-356.
17. Vawer G.D.; Corneal mummification in colour point cats. Veterinary Record 1981; 109: 413.
18. Souri E.N.; The feline corneal nigrum. Vet Med Small Anim Clinician 1975; 70:531-4.

19. Lightowler C.H., Herrera H.D., Bruhl-day R.; Feline Corneal sequestrum. *Feline Practice* 1987; 17: 9-12.
20. Peiffer R.L., Wilcock B.P., Dubielzig R.R. et al.; Fundamentals of Veterinary ophthalmic pathology. In: *Veterinary Ophthalmology*, 3rd edn. (ed. Gelatt KN) Lippincott Williams e Wilkins, Philadelphia, 1999; 355-425.
21. Pentlarge V.W.; Corneal sequestration in cats. *Compendium on continuing Education for the practicing veterinarian* 1989; 11: 24-32.
22. Martin C.L.; Feline ophthalmologic diseases. *Modern Veterinary Practice* 1982; 63: 115-122.
23. Stiles J., McDermott M., Bigsby D. et al.; Use of nested polymerase chain reaction to identify feline herpesvirus in ocular tissue from clinically normal cats and cats with corneal sequestra or conjunctivitis. *American Journal of Veterinary Research* 1997; 58: 338-342.
24. Gelatt K.N., Peiffer R.L., Stevens J.B.; Chronic ulcerative keratitis and sequestrum in the domestic cat. *Journal of the American Animal Hospital Association* 1973; 9: 204-213.
25. Nasisse M.P., Guy, J.S., Davidson M.G. et al.; Experimental ocular Herpesvirus infection in the cat. *J Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989; 30: 1758-1768.
26. Volopich S., Benetka V., Schwendenwein et al.; Cytologic findings, and feline herpesvirus DNA and Chlamydomydia felis antigen detection rates in normal cats with conjunctival and corneal lesions. *Vet Ophthalmol* 2005; 8:1: 25-32.
27. Grahn B.H., Sisler S., Storey. Qualitative tear film and conjunctival goblet cell assessment of cats with corneal sequestra. *Vet Ophthalmol* 2005; 8, 3: 167-170.
28. Nasisse M.P.; Feline herpesvirus ocular disease. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 1990; 20: 667-680.
29. Wilson S.E., Pedroza L., Beuerman R. et al.; Herpes simplex virus type -1 infection of corneal epithelial induces apoptosis of the underlying keratocytes. *Experimental Eye Research* 1997; 64: 775-779.
30. Cullen C.L., Njaa B.L., Grahn B.H.; Ulcerative keratitis associated with qualitative tear film abnormalities in cats. *Vet Ophthalmol* 1999; 2: 197-204.
31. Tseng S.C.G., Hirst L.W., Maumenee A.D. et al.; Possible mechanisms for the loss of goblet cells in mucin deficient disorders. *Ophthalmology* 1984; 91: 545-552.
32. Johnson B.W., Whiteley H.E., McLaughlin S.A. Effects of inflammation and aqueous tear film deficiency on conjunctival morphology and ocular mucus composition in cats. *American Journal of Veterinary Research* 1990; 51: 820-824.
33. Blocker T, Van der Woerd A. A comparison of corneal sensitivity between brachycephalic and Domestic Short-haired cats. *Veterinary Ophthalmology* 2001; 4, 2, 127-130.
34. Kafarnik C, Fritsche J, Reese S. Corneal innervation in mesocephalic and brachycephalic dogs and cats: assessment using in vivo confocal microscopy. *Veterinary Ophthalmology* 2008; 11, 6, 363-367.
35. Bistner S.I.; Corneal Pathology. In *Comparative Ophthalmic Pathology* (ed. Peiffer R.L.) Charles C. Thomas, Springfield IL, 1983; 87-135.
36. Spencer W.H.; Basic Pathology. In Spencer W.H., ed. *Ophthalmic pathology* 3rd ed. Philadelphia WB Saunders Co 1985; 13-14.
37. Taravella M.J., Stulting R.D., Mader T.H. et al.; Calcific band keratopathy associated with the use of topical steroid-phosphate preparations. *Arch ophthalmol* 1994; 112: 608-613.
38. Schlotzer-Schrehardt U., Zagorsky Z., Holbach L.M. et al.; Corneal stromal calcification after topical steroid-phosphate therapy. *Arch. Ophthalmol* 1999; 117: 1414-1418.
39. Dice, P.F. and Cooley P.L.; Use of contact lenses to treat corneal diseases in small animals. In *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*. Edited by Ketring K.L. Grune and Stratton Harcourt Brace Jovanovich, vol.III, n. 1, 1988; 46-51.
40. Wilkie, DA, Whittaker, C. Surgery of the Cornea. *Vet Clin North Am Sm Anim Pract* 1997; 27: 5: 1067-1107.
41. Featherstone HJ, Sansom J. Intestinal submucosa repair in two cases of feline ulcerative keratitis. *The Veterinary Record*. 2000; 146: 136-138.
42. Featherstone HJ, Sansom J, Heinrich CL. The use of porcine small intestinal submucosa in ten cases of feline corneal disease. *Veterinary Ophthalmology* 2001; 4: 147-153.
43. Hakanson N, Merideth RE. Conjunctival pedicle grafting in the treatment of corneal ulcers in the dog and cat. *Journal of the American Animal Hospital Association* 1987; 23: 641-648.
44. Blogg JR, Stanley RG, Dutton AG. JR. Use of conjunctival pedicle grafts in the management of feline keratitis nigrum. *J Small Anim Pract* 1989; 30: 678-684.
45. M Teresa Pena Gimenez and Immaculada Morales Farina. Lamellar keratoplasty for the treatment of feline corneal sequestrum. *Veterinary Ophthalmology* 1998; 1: 163-166.
46. Wendy M. Townsend, Amy J Rankin, Jean Stiles and Sheryl G. Krohne. Heterologous penetrating keratoplasty for treatment of a corneal sequestrum in a cat. *Veterinary ophthalmology* 2008; 11, 4: 273-278.
47. Borochoff SA. Penetrating keratoplasty. *Principles and Practice of Ophthalmology* 1994; 325-337 W.B Saunders, Philadelphia
48. Laura Barachetti, Chiara Giudice and Carlo Mortellaro. Amniotic membrane transplantation for the treatment of feline corneal sequestrum: pilot study. *Veterinary Ophthalmology* 2010 13,5 326-330.
49. Aiken, S.W, Badylak, S.F, Toombs, J.P, Shelbourne, K.D, Hiles, M.C, Lantz, G.C e Van Sickle, D. Small intestinal submucosa as an intra-articular ligamentous graft material : a pilot study in dog. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology* 1994; 7: 124-128.
50. Douglas Slatter. *Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*. Thrd edition. Saunders, 2001; 135-136.
51. Walde I, Schäffer EH, Köstlin RG. *Atlante a Colori di Oftalmologia del Cane e del Gatto*. Edizione italiana a cura di R. Busetto. Piccin editore, 2000; pag. 262.
52. Maggio C, Pizzirani S. Congiuntiva e terza palpebra. In: Guandalini A, Peruccio C, Pizzirani S. *Oftalmologia*. Editore Poletto, 2006; p.162.