

FARMA CI

AGGIORNAMENTO CONTINUO PER LA PRATICA CLINICA

©2023 • Volume 22 • N. 3 (Estratto)

Quando la Neuroprotezione nel Glaucoma è Evidence Based: 30 Anni di Ricerca sperimentale e clinica con la Citicolina per via intramuscolare, in soluzione orale ed in collirio

Vincenzo Parisi

*Direttore Centro Clinico e di Ricerca in Neuroftalmologia,
Malattie Genetiche e Rare IRCCS Fondazione G.B. Bietti Roma*



Vincenzo Parisi

Direttore Centro Clinico e di Ricerca in Neuroftalmologia, Malattie Genetiche e Rare IRCCS Fondazione G.B. Bietti Roma.

Ha conseguito l'Idoneità Scienti ca Nazionale come Professore di Prima fascia per il settore "Malattie apparato Visivo".

Dal 1985 ad oggi ha svolto numerosi studi in relazione allo studio neuro siologico della funzionalità delle vie ottiche in condizioni normali e patologiche (Diabete, Glaucoma, Patologie neurodegenerative del SNC).

È stato Responsabile Scienti co di 3 progetti (NGF, Otticopatia di Leber, Sclerosi Multipla) di Ricerca Finalizzata del Ministero della Salute e di numerosi Clinical Trials.

È autore di 333 pubblicazioni scienti che di cui 194 su riviste con Impact Factor. Totale Impact Factor: 666.15; Personal H Factor: 58 (Google Scholar), 47 (Scopus).

È uno dei "Top Italian Scientist".

Il sito di recensioni scienti che www.expertscape.com lo pone al primo posto, nel mondo, come esperto alla voce "Cytidine Diphosphate Choline".

È stato Professore a Contratto di Neuroftalmologia presso la Scuola di Specializzazione in Neurologia dell'Università di Roma "Tor Vergata" ed ha avuto l'incarico di Insegnamento di Neuroftalmologia presso la II Scuola di Specializzazione in Neurologia dell'Università di Roma "La Sapienza". Attualmente è Docente alla Scuola di Specializzazione in Neurologia dell'Università di Roma "Campus Biomedico".

È "Editorial Board Member" di Journal of Clinical Medicine e di Frontiers Neurology ed "Expert reviewer" di numerose riviste scienti che tra cui, Ophthalmology, Clinical Neurophysiology, Investigative Ophthalmology and Visual Science, Documenta Ophthalmologica, Ophthalmic and Physiological Optics, Current Eye Research, European Journal of Ophthalmology, American Journal of Ophthalmology, Brain, Scienti c Report, Vision Research, European Journal of Neurology, British Journal of Ophthalmology, Experimental Eye Research, Journal of Neuro-ophthalmology, Journal of Glaucoma, Journal of Translational Medicine, Journal of Alzheimer's Disease.

Ringraziamenti

Sono passati 30 anni dal 1993, cioè da quando abbiamo iniziato a trattare i pazienti glaucomatosi con Citicolina per via intramuscolare con il mio indimenticabile Maestro Prof. Massimo G. Bucci a cui va il mio primo ringraziamento per la sua fiducia nei miei confronti.

Il secondo ringraziamento va a tutti i pazienti glaucomatosi che per primi si sono sottoposti a terapie non convenzionali (trattamenti intramuscolari). Quanto ci veniva riferito dai pazienti ("Dottore, rivedo cose che non vedevo più") è stato per noi motivo di incoraggiamento per perseverare negli anni negli studi clinici non solo nel Glaucoma ma anche in altre patologie che interessassero il nervo ottico come le Neuriti Ottiche Ischemiche.

Il terzo ringraziamento va a tutti i miei colleghi con i quali abbiamo portato avanti negli anni tanti studi clinici. Tra tutti, un pensiero particolare va al mio inseparabile "compagno di viaggio" Prof. Gianluca Manni.

Infine, un ultimo ringraziamento va ad Omikron Italia che in questi anni ha creduto fortemente nella Citicolina come trattamento per la stabilizzazione della progressione ed anche per il miglioramento dei deficit della funzione visiva nei pazienti Glaucomatosi, con Neuriti Ottiche Ischemiche e con Retinopatia Diabetica inziale, promuovendo ricerche che hanno reso, sempre di più, il trattamento con Citicolina "Evidence Based Medicine".

Indice

1.	Il Glaucoma come patologia neurodegenerativa del sistema visivo	3
2.	Le basi della piramide dell'evidenza: studi pre-clinici con Citicolina	7
3.	Citicolina: i meccanismi di azione	10
4.	“Evidence Based Medicine” e Citicolina	13
4.1	La progressione del danno glaucomatoso: neuroenhancement e neuroprotezione	14
4.2	Evidenze dai primi studi che hanno valutato gli effetti della Citicolina somministrata per via intramuscolare nel Glaucoma	15
4.2.1	Evidenze dai primi studi perimetrici	15
4.2.2	Evidenze dai primi studi elettrofisiologici	15
5.	Evidenze degli studi che hanno valutato gli effetti della Citicolina somministrata per via orale	18
5.1	La biodisponibilità	18
5.2	Evidenze degli studi con Citicolina somministrata in sospensione orale nel Glaucoma	19
5.3	Evidenze degli studi con Citicolina somministrata in soluzione orale nel Glaucoma	20
5.4	Evidenze degli studi con Citicolina somministrata in soluzione orale nelle Neuriti Ottiche Ischemiche	23
6.	Evidenze degli studi che hanno valutato gli effetti della Citicolina somministrata in collirio	25
6.1	Cinetica della formulazione in collirio	25
6.2	Evidenze degli studi con Citicolina somministrata in collirio nel Glaucoma	26
6.3	Evidenze degli studi con Citicolina somministrata in collirio nella Retinopatia Diabetica	30
7.	Sintesi delle evidenze psicofisiche, elettrofisiologiche e morfologiche dopo trattamento con Citicolina somministrata per via intramuscolare, orale ed in collirio nel Glaucoma, nelle Neuriti Ottiche Ischemiche e nella Retinopatia Diabetica	33
8.	Considerazioni neurofisiologiche	36
9.	Evidenze.... in progress	37
10.	Considerazioni conclusive	38
11.	Bibliografia	39

Quando la Neuroprotezione nel Glaucoma è Evidence Based: 30 Anni di Ricerca sperimentale e clinica con la Citicolina per via intramuscolare, in soluzione orale ed in collirio

Vincenzo Parisi

Direttore Centro Clinico e di Ricerca in Neuroftalmologia, Malattie Genetiche e Rare IRCCS Fondazione G.B. Bietti Roma

1. Il Glaucoma come patologia neurodegenerativa del sistema visivo

Il Glaucoma oggi è considerato una patologia cronica neurodegenerativa caratterizzata da difetti del campo visivo (CV) associati a specifici danni del nervo ottico dovuti alla perdita delle cellule ganglionari retiniche (1).

Il principale fattore di rischio per l'insorgenza della malattia glaucomatosa è considerato l'aumento della pressione intraoculare (IOP). Infatti, diversi studi (2-8) hanno evidenziato che pazienti glaucomatosi non trattati con terapia atta a ridurre la IOP presentavano una progressione del danno glaucomatoso (54% dei pazienti in 10 anni nel St. Lucia Study, 60% dei pazienti in 5 anni nel Collaborative Normal-Tension Glaucoma Study, e 62% in 6 anni nell'Early Manifest Glaucoma Trial); al contrario, la riduzione

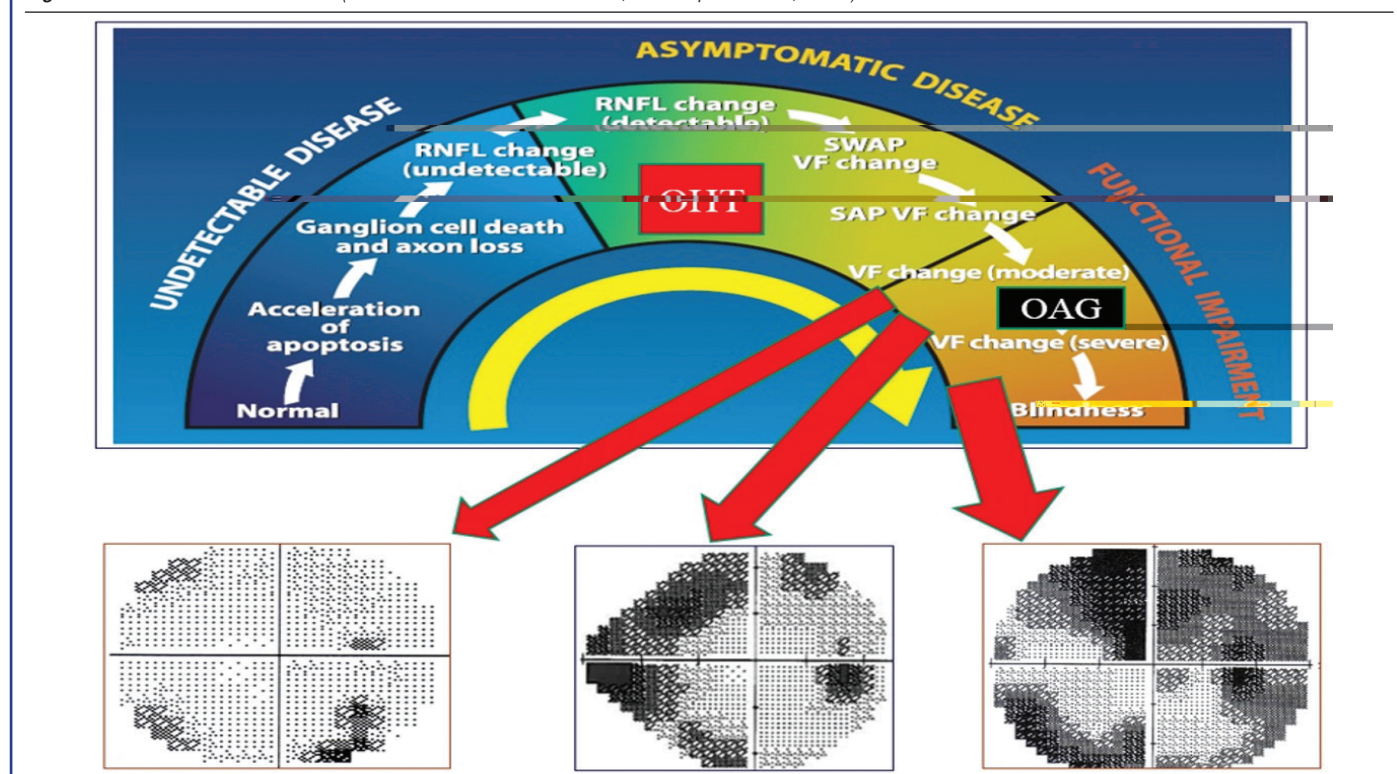
della IOP si è dimostrata essere efficace nel rallentare la progressione dei deficit del CV.

Tuttavia, se la patologia glaucomatosa fosse dovuta esclusivamente ad un aumento della IOP, le terapie mediche, il trattamento laser o chirurgico, con conseguente riduzione della IOP, avrebbero potuto indurre un arresto della progressione del danno glaucomatoso, mentre è stato dimostrato che circa il 45% di pazienti glaucomatosi, nonostante la riduzione della IOP presenta una progressione del danno glaucomatoso (8).

Quindi, attualmente, l'identificazione dei meccanismi fisiopatologici che determinano dapprima l'insorgenza e successivamente la progressione del danno anatomico-funzionale di tipo glaucomatoso rimane un argomento ancora dibattuto.

Weinreb e Coll. (9) hanno sintetizzato nel "Glaucoma Continuum" (Figura 1) gli eventi che portano dalla condizione normale

Figura 1. Il "Glaucoma Continuum" (Modificato da Weinreb R. et al., Am J Ophthalmol., 2004).



alla perdita del campo visivo fino alla cecità che viene stimata nel 2% della popolazione mondiale secondo la WHO (1).

È da sottolineare che nelle fasi iniziali della malattia glaucomatosa, il paziente non avverte nessun sintomo visivo e questo rappresenta la maggiore pericolosità del Glaucoma, in quanto è una patologia "subdola", che si instaura lentamente e progressivamente senza che il paziente si accorga di quanto stia accadendo nel suo sistema visivo (Undetectable and Asymptomatic Disease). Questo avviene perché è necessario che si abbia una perdita di almeno il 20% di cellule (RGC) e fibre ganglionari (10-12) affinché si determinino i difetti iniziali del campo visivo.

Attualmente il "gold standard" della valutazione della disfunzione visiva nella patologia glaucomatosa è costituito dalla perimetria bianco-su-bianco (nella pratica clinica si usa prevalentemente il perimetro Humphrey con il programma 24-2), in cui la presenza di un difetto medio (Mean Defect, MD) superiore a -2 dB è indicativo di un deficit perimetrico.

L'esame del CV si basa su risposte psichiche in cui percezione, apprendimento e memoria sono elementi essenziali per la corretta esecuzione del test. Il campo visivo rappresenta pertanto un'elaborazione della corteccia cerebrale visiva alla presentazione dello stimolo e quindi il "prodotto finale" della percezione e della trasmissione dell'input nervoso lungo tutta la via ottica (dai fotorecettori retinici fino alla corteccia). Tale tipo di test non permette di identificare in maniera selettiva e differenziale quali, delle strutture che formano le vie ottiche (es: fotorecettori, cellule ganglionari, nervo ottico, Nucleo Genicolato Laterale-NGL, radiazioni ottiche, corteccia visiva) siano funzionalmente compromesse nel corso della malattia glaucomatosa.

L'analisi funzionale selettiva dei vari elementi delle vie ottiche può essere valutata attraverso gli esami elettrofunkionali ed in particolare l'Elettroretinogramma da Pattern (PERG) che valuta la funzionalità delle cellule ganglionari (RGC) ed i Potenziali Evocati Visivi (PEV) che quantificano i tempi della conduzione nervosa lungo le vie ottiche.

Per ciò che riguarda l'aspetto morfologico, molto si deve allo sviluppo dell'OCT ed in particolare all'aumento della risoluzione delle immagini che si ottengono con tale tecnica. Attraverso l'OCT è stato possibile identificare una riduzione dello spessore delle fibre nervose peripapillari (RNFL) ed effettuare valutazioni morfologiche sempre più accurate.

In uno studio recente (13) abbiamo voluto analizzare il contributo della funzionalità delle RGC e della conduzione nervosa lungo le vie ottiche nella genesi della perdita del campo visivo

dei pazienti con Glaucoma ad angolo aperto (OAG) e quanto tali condizioni fossero correlate alla condizione morfologica delle RNFL. In questo studio è stato utilizzato come parametro della conduzione nervosa post-retinica il "Tempo Retino-Corticale (RCT)", cioè la differenza tra il tempo implicito P100 del PEV (espressione della risposta occipitale) e quello dell'onda P50 del PERG (espressione della attività delle cellule ganglionari).

Nella Figura 2 sono riportati esempi di soggetti glaucomatosi in cui è stata effettuata un'analisi funzionale (PERG/PEV), morfologica (OCT) e psichica (CV Humphrey 24/2).

Da questo studio sono emersi quattro dati importanti:

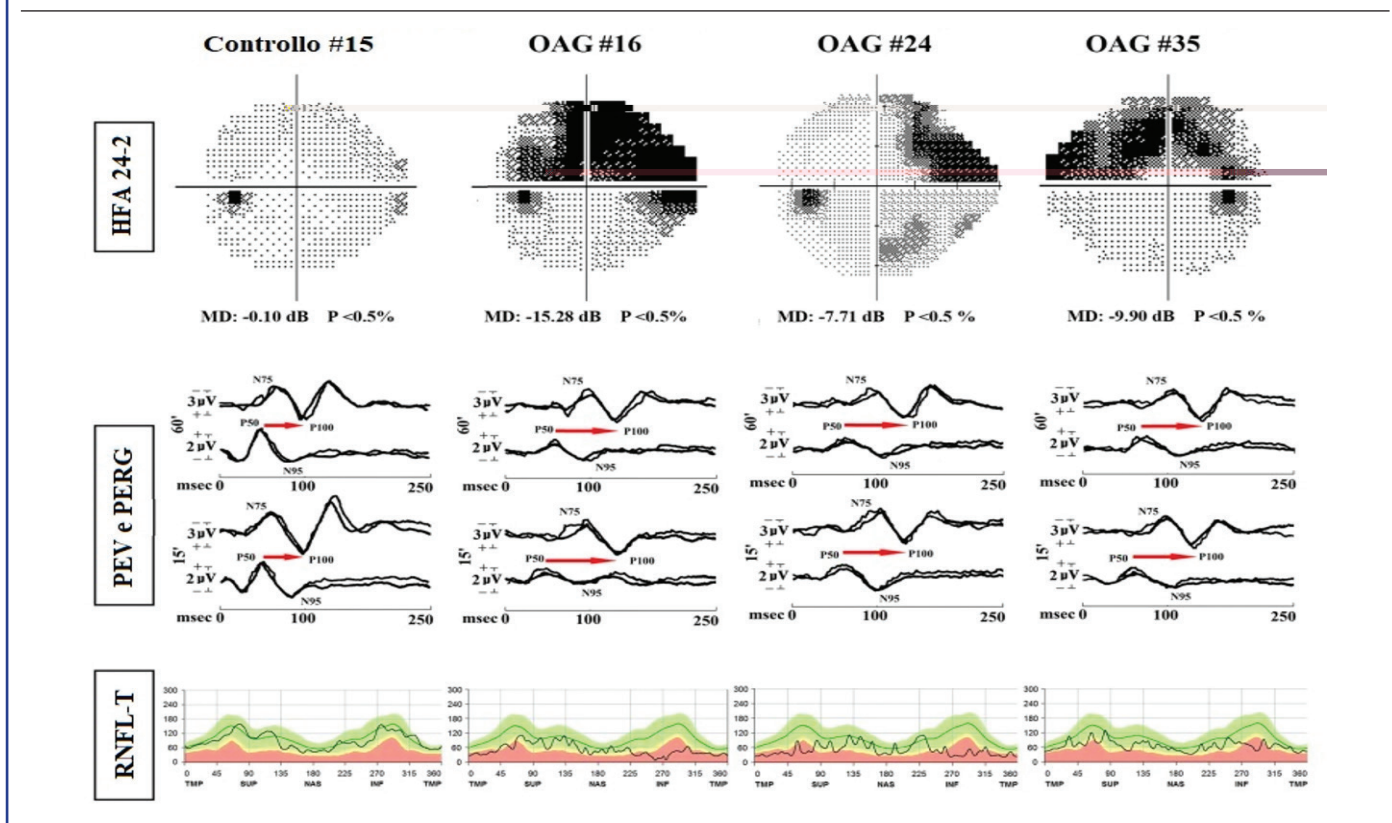
- 1) nei pazienti con OAG, il RCT era aumentato e significativamente correlato alla riduzione del PERG, suggerendo che l'input nervoso tra retina e corteccia visiva si "disperdeva" in maniera proporzionale all'aumentare della disfunzione delle cellule ganglionari;
- 2) nei pazienti con OAG, la MD e quindi il deficit visivo glaucomatoso era la risultante di due fonti di disfunzione: una a livello retinico (PERG ridotto) ed una a livello post-retinico (aumento del RCT);
- 3) nei pazienti con OAG, si osservava la presenza di correlazioni tra lo spessore del RNFL e le modificazioni del PERG ed assenza di correlazioni tra la riduzione dello spessore del RNFL e l'aumento dei tempi impliciti del PEV o del RCT;
- 4) veniva per la prima volta ipotizzato che il Glaucoma fosse una "patologia sinaptica" derivante da una disfunzione della giunzione sinaptica tra l'assone afferente proveniente dalla RGC e le cellule target del Nucleo Genicolato Laterale (NGL).

La spiegazione di quest'ultimo dato può essere fornita dalle conoscenze della neurobiologia della visione che può essere così sintetizzata:

- 1) l'attivazione della cellula ganglionare determina un rilascio di neurotrasmettitore che attiva la sinapsi tra cellula ganglionare e le cellule del NGL (cellula target) permettendo a queste ultime un normale trofismo;
- 2) la cellula target, se attivata da un assone afferente, rilascia il fattore di crescita nervosa (NGF) che nutre a sua volta l'assone afferente che l'aveva stimolata determinando così la stabilizzazione a lungo termine delle sinapsi.

Nel caso della malattia glaucomatosa, l'ipotesi neurobiologica che poteva spiegare la mancanza di correlazioni era la seguente: in presenza di una disfunzione delle cellule ganglionari retiniche (PERG con ampiezze ridotte) si determinava una

Figura 2. Esempi di perimetria Humphrey Field Analyzer (HFA) 24-2, registrazioni simultanee di elettroretinogramma da pattern (PERG) e potenziali evocati visivi (PEV) e analisi dello spessore dello strato di fibre nervose retiniche (RNFL-T) osservate in un rappresentativo occhio di controllo (# 15) e tre occhi rappresentativi di pazienti con glaucoma ad angolo aperto (OAG#16, OAG#24, OAG#35). MD, deviazione media; 60° e 15': dimensione angolare del singolo check di stimolazione visiva per la registrazione di PERG e PEV; N75 e P100 si riferiscono al primo picco negativo e al primo picco positivo delle registrazioni PEV (sono stati considerati il tempo implicito di P100 e l'ampiezza picco-picco N75-P100); P50 e N95 si riferiscono al primo picco positivo e al secondo picco negativo delle registrazioni PERG (sono stati considerati il tempo implicito di P50 e l'ampiezza P50-N95 picco-picco); il tempo retinocorticale (RCT), indicato dalla freccia rossa, è la differenza tra i tempi impliciti PEV P100 e PERG P50. msec, millisecondi; μ V, microvolt; T, temporale; S, superiore; N, nasale; I = inferiore si riferisce allo spessore settoriale RNFL espresso in micron. Negli occhi OAG, rispetto all'occhio di controllo, è possibile osservare ampiezze ridotte di P50-N95 del PERG e N75-P100 del PEV, tempi impliciti P50 del PERG e P100 del VEP ritardati, aumento del RCT e riduzione del RNFL-T. (Modificato da Parisi V. et al., *Front Aging Neurosci.*, 2021).



riduzione di rilascio di neurotrasmettitore a livello della sinapsi tra l'assone della cellula ganglionare (che forma il nervo ottico) e le cellule del NGL. Tale riduzione di neurotrasmettitore induce una disfunzione e poi la morte nelle cellule del NGL con conseguente rallentamento dell'input nervoso tra retina e corteccia visiva (aumento del RCT) e conseguente riduzione dell'attività bioelettrica a livello della corteccia visiva che si manifesta con un deficit della percezione evidenziabile tramite tipiche modificazioni glaucomatose del campo visivo.

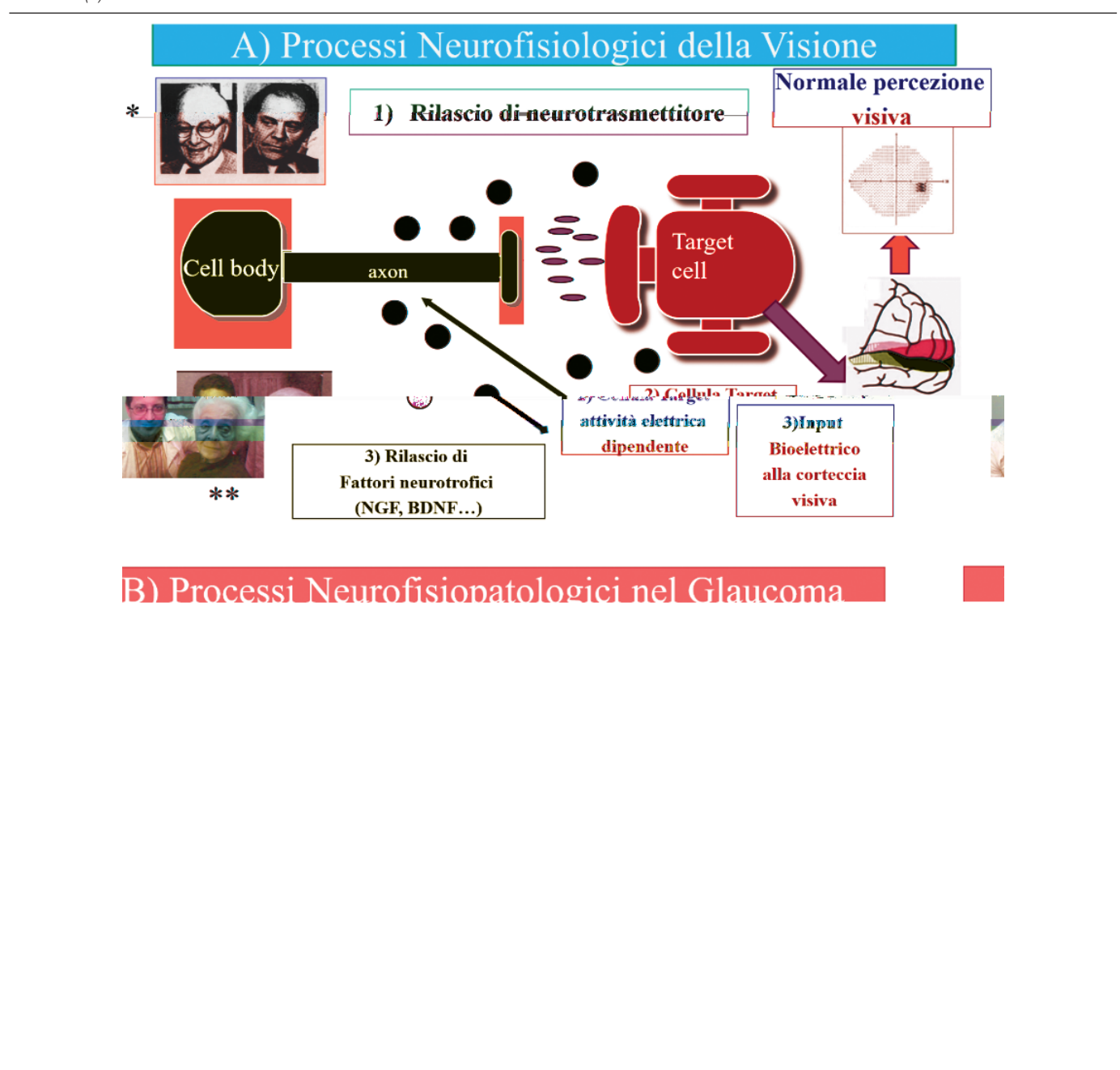
Questa ipotesi è stata supportata dapprima da un unico studio pubblicato riguardo il NGL nel Glaucoma (14), poi dagli studi

anatomico-patologici di Yucel e Gupta (15, 16) ed ancora più recentemente dagli studi neuroradiologici che hanno evidenziato aree di degenerazione neuronale cerebrale nei soggetti glaucomatosi.

In particolare, utilizzando la risonanza magnetica 1.5-T, è stata rilevata una dimensione ridotta, probabilmente dovuta a una degenerazione neurale, del NGL in pazienti OAG con moderata perdita del campo visivo (17). E' da rilevare che è stata osservata una correlazione tra l'atrofia NGL e lo stadio clinico della malattia (18). Al contrario, utilizzando la risonanza magnetica 3-T, non è stata trovata alcuna correlazione tra i valori dei parametri

neuroradiologici del NGL e quelli del campo visivo o con la riduzione del RNFL, e questa mancanza di correlazione è stata attribuita alle diverse disposizioni neuronali tra l'RGC e le loro fibre e NGL (19).

Figura 3. Schema riassuntivo della fisiologia della conduzione nervosa delle vie ottiche (A) e fisiopatologia delle vie ottiche in presenza di malattia glaucomatosa (B).



* **Prof. Hubel e Wiesel** vincitori del Premio Nobel nel 1981 per aver scoperto i meccanismi neurofisiologici della visione rappresentati nello schema.
 ** **Prof.ssa Rita Levi Montalcini**, vincitore del Premio Nobel nel 1986 per aver scoperto il ruolo dei fattori di crescita nervosi (NGF).

Pertanto, tutto quanto rilevato dalla risonanza magnetica nell'OAG riguardo il coinvolgimento del NGL dovrebbe essere una prova della compromissione precedentemente suggerita della sinapsi afferente dalle RGC agli elementi neurali NGL con una conseguente degenerazione trans-sinaptica del NGL (20).

Oltre alle evidenze MRI riguardanti il NGL, ci sono diversi studi di neuroimaging che evidenziano come nel Glaucoma sia presente anche un coinvolgimento morfologico di altre strutture che formano la via ottica postretinica, inclusa la corteccia visiva (21-23). In particolare, applicando una risonanza magnetica 3-T, Garaci et al. (24) hanno osservato una rottura assonale dei nervi ottici e delle radiazioni ottiche nei pazienti con OAG. Inoltre, l'atrofia delle aree cerebrali visive era associata a processi neurodegenerativi rilevati anche in altre strutture del SNC (come la corteccia frontoparietale, l'ippocampo e la corteccia cerebellare) (25-27).

Pertanto, grazie alle innovazioni semeiologiche elettro-fisiologiche e neuroradiologiche, è stato possibile formulare nuove ipotesi patogenetiche riguardo alla fisiopatologia del Glaucoma che oggi può essere considerata come una "patologia neurodegenerativa che coinvolge l'intero sistema nervoso visivo" (28). Nella Figura 3 sono riassunti i meccanismi fisiopatologici delle vie ottiche in condizioni normali e nel Glaucoma.

2. Le basi della piramide dell'evidenza: studi pre-clinici con Citicolina

Fin dalla sua prima scoperta ed arruolamento in modelli pre-clinici e in clinica, le proprietà terapeutiche della Citicolina sono state associate a meccanismi molecolari di neuroprotezione e neuroenhancement, quali l'omeostasi dei fosfolipidi, l'omeostasi redox, la dinamica mitocondriale e la modulazione della neurotrasmissione colinergica e dopaminergica (29-31). Sebbene la farmacologia della Citicolina presenti aspetti tutt'ora non del tutto definiti, alcuni di questi meccanismi possono essere dedotti già ad una prima ispezione della struttura chimica.

Infatti, la Citicolina presenta una formula di struttura identica a quella della CDP-colina endogena, precursore della fosfatidilcolina glicerofosfolipidica, entrambi metaboliti sintetizzati nelle cellule viventi a partire dalla colina e dalla citidina, attraverso una via biosintetica enzimatica naturale (32-36).

Insieme alla fosfatidiletanolamina, la fosfatidilcolina è un fosfolipide essenziale per il mantenimento delle membrane

biologiche negli organismi eucarioti ed entrambe le molecole assumono particolare rilievo per la omeostasi e funzionalità di cellule neuronali (tra cui le RGC ed i loro assoni), contribuendo a modulare il turnover delle membrane, la plasticità sinaptica e la neurotrasmissione, l'equilibrio ossidativo, nonché il rilascio di mediatori della neuroinfiammazione (32-37).

Al giorno d'oggi, la Citicolina è disponibile come formulazione orale, per iniezione intramuscolare e collirio (37, 38).

Indipendentemente dalla via di somministrazione, le proprietà farmacocinetiche e farmacodinamiche della Citicolina non chiariscono se questa sia effettivamente il composto attivo, un profarmaco o, più probabilmente, entrambe le cose (39-41). Dopo assunzione orale, la Citicolina viene ritenuta essere rapidamente assorbita, idrolizzata in colina e citidina nella parete intestinale e nel fegato, fornendo precursori biosintetici per i già citati fosfolipidi, ma anche per acidi nucleici, proteine e acetilcolina (39-41). Tuttavia, se questo è il caso, non è chiaro perché:

- 1) dopo l'assorbimento della Citicolina, la concentrazione di colina nel sangue sia molto più bassa e non equimolare a quella della citidina;
- 2) la Citicolina, a parità di dose, sia significativamente meno tossica della colina in modelli animali.

Più recentemente, la somministrazione di Citicolina 2% in collirio ha permesso di rilevare la molecola intatta, insieme ai suoi metaboliti, ad alta concentrazione nell'umore vitreo di soggetti umani, implicando che la neuroprotezione può essere probabilmente raggiunta tramite tale via *in vivo* (42).

La Citicolina ha dimostrato un'efficacia molto significativa *in vitro* e *in vivo* in modelli sperimentali di insulti di tipo vascolare, metabolico-eccitotossico e, più in generale, associati a fenomeni neurodegenerativi.

La somministrazione di Citicolina in colture primarie di cellule retiniche isolate da ratto, in cui è stata indotta eccitotossicità da glutammato, è in grado di conferire un'azione protettiva nei confronti dei processi di morte apoptotica (43-45). L'efficacia della Citicolina nei confronti di questo stimolo nocivo è stata ulteriormente documentata in un modello sperimentale di ischemia cerebrale, sempre indotta nel ratto, e correlata alla iper-regolazione dei trasportatori del glutammato, come EAAT2, in co-localizzazione con "raft" lipidici (46).

Sempre con riferimento a modelli di eccitotossicità, l'iniezione intraperitoneale di Citicolina è risultata protettiva, in base ai risultati ottenuti con valutazioni morfologiche (integrità

degli strati retinici) ed istologiche (pattern di espressione di colina acetil-transferasi e tirosina idrossilasi) e molecolari (marcatori di apoptosi), anche nei confronti di iniezione intraperitoneale di acido kainico (KA), un analogo del glutammato (47).

La Citicolina ha mostrato interessanti attività terapeutiche anche in ulteriori modelli di stress osmotico e metabolico, come nel caso di somministrazione di alte concentrazioni di glucosio, uno stimolo noto per essere nocivo per il tessuto cerebrale. In questi modelli, la Citicolina è stato documentato possiede efficacia protettiva (riscontro di ridotta frequenza di lesioni apoptotiche tramite TUNEL Assay ed attivazione di caspasi) in cellule retiniche isolate da ratti Sprague-Dawley (48). Inoltre, la somministrazione di Citicolina è stata associata ad un ripristino di livelli significativi del fattore neurotrofico BDNF e, di conseguenza, alla rigenerazione assonale nonché al ripristino della comunicazione sinaptica, agendo, verosimilmente, sul pathway ERK1-ERK2. Nel contesto retinico, tali effetti sono stati associati all'attivazione della glia di Muller (49). Peraltro, lo stesso signaling pathway (ERK1/ERK2) è stato associato alle attività neuroprotettive e antiapoptotiche della CDP-colina e della Citicolina in modelli neurofarmacologici di ischemia in ratto (50). In questo specifico studio, è stato riscontrato che il trattamento con Citicolina riduceva l'estensione della gliosi reattiva retinica e la frequenza apoptotica in tutti gli elementi retinici, come fotorecettori, cellule bipolari e RGC.

In uno studio condotto in topi diabetici, è stata rilevata l'efficacia della Citicolina (in formulazione liposomiale) nel prevenire la downregulation della sinaptofisina retinica ed i meccanismi di neuroinfiammazione (51). Inoltre, in un modello murino di diabete di tipo I di lunga durata, la somministrazione di Citicolina 2% in collirio, ha migliorato la riduzione dello spessore delle fibre nervose retiniche e della coroide (52).

Sempre in ambito di insulti di tipo metabolico, è stato riscontrato che la Citicolina possa migliorare la densità delle RGC e la morfologia dello spessore retinico in ratti sottoposti ad intossicazione da etambutolo. Nello stesso studio, in risposta all'insulto tossico e dopo trattamento con Citicolina, è stata rilevata una ridotta espressione di markers pro-apoptotici quali Bcl-2 e caspasi-3 (53).

Un altro promettente target dell'azione della Citicolina sembra essere rappresentato dalle sirtuine, una famiglia di deacetilasi istoniche di classe III, con un variegato ruolo come

modulatori della trascrizione di proteine coinvolte nel metabolismo energetico, nella neuroprotezione e nell'immunità (54). La somministrazione di Citicolina è stata associata ad un aumento di espressione di sirtuine nel cervello di ratti *in vivo*, ma anche in neuroni in coltura e in linfomonociti.

Ulteriori investigazioni in ratti SIRT-1/- hanno confermato che un significativo contributo degli effetti di protezione neurovascolare esercitata dalla Citicolina (direttamente o indirettamente) siano riconducibili all'interazione della molecola con SIRT-1 (54).

Un ampio campo di ricerca di base riguarda gli effetti della Citicolina nell'ischemia cerebrale indotta (55-65).

Da questi studi si può sintetizzare che, nell'ischemia cerebrale sperimentale, la somministrazione di Citicolina induce un'azione protettiva della perdita neuronale.

Ciò si verificherebbe attraverso un meccanismo di inibizione della fosfolipasi A2 (PLA2), che si è tradotta in una diminuzione dell'immunità tissutale e dello squilibrio redox (66). Proprietà, queste, che sono state ulteriormente confermate in un modello di invecchiamento di ratto (67). A tal riguardo, è interessante ricordare come PLA2 idrolizza la cardiolipina, un importante fosfolipide delle membrane mitocondriali e delle dinamiche (fusione, fusione, regolazione apoptosi) di questi organelli, fornendo un ulteriore razionale per spiegare le proprietà omeostatiche della Citicolina (68). Sempre in modelli di ischemia, è stato rilevato che la Citicolina è in grado di ridurre la frequenza apoptotica, esaminata tramite indagini immunoistochimiche del tessuto cerebrale in seguito ad occlusione dell'arteria cerebrale media in ratto e anche ridurre le alterazioni a carico della frazione lipidica cerebrale in primati (64, 65).

Inoltre, in ulteriori modelli sperimentali di degenerazione della retina dopo schiacciamento del nervo ottico, la somministrazione di Citicolina è stata associata ad una migliore vitalità e ad un ritardo nella degenerazione delle RGC attraverso la diminuzione dei livelli di Bcl-2, una proteina pro-apoptotica (69). Nella Tabella 1 è riportata una sintesi degli studi preclinici che hanno valutato l'efficacia terapeutica e il meccanismo d'azione della Citicolina *in vitro* e *in vivo*.

Le evidenze pre-cliniche riportate costituiscono la base della "piramide dell'evidenza" che supporta tutti gli studi clinici in cui è stata valutata l'efficacia terapeutica della Citicolina effettuati nel Glaucoma, nelle Neuriti Ottiche Ischemiche e nella Retinopatia Diabetica riportati nei successivi capitoli 5, 6 e 7.

Tabella 1. Sintesi degli studi preclinici che hanno valutato l'efficacia terapeutica e il meccanismo d'azione della Citicolina *in vitro* e *in vivo*.

Autori	Anno	Disegno dello studio	Modello sperimentale	Insulto	Dose di Citicolina	Risultati principali
Martinet M. et al. [30]	1979	Caso-controllo	Ratti	N/Da	50 mg/Kg (i.p.)	Sintesi di dopamina e tirosina nel corpo striato
Giménez R. et al. [67]	1998	Studio comparativo	Ratti Sprague-Dawley	N/Da	100-500 mg/Kg (assunzione di cibo)	PFA accumulo con l'età nello striato del cervello
Alvarez XA. et al. [97]	1999	Caso-controllo	Ratti Sprague-Dawley	Iniezione di amiloide beta nell'ippocampo e occlusione permanente unilaterale della carotide	62,5-250 mg/Kg (i.p.)	Neuroprotezione dalla degenerazione e dall'ipoperfusione indotta dall'A beta
Krupinsky J. et al. [64]	2002	Caso-controllo	Ratti Sprague-Dawley	Occlusione dell'arteria cerebrale media	500 mg/Kg (i.p.)	Tasso di apoptosi negli strati della retina
Rejda R. et al. [29]	2002	Caso-controllo	Conigli albini	N/Da	50 mg/Kg (i.p.)	Livelli retinici di catecolamina
Oshitari T. et al. [44]	2002	N/D	Coltura tissutale di espianti retinici murini	Glucosio alto	0,1-1 µM	Determinazione del tasso di apoptosi nelle RGC; proliferazione dei neuriti
Adibhatla RM. et al. [66]	2003	-	-	Ischemia cerebrale transitoria	-	Effetto sull'attività della PLA2
Krupinsky J. et al. [50]	2005	Caso-controllo	Ratti Sprague-Dawley	Occlusione dell'arteria cerebrale media	500 mg/Kg (i.p.)	Attivazione della MAP chinasi (ERK-1/2) negli strati retinici
Park C.H. et al. [47]	2005	Caso-controllo	Ratti Sprague-Dawley	Acido cainico (KA)	500 mg/Kg (i.p.)	Spessore degli strati retinici; colorazione IHC di ChAT e TH
Schutteauf F. et al. [69]	2006	Caso-controllo	Ratti marroni di Norvegia	Schiacciamento del nervo ottico	0,5 mg-2g/Kg (i.p.)	RGCs densità; Bcl-2 IHC
Hurtado O. et al. [46]	2008	Studio comparativo	Ratti Fischer	Occlusione dell'arteria cerebrale media	2 g/Kg (i.p.)	Associazione di EAAT2 con le zattere lipidiche nel cervello di ratto; assorbimento del glutammato
Schauss A.G. et al. [40]	2009	Tossicologia. Studio	Ratti Sprague-Dawley	N/D	Fino a 2000 mg/Kg (gavage orale)	Mortalità; valutazione dei parametri ematici e renali
Oshitari T. et al. [48]	2010	N/D	Colture retiniche e ratti di Sprague-Dawley	Glucosio alto	1 µM	Tasso di apoptosi nella popolazione di RGC (saggio TUNEL), attivazione delle caspasi; rigenerazione dei neuriti

Hurtado O. et al. [54]	2013	N/D	Ratti Fischer wild-type e Sirt1 ^{-/-}	Ischemia focale permanente	0,2-2g/Kg (i.p.)	Efficacia della Citicolina in assenza di SIRT-1
Matteucci A. et al. [49]	2014	N/D	Embrioni di ratto Wistar	Eccitotossicità e glucosio elevato	10-1000 µM	Tasso di apoptosi; attivazione delle caspasi
Maestroni S. et al. [52]	2015	Studio comparativo	Topi C57Bl/6	Diabete di tipo I	2% Citicolina-soluzione oftalmica	Miglioramento dello spessore degli strati retinici, in particolare di RNFL e IPL
Bogdanov P. et al. [51]	2018	-	Topi Db/db	Diabete di tipo II indotto dall'obesità	2% Citicolina-soluzione oftalmica	Tasso di apoptosi; attivazione gliale; attivazione delle vie proinfiammatorie; IHC della Sinaptofisina
Carnevale C. et al. [42]	2019	Caso-controllo	Umano	N/D	2% Citicolina-soluzione oftalmica	Concentrazione di Citicolina nell'umor vitreo
Sbardella D. et al. [94]	2020	N/D	Saggio biochimico e linee cellulari derivate da neuroni umani	N/Da	1-100 µM	Modulazione allosterica del proteasoma; aumento dell'attività dell'UPS in linee cellulari in coltura
Vernazza S. et al. [95]	2022	N/D	Saggio biochimico e linee cellulari	N/D	2% Citicolina	Citoprotezione nei confronti di stress ossidativo
Nusanti et al. [53]	2022	Caso-controllo	Ratti Wistar	Intossicazione da etambutolo	1 mg/Kg/die	Valutazione di danno ganglionare
Abbreviazioni. N/A = Non Applicabile; PAF = Fattore Attivato dalle Piastrine; RGCs = Cellule Gangliari Retiniche; PLA2 = Fosfolipasi A2; MAP = Proteina Attivata dal Mito-3 gene; dIHC = Immunohistochimica; ChAT = Chatecolamina Acetil Transferasi; TH = Tirosina Idrossilasi; RNFL = Retinal Nerve Fiber Layer; IPL = Inner Plexiform Layer; UPS: Sistema Proteasoma Ubiquitina.						

3. Citicolina: i meccanismi di azione

La Citicolina è un precursore naturale della fosfatidilcolina che costituisce il principale componente delle membrane neuronali e mitocondriali. Riguardo alla fisiologia delle cellule ganglionari retiniche, la fosfatidilcolina svolge due ruoli molto importanti: uno strutturale, in quanto rappresenta il principale fosfolipide di membrana, ed uno funzionale in quanto, a seguito dell'azione dell'enzima fosfolipasi A2, è fonte di acidi grassi (AA e DAG), fondamentali messaggeri intracellulari.

È noto che la disfunzione o la degenerazione della membrana cellulare induce la liberazione di sostanze citotossiche (enzimi litici, aminoacidi eccitotossici, etc.) che inducono un'estensione dell'area di danno oppure attivano i meccanismi che portano

all'apoptosi (per esempio un aumento della concentrazione intracellulare di ceramide, un potente agente pro-apoptotico, prodotto dal catabolismo degli snogolipidi), [vedi come review (70, 71)]. In particolare, nelle patologie ad eziologia vascolare (ad esempio nello stroke) si rileva una perdita di componenti fosfolipidici conseguente ad un'alterazione nel loro metabolismo, che conduce a lesioni irreversibili delle membrane cellulari dei neuroni. Biochimicamente si osserva una perdita di fosfatidilcolina, che durante i processi ischemici viene degradata in acidi grassi con produzione di specie reattive dell'ossigeno (Reactive Oxygen Species, ROS).

Gli studi sperimentali (55-61) suggeriscono che la somministrazione di Citicolina induce una riattivazione dell'anabolismo dei fosfolipidi con minore degradazione di fosfatidilcolina e quindi

ridotta formazione di ROS. Di conseguenza è ben documentato in letteratura che il trattamento con Citicolina riduce la perdita neuronale dopo ischemia cerebrale anche nell'uomo (72, 73-76). Sempre sulla base degli studi sperimentali si possono spiegare gli effetti della Citicolina nella malattia di Alzheimer (77, 78, 79) ed in quella di Parkinson (80, 81, 82).

Un importante indizio farmacologico e molecolare, che sta prendendo progressivamente corpo per spiegare l'attività biologica della Citicolina, riguarda la regolazione della proteostasi, un termine che denota il delicato equilibrio tra sintesi e degradazione delle proteine il cui mantenimento è di centrale importanza per la vita cellulare ed in particolare per cellule post-mitotiche quali i neuroni (83-85).

I neuroni, così come altre cellule post-mitotiche, sono particolarmente vulnerabili ad alterazioni della proteostasi poiché sperimentano un'attività metabolica molto accelerata e, allo stesso tempo, non hanno la possibilità di diluire i prodotti tossici del metabolismo attraverso la mitosi (84, 85). Un esempio paradigmatico di squilibrio della proteostasi, in cui l'accumulo di proteine prevale sulla capacità degradativa, è la deposizione di proteine amiloidogeniche (ad esempio, peptide A β in AD, α -sinucleina in PD, tra gli altri) nei compartimenti intracellulari ed extracellulari durante l'insorgenza e la progressione di malattie neurodegenerative.

Il versante degradativo della proteostasi è in gran parte gestito da due apparati proteolitici intracellulari, il sistema di proteasoma dell'ubiquitina (UPS) e l'autofagia, ampiamente descritti nelle referenze qui indicate ed ulteriormente discusso di seguito (86-91).

Nel contesto della proteostasi, la Citicolina è stata proposta come agonista endogeno di sigma-1, una proteina chaperone che si trova nel reticolo endoplasmatico (ER), e con espressione documentata nel corpo ciliare ed iride, all'interno delle cui membrane svolge molteplici funzioni biologiche, tra cui la regolazione del flusso di Ca²⁺ e l'attivazione di vie neuroprotettive, come l'autofagia, e l'attività sinaptica colinergica (92, 93). Infatti, la modulazione farmacologica del/i recettore/i con la somministrazione topica di ligandi selezionati ha dimostrato di modulare la protezione retinica e la pressione intraoculare (93). Inoltre, è stato scoperto che il recettore sigma-1 conferisce protezione alle cellule dell'epitelio pigmentato retinico contro lo stress ossidativo, migliorando la sopravvivenza cellulare e il danno al DNA, indicando chiaramente che la modulazione di questa proteina è anche un bersaglio attraente nei disturbi oftalmologici e nei disturbi neuro-degenerativi (93).

Nell'ambito dell'attività del sistema UPS, invece, una recen-

te ricerca ha fatto luce su un'interazione ad alta affinità tra la Citicolina ed il proteasoma, una particella multi-subunità che esegue la proteolisi di proteine marcate con una catena di poli-ubiquitina (94).

In questo studio è stato riportato che la Citicolina agisce sulla particella catalitica del proteasoma, nota come 20S, attraverso un fenomeno puramente allosterico, potenziando l'attività enzimatica del complesso nei confronti di substrati sintetici, ma anche di una proteina amiloidogenica con noto interesse in campo neurodegenerativo quale la α -sinucleina. Nello stesso studio, la somministrazione di Citicolina a cellule umane derivate da neuroni è stata riscontrata stimolare la clearance dei substrati naturali intracellulari dell'UPS (Proteine Poli-Ubiquitinate) ed indurre un riarrangiamento strutturale delle particelle del proteasoma con aumento di particelle cataliticamente attive.

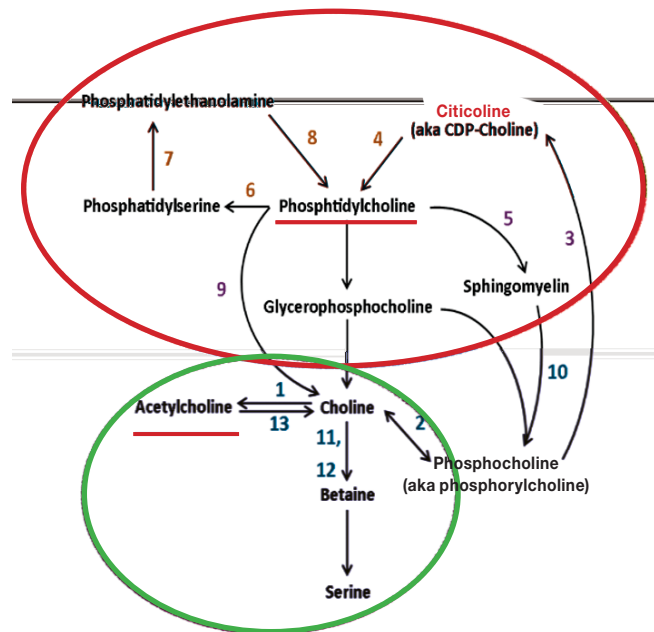
Ancor più recentemente, la Citicolina è stata testata in un modello 3D di trabecolociti umani stimolati con stress ossidativo (acqua ossigenata). In presenza di Citicolina, parametri di stress cellulare, quali attività mitocondriale, apoptosi, induzione di proteine da stress e sintesi e rilascio di citochine proinfiammatorie, risultavano essere significativamente migliorati rispetto a cellule sottoposte a stress ma in assenza di farmaco (95).

In coerenza con il quadro proposto, è importante sottolineare che la Citicolina può ridurre l'accumulo di peptide A β nell'ippocampo di ratti Sprague-Dawley, migliorando la sopravvivenza globale dei neuroni (96, 97). Il peptide A β è un substrato del proteasoma e, in particolare, è un substrato riconosciuto di enzimi che interagiscono biologicamente con questo complesso multi-subunità, come l'Insulin Degrading Enzyme (IDE) e la neprilisina (90-100).

Pertanto, sintetizzando quanto emerge dagli studi riportati nel capitolo 2, e dagli studi nell'uomo (72, 77, 78, 80) si può affermare che la Citicolina, essendo un precursore dei fosfolipidi che formano le membrane cellulari possa avere un'azione strutturale ma oltre questo bisogna considerare un altro meccanismo d'azione: aumentando i livelli di neurotrasmettitori presenti nel Sistema Nervoso Centrale, tra cui la dopamina (aumentandone la sintesi e inibendone la ricaptazione) e l'acetilcolina (per la cui sintesi fornisce la colina) svolge un'azione neuromodulatrice. Nella Figura 4 è riportata una sintesi dei meccanismi di azione della Citicolina.

È da tenere anche in considerazione che, recentemente, è stato dimostrato che la Citicolina sia in grado di indurre una rigenerazione mielinica in un modello murino di demielinizzazione indotta da cuprizone (101).

Figura 4. Sintesi dei meccanismi d'azione della Citicolina.



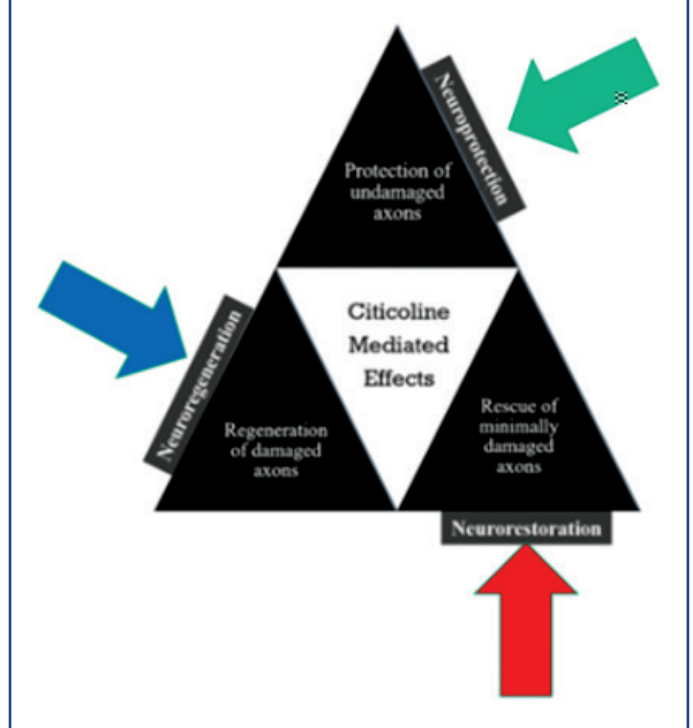
Azione strutturale

- Intermedio essenziale nella biosintesi dei fosfolipidi di membrana, in particolare della fosfatidilcolina
- Stimola la sintesi di fosfatidilcolina e riduce il rilascio di acidi grassi liberi
- Ristabilisce i livelli del componente fosfolipide cardiopina a livello della membrana mitocondriale interna
 - Riduzione dello stress ossidativo
 - Stabilizzazione della membrana cellulare

Azione funzionale

- Aumenta i livelli di neurotrasmettitori nel SNC come la dopamina (aumentando l'attività della tirosina idrossilasi e inibendo la ricaptazione di dopamina), la noradrenalina e la serotonina
- Fornisce la colina per la biosintesi dell'acetilcolina

Figura 5. Azioni della Citicolina (Modificata da Faiq M.A et al., PRER 2019).



Alla luce di tutti i presupposti, Faiq e Coll., in una review pubblicata nel 2019 sull'autorevole rivista Progress Retinal Eye Research (32), suggerisce che la Citicolina, attraverso un meccanismo di azione multifattoriale possa avere potenzialità di Neuroprotezione, Neurogenerazione e Neuroriparazione, come riportato nelle Figure 5,6. Nella Tabella 2 sono riportati i meccanismi di azione e gli effetti della Citicolina.

Figura 6. Proprietà della Citicolina (Modificata da Faiq M.A. et al., PRER 2019).

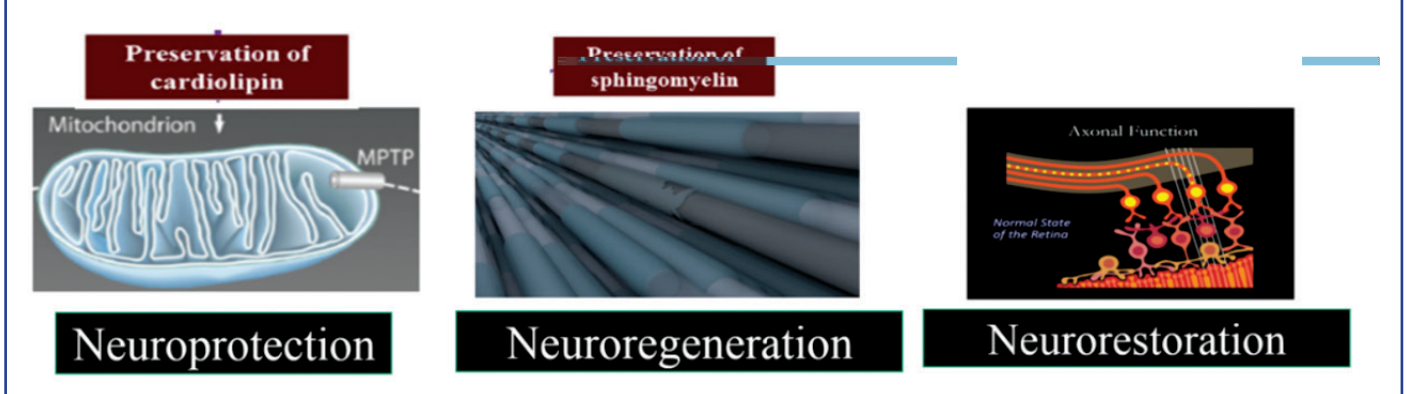


Tabella 2. Sintesi dei meccanismi d'azione ed effetti della Citicolina.

Azione biochimica	Effetti metabolici	Effetti sull'apparato visivo
Stimola la sintesi della fosfatidilcolina	Permette la riparazione delle membrane cellulari danneggiate	Aumenta la sopravvivenza delle cellule retiniche in condizioni di sofferenza
Promuove l'utilizzo della ceramide nella sintesi della sfingomieline	Inibisce l'effetto pro-apoptotico della ceramide e dei suoi derivati	Protegge le fibre del nervo ottico dalla morte per apoptosi. Facilita la conduzione del segnale elettrico lungo le fibre mieliniche
Inibisce il rilascio di acido arachidonico e l'attivazione della PLA₂	Mantiene l'integrità delle membrane e previene il rilascio di mediatori eccitotossici (ad esempio il glutammato)	Protegge dall'apoptosi e aumenta la sopravvivenza delle cellule retiniche in condizioni di sofferenza. Potenzia l'effetto neuroprotettivo degli antagonisti dei recettori NMDA (es. MK 801, amantadina, memantina)
Protegge la cardiolipina (componente della membrana interna dei mitocondri)	Facilita i processi energetici e la produzione di ATP	Migliora la funzionalità di tutte cellule retiniche
Entra nella sintesi di acetilcolina	Previene il fenomeno di cannibalismo delle membrane cellulari che si verifica quando la disponibilità di colina è insufficiente	Migliora la funzionalità e la conduzione dell'impulso nervoso nelle cellule a trasmissione colinergica
Altre azioni biochimiche non ancora identificate	Incrementa il contenuto intracellulare di dopamina nei neuroni dopaminergici	Migliora la funzionalità e la conduzione dell'impulso nervoso nelle cellule a trasmissione dopaminergica

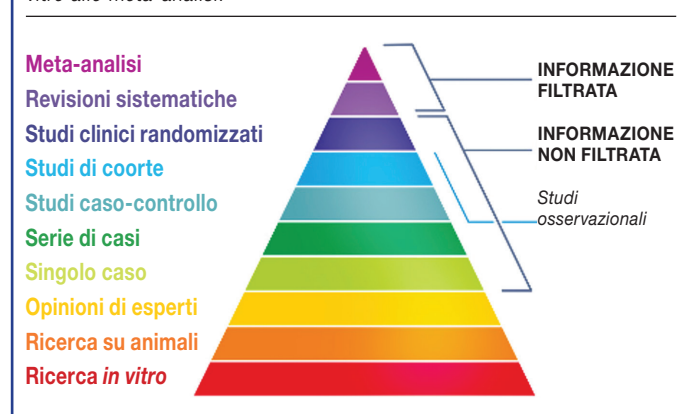
4. "Evidence Based Medicine" e Citicolina

Nell'ambito della professione medica, l'approccio diagnostico e terapeutico al paziente può essere basato sull'esperienza clinica o sulle conoscenze derivate dalle evidenze scientifiche che possiedono dal medico o su una mediazione tra entrambe.

Nel primo caso, la medicina basata sull'esperienza clinica è stata definita da O'Donnell (102) come "commettere gli stessi errori con crescente convinzione per un numero impressionante di anni", ed in questo caso, nella pratica clinica, quando la scelta diagnostico-terapeutica si basa sulla sola esperienza indipendentemente dalle evidenze scientifiche esistenti non è raro che il paziente sia sottoposto sia a procedure diagnostiche che a trattamenti terapeutici non in linea con l'evolversi delle conoscenze scientifiche. La medicina basata sull'evidenza scientifica (EBM) è un metodo clinico ideato per il trasferimento delle conoscenze derivanti dalle ricerche scientifiche alla cura dei singoli pazienti. Può essere considerata, quindi, come "l'uso esplicito e coscienzioso delle migliori prove scientifiche nel prendere decisioni nella pratica medica" (103). Pertanto, nella EBM, il paziente è il "centro" della medicina fondata sulle prove ed egli deve conoscere bene perché gli vengono consigliati determinati esami diagnostici o determinate terapie.

Soprattutto il paziente deve essere messo a conoscenza, dal suo medico, della logica e della cultura alla base dei consigli terapeutici, non casuali o soggettivi, ma fondati su dati di ricerca scientifica rigorosa applicati "su misura" ad ogni singolo paziente. L'evidenza scientifica si costruisce nel tempo, partendo dalla ricerca di base, per arrivare poi alle meta-analisi (revisione con analisi statistica di tutti gli studi pubblicati sull'argomento) (Figura 7).

Figura 7. Fasi della "piramide" dell'evidenza scientifica: dalla ricerca in vitro alle meta-analisi.



Nel 1993 abbiamo iniziato a trattare i nostri pazienti glaucomatosi con Citicolina, (singoli casi della piramide) sull'evidenza che, tramite un approccio elettro-siologico, il Glaucoma potesse essere una patologia che interessasse non solo le strutture oculari ma anche le strutture cerebrali deputate alla visione (104). Questo campo di ricerca è tutt'ora molto "vivo" con interessanti progetti di ricerca in corso.

In quel periodo, veniva ampiamente utilizzata nelle patologie neurodegenerative come la malattia di Alzheimer, il Parkinson, nelle ischemie o nei traumi cerebrali, una molecola, la Citicolina, che somministrata per via endovenosa o per via intramuscolare, induceva un miglioramento della soglia di attenzione dei pazienti con malattia di Alzheimer (77,78), coadiuvava il trattamento con Levodopa nei pazienti con malattia di Parkinson (80), migliorava i tempi di recupero dopo ischemia (72) o traumi cerebrali (105). Queste evidenze sono riportate nella review di Secades e Gareri del 2022 (106).

Quindi, quale molecola più della Citicolina aveva dei presupposti clinici ed evidenze scientifiche utili al nostro scopo, vale a dire aggiungere alla terapia ipotonizzante un trattamento che potesse migliorare i deficit funzionali rilevati nei differenti elementi nervosi che formano le vie ottiche?

Iniziarono quindi i primi studi casi-controllo, seguiti poi da studi di coorte e da studi clinici randomizzati, seguendo le varie tappe della piramide della ricerca scientifica.

Allo stesso tempo, c'è stato un notevole fiorire, nella letteratura scientifica, di evidenze fornite da studi sperimentali preclinici (condotti in modelli *in vitro* o in modelli animali) atti ad identificare sia i meccanismi di azione che le specifiche proprietà della Citicolina. Questi studi, che costituiscono le basi della piramide dell'evidenza, sono riportati nel prossimo capitolo.

Siamo arrivati quindi a comprendere, nell'uomo, che la Citicolina potesse essere efficace nell'incrementare la funzione e migliorare la condizione strutturale delle cellule ganglionari retiniche (RGC). Questo aspetto è riportato in una review del 2018 (107).

Quindi, attualmente, la Citicolina è una molecola che è stata oggetto di studio in tutte le fasi della piramide dell'evidenza scientifica e ciò è documentato dai 1282 articoli scientifici che si possono trovare (elenco aggiornato al 10 luglio 2023) su PUBMED alla voce "Citicoline" (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=citicoline+&sort=date>).

Lo scopo di questa review è quella di fornire all'oculista tutte le informazioni basate sulle evidenze scientifiche che sia riguardo agli studi preclinici che agli studi condotti nell'uomo relativa-

mente a tre patologie: Glaucoma, Neuriti Ottiche Ischemiche e Retinopatia Diabetica attraverso test psicofisici e valutazioni elettro-siologiche e morfologiche dei vari elementi che formano le vie ottiche.

Attraverso la conoscenza delle prove di efficacia al momento disponibili, noi oculisti abbiamo più informazioni nel prendere decisioni terapeutiche derivanti dalle evidenze scientifiche che con beneplacito da parte del singolo paziente.

4.1 La progressione del danno glaucomatoso: neuroenhancement e neuroprotezione

La considerazione che il danno glaucomatoso possa progredire nonostante un buon compenso tonometrico (1-8), unitamente alle evidenze di carattere neurosiopatico, ha fatto sì che la malattia glaucomatosa sia oggi considerata nella sua globalità e non esclusivamente come una patologia da ipertensione oculare.

Ciò ha portato a nuove importanti strategie terapeutiche: salvare dai processi neurodegenerativi e quindi dalla morte cellulare gli elementi neuronali facenti parte del sistema nervoso visivo. Questo approccio può andare sotto il nome di "neuroprotezione".

Poiché il principale fattore di rischio per lo sviluppo della malattia glaucomatosa è costituito dall'aumento della pressione intraoculare, il primo atto con finalità neuroprotettive è quello di ridurre la pressione oculare (neuroprotezione indiretta) con lo scopo di limitare i processi neurodegenerativi delle cellule ganglionari retiniche. A tal proposito, è stato interessante osservare come, riducendo la pressione oculare, si possa in parte recuperare la funzione delle cellule ganglionari (108-113).

Un altro e molto più importante approccio è quello, di identificare delle molecole che abbiano un'azione diretta sugli elementi neuronali retinici e delle vie ottiche preservandone struttura e funzione (neuroprotezione diretta).

Nel 2012 Chang e Goldberg [vedi come review (114)], hanno lanciato un nuovo concetto: il neuroenhancement. Gli autori hanno affermato che nella malattia glaucomatosa esiste la possibilità di proteggere il corpo cellulare, le fibre nervose e di incrementare la funzione delle cellule ganglionari retiniche (neuropotenziamento) tramite un adeguato approccio terapeutico. Per tale affermazione, questi autori si sono basati esclusivamente sul nostro primo lavoro pubblicato nel 1999 su *Ophthalmology* (115) in cui abbiamo documentato che dopo il trattamento con Citidina-5-difosfocolina (Citicolina) si osservava un incremento della funzione delle cellule ganglionari misurabile oggettivamente attraverso le modificazioni del PERG.

4.2 Evidenze dai primi studi che hanno valutato gli effetti della Citicolina somministrata per via intramuscolare nel Glaucoma

4.2.1 Evidenze dai primi studi perimetrici

Il Prof. Michele Virno e la Prof.ssa Josè Pecori Giraldi ebbero per primi l'intuizione di "traslare" nella patologia glaucomatosa, unitamente alla terapia ipotonizzante, il trattamento con Citicolina dapprima esclusivo appannaggio dei neurologi per i pazienti con patologie neurodegenerative come le ischemie cerebrali, la Malattia di Alzheimer o il Parkinson [vedi review Secades e Garreri (106)].

La loro idea si basava sul parallelismo tra gli ipotizzati deficit microvascolari nella patologia glaucomatosa e le patologie ischemiche cerebrali, dove si aveva evidenza di risultati terapeutici grazie alla Citicolina (106).

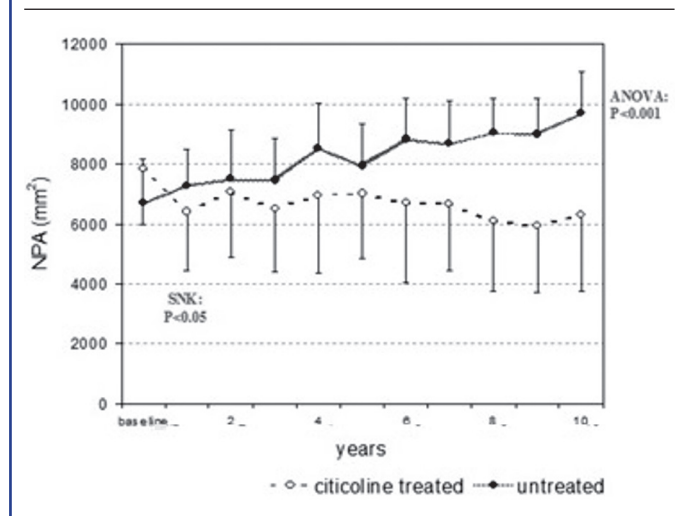
Il Prof. Virno e Coll., hanno per primi osservato che dopo il trattamento con Citicolina per via intramuscolare per 15 giorni si riduceva il difetto perimetrico valutato come "area di non percezione (NPA)" ed espresso in mm². I risultati erano molto interessanti e suscitavano immediatamente notevole interesse nel mondo oftalmologico (116). Nel 2000 gli stessi autori hanno pubblicato uno studio (117) in cui riportano i risultati di 10 anni di follow-up in cui la NPA era stata valutata su 21 pazienti glaucomatosi, di cui 10 trattati con Citicolina (per via intramuscolare per 15 giorni) in associazione alla terapia ipotonizzante ed 11 pazienti di controllo trattati con la sola terapia ipotonizzante. Da questo studio si evinceva come, a seguito del ripetuto trattamento con Citicolina, la NPA era stabilmente ridotta, mentre se ne osservava un aumento della NPA nei pazienti trattati esclusivamente con terapia ipotonizzante.

Tuttavia, nonostante tali evidenze, gli studi perimetrici (116, 117) suscitavano qualche perplessità dovuta soprattutto ad una caratteristica fondamentale della Citicolina: la capacità di aumentare la soglia di attenzione ("*citicolina successfully increases consciousness level in several brain disorders ascribed to vascular, traumatic or degenerative processes*") (107, 118, 119).

Quindi, non era del tutto definibile se i miglioramenti del campo visivo dopo trattamento con Citicolina fossero dovuti ad una migliore attenzione nell'eseguire il test o se fossero dovuti ad una azione diretta della molecola sulle varie strutture che formano il sistema nervoso visivo.

Nella Figura 8 sono riportati i risultati dello studio di follow-up in 10 anni di trattamento con Citicolina.

Figura 8. Effetti del trattamento con Citicolina sull'andamento dell'"area di non percezione" (NPA) durante un periodo di 10 anni valutata su 10 pazienti glaucomatosi trattati con Citicolina (intramuscolo per 15 giorni consecutivi ogni 6 mesi) e su 11 pazienti glaucomatosi di controllo. Al termine del follow-up si osservava una NPA ridotta nei pazienti trattati con Citicolina rispetto ai non trattati (da Virno M. et al., *Acta Ophthalmol Scand.*, 2020).



4.2.2 Evidenze dai primi studi elettrofisiologici

L'unico approccio per fugare i dubbi che la Citicolina potesse migliorare i campi visivi grazie alla sua capacità di aumentare la soglia di attenzione è stato quello di disegnare uno studio in cui le valutazioni degli effetti della Citicolina fossero stati valutati attraverso metodiche di valutazione oggettiva della funzionalità delle cellule ganglionari e della conduzione nervosa lungo le vie ottiche: la registrazione di PERG e PEV [vedi voce bibliografica (13) come review metodologica] prima e dopo il trattamento con Citicolina.

Lo studio (115) aveva il seguente disegno: primo periodo di trattamento di 2 mesi (secondo i dati preliminari, due mesi di trattamento era il periodo minimo per osservare variazioni dei parametri elettrofunzionali), seguito da 4 mesi di sospensione del trattamento (allo scopo di osservare la dipendenza dei risultati dal trattamento effettuato e per osservare per quanto tempo potessero durare gli effetti una volta sospeso il trattamento). Al termine di tale periodo, un gruppo proseguiva il periodo di sospensione per ulteriori 4 mesi (al fine di osservare il tempo massimo di permanenza dell'efficacia), mentre in un altro gruppo veniva effettuata una seconda ripetizione dello schema di 2 mesi di trattamento seguito da 4 mesi di sospensione (per verificare la riproducibilità dei risultati ottenuti).

In sintesi, da tale studio si evinceva che dopo 2 mesi di tratta-

mento con Citicolina per via intramuscolare (Neuroton®, Nuovo Consorzio Sanitario, Italia) si osservava un miglioramento della funzione delle cellule ganglionari retiniche (incremento dell'ampiezza P50-N95 del PERG), della conduzione nervosa post-retinica (riduzione del Tempo Retinocorticale) e dell'intera conduzione lungo le vie ottiche (riduzione del tempo implicito P100 del PEV). Dopo 4 mesi di sospensione, i valori dei parametri elettrofunzionali erano ridotti rispetto a quelli osservati dopo 2 mesi di trattamento ma ancora migliori rispetto a quelli basali. Dopo il secondo ciclo di due mesi di trattamento con Citicolina si osservava un ulteriore miglioramento dei parametri PERG e PEV che rimanevano significativamente differenti rispetto alla condizione basale. Tali parametri peggioravano dopo il secondo periodo di sospensione, ma erano ancora significativamente migliorati rispetto alla situazione basale. Nel gruppo dei pazienti in cui la sospensione era stata prolungata per ulteriori 4 mesi

(in tutto 8 mesi di sospensione), al termine di tale periodo, tutti i parametri elettrofunzionali non erano statisticamente differenti rispetto al basale.

Questi interessanti risultati ci permisero di presentare il lavoro all'ARVO nel 1998 (120), di vincere il Primo Premio per La Ricerca Clinica della Società Oftalmologica Italiana nel 1998 e di pubblicare il lavoro per esteso su *Ophthalmology* nel 1999 (115) ma soprattutto chiarivano che nei pazienti glaucomatosi dopo trattamento con Citicolina le variazioni del campo visivo non erano ascrivibili ad un miglioramento della soglia di attenzione ma ad un'azione della Citicolina sulla funzionalità delle cellule ganglionari retiniche e sulla conduzione nervosa lungo le vie ottiche.

Le motivazioni neuro siopatologiche alla base delle osservate variazioni funzionali sono discusse di seguito nel capitolo 8.

Nella Figura 9 sono riportati esempi di tracciati PERG e PEV in

Figura 9. A sinistra esempi di tracciati ottenuti in condizione basale e dopo due differenti periodi (giorni 60 e 240) di due mesi di trattamento con Citicolina per via intramuscolare e dopo due differenti periodi di sospensione del trattamento (giorni 180 e 360).

A destra sono riportati i valori medi e l'errore standard (linea verticale in coincidenza del simbolo) rilevati per ciascun parametro elettrofunzionale nei soggetti glaucomatosi trattati esclusivamente con terapia ipotensiva oculare (●), dopo due mesi di trattamento con Citicolina e dopo 4 mesi di sospensione (○), dopo un ulteriore periodo di 4 mesi di sospensione (▲), dopo un secondo ciclo di trattamento con Citicolina per 2 mesi seguito da un secondo periodo di sospensione per 4 mesi (△). Dopo trattamento con Citicolina si osservava un miglioramento significativo (indicato col simbolo #, ANOVA $p < 0.01$) dell'ampiezza P50-N95 del PERG, una riduzione significativa dei tempi impliciti P50 del PERG e P100 del PEV ed una riduzione significativa del Tempo Retinocorticale. I periodi di 4 mesi di sospensione del trattamento inducevano un peggioramento dei parametri elettrofunzionali che tuttavia rimanevano sempre significativamente differenti rispetto al basale. Erano invece necessari 8 mesi di sospensione affinché non si osservassero più delle variazioni significative rispetto alla condizione basale (Modificata da Parisi V. et al., *Ophthalmology* 1999).

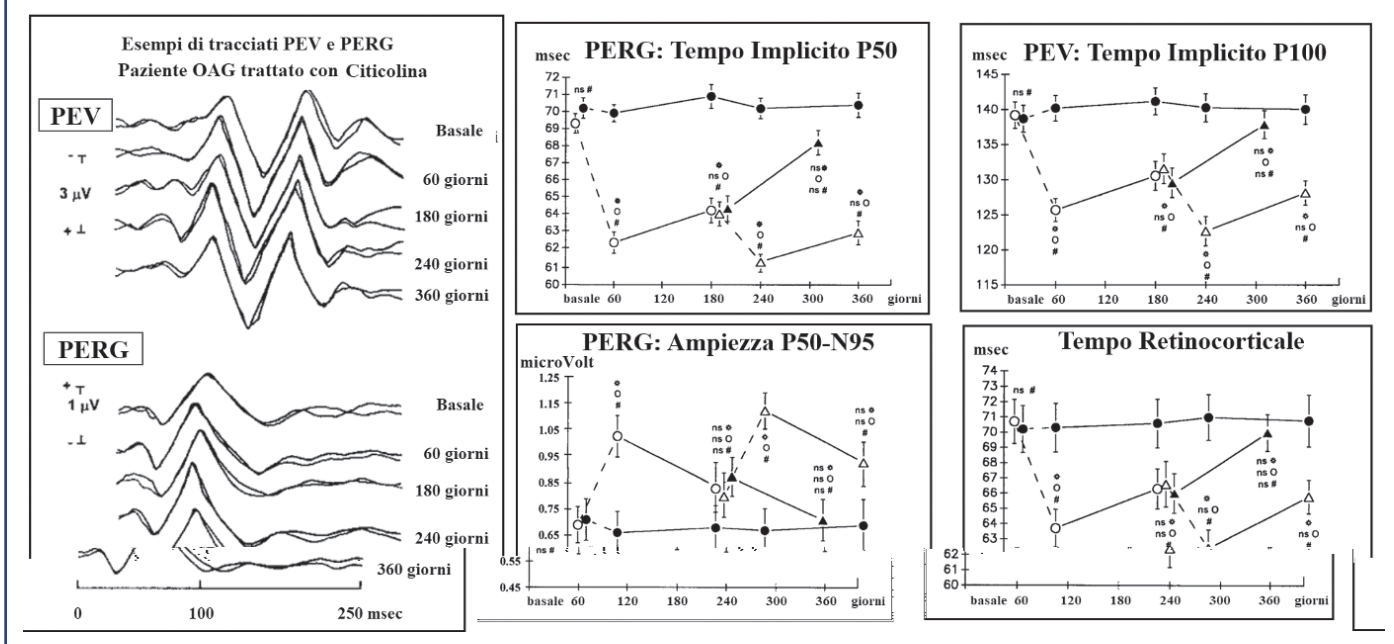
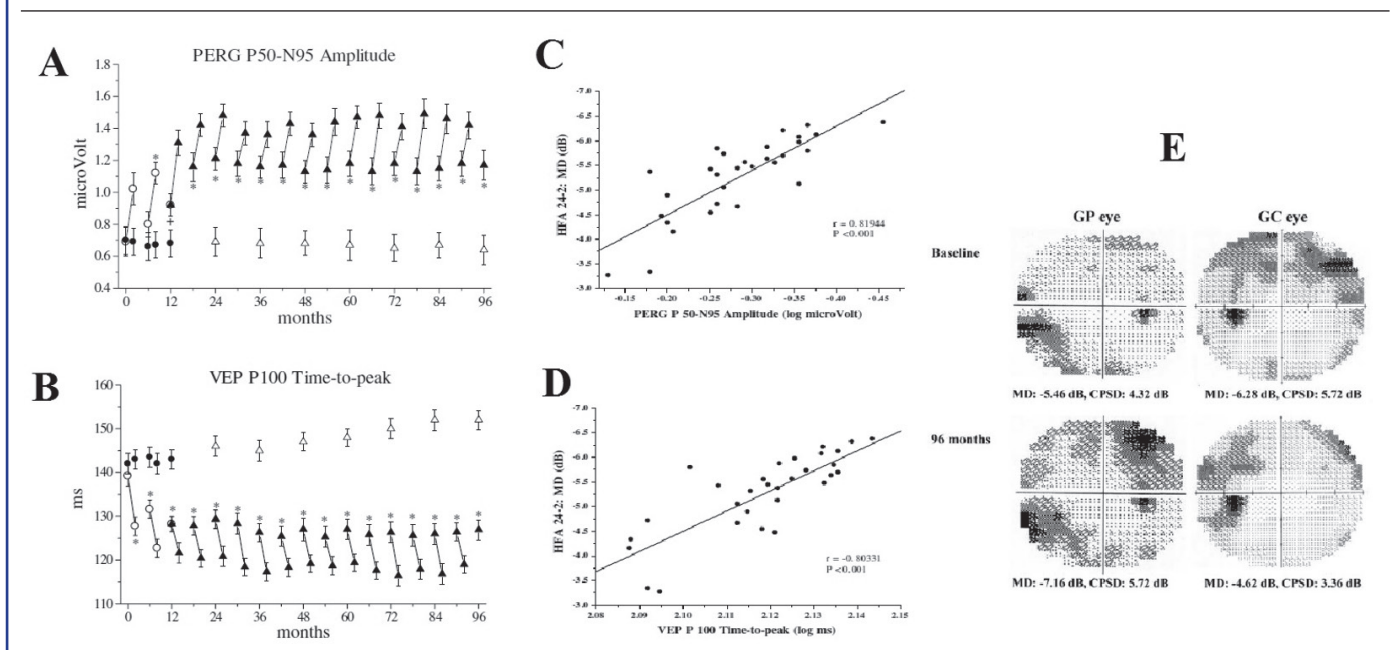


Figura 10. (A e B). Valori medi ed errore standard (linea verticale in coincidenza del simbolo) rilevati per ciascun parametro elettrofunzionale nei soggetti glaucomatosi trattati esclusivamente con terapia ipotonensiva oculare (●, Δ), o con Citicolina in aggiunta alla terapia ipotonizzante (○, ▲, la linea tra i simboli indica il periodo di trattamento), in condizione basale e durante il periodo di follow-up di 8 anni. Il simbolo * indica una variazione statisticamente significativa (ANOVA vs basale, $p < 0.01$). Al termine del follow-up, le variazioni elettrofunzionali erano significativamente correlate alle variazioni del campo visivo (C e D) che nei soggetti trattati con Citicolina era stabile/migliorato, mentre nei pazienti trattati con sola terapia ipotonizzante si osservava un peggioramento degli indici perimetrici MD e CPSD (E). (Modificata da Parisi V., *Doc Ophthalmol*, 2005).



condizione basale e durante i vari tempi di valutazione ed i valori medi dei parametri elettrologici.

Successivamente, lo schema terapeutico (2 mesi di trattamento per via intramuscolare di Citicolina seguito da 4 mesi di sospensione) è stato proseguito in un gruppo di 12 pazienti glaucomatosi per un periodo di follow-up di 8 anni valutando sia le variazioni del campo visivo che quelle dei parametri elettrofunzionali. In questo lavoro, pubblicato su *Documenta Ophthalmologica* nel 2005 (121), è stato rilevato che l'incremento dell'ampiezza P50-N50 dei PERG e la riduzione del tempo implicito P100 del PEV si verificava in corrispondenza di ogni periodo di trattamento e tali effetti si riducevano al termine dei periodi di sospensione. Il dato interessante era quello che riguardava il trend dei pazienti trattati con Citicolina rispetto ai pazienti di controllo trattati con sola terapia ipotonizzante valutata al termine del periodo di osservazione di 8 anni: nel gruppo di controllo durante il completo follow-up si osservava un andamento peggiorativo sia dei parametri elettrofunzionali che del campo visivo, mentre nei pazienti trattati con Citicolina sia i valori dei

parametri elettrofunzionali che quelli del campo visivo erano sempre migliori rispetto alla condizione basale. Inoltre, le variazioni perimetriche erano significativamente correlate con le variazioni elettrofunzionali.

Questo studio formulava delle ipotesi di miglioramento funzionale delle cellule ganglionari retiniche e della conduzione nervosa lungo le vie ottiche dopo un lungo periodo (8 anni) di trattamento con Citicolina e pertanto era il primo studio di follow-up in cui si ipotizzava la possibilità neuroprotettiva della Citicolina ["The results observed in our OAG patients subjected to treatment with beta-blockers plus citicoline (GC eyes) compared to OAG patients treated with beta-blockers only (GP eyes, in which there was a worsening of the visual field and of electrophysiological parameters at 96 months) may suggest the potential use of citicoline in order to induce a direct neuroprotective effect aimed towards the stabilization or the improvement (as observed in our GC eyes) of the glaucomatous visual function"].

I risultati di tale studio sono riportati nella Figura 10.

5. Evidenze degli studi che hanno valutato gli effetti della Citicolina somministrata per via orale

5.1 La biodisponibilità

Quando una molecola viene assunta per via orale, è necessario fare alcune precisazioni riguardo una caratteristica fondamentale: la sua biodisponibilità.

Per "biodisponibilità" si intende la presenza in percentuale del principio attivo nel sangue dopo la singola somministrazione.

Nel caso della Citicolina somministrabile per via orale, esistono oggi 3 tipi di formulazione: in compresse, in sospensione (granulato) orale o in soluzione orale.

Nel caso della Citicolina somministrata in compresse o in sospensione (granulato) orale, non esistono in letteratura dati in cui è esattamente specificata la sua biodisponibilità. Dalla farmacocinetica sappiamo però che nel caso del granulato le particelle, una volta assunte, per poter essere assorbite dovranno subire disaggregazione e successiva dissoluzione nel tratto gastrointestinale. Contestualmente, però, viene attivato il processo di eliminazione, che ne impedisce l'assorbimento, riducendone in tal modo la biodisponibilità.

Nel caso della Citicolina formulata in soluzione orale, sono stati condotti autorevoli studi (122, 123) atti a determinare la sua biodisponibilità.

In particolare, Agut e coll. (122), hanno dimostrato che la biodisponibilità della Citicolina in soluzione orale è del tutto simi-

le a quella della Citicolina somministrata per via endovenosa, oltre il 90% ("the oral route bioavailability in relation to the intravenous route in radioactivity coming from CDP - Choline (14C-methyl) is practically the same, and therefore, it can be affirmed that this radioactivity is completely absorbed when it is administered in aqueous solution, by oral route and at the dose studied").

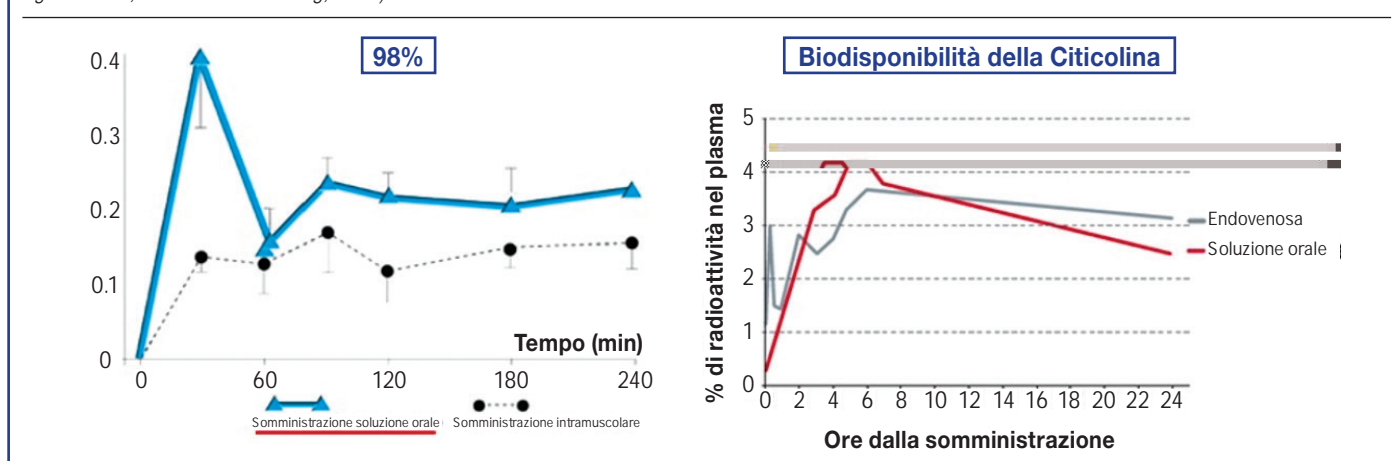
In un altro studio italiano (123), condotto con tecniche di radiomarcatura, è stato dimostrato come la Citicolina in soluzione orale abbia una biodisponibilità sovrapponibile alla somministrazione intramuscolare (98%).

Le differenze riguardo alle conoscenze sulla biodisponibilità delle varie formulazioni sono fondamentali nella pratica clinica. Ciò in quanto l'oculista deve essere a conoscenza della quantità di assorbimento generale della Citicolina quando propone al paziente glaucomatoso un trattamento con potenzialità di neuropotenziamento e/o neuroprotettive.

Rispetto alla somministrazione per via intramuscolare, i vantaggi dell'aver la possibilità di somministrare la Citicolina in soluzione orale sono stati fondamentalmente legati ad una migliore accettazione da parte di un paziente con una malattia cronica degenerativa a sottoporsi per diversi mesi ad una terapia meno invasiva e meno "dolorosa" avendo la possibilità di acquisire la stessa quantità di principio attivo che avrebbero ricevuto se fosse stato somministrato per via endovenosa.

Nella Figura 11 sono riportati in maniera riassuntiva i risultati di Roda e coll. e di Agut e Coll. (122, 123).

Figura 11. Rappresentazione riassuntiva degli studi riguardo la biodisponibilità della Citicolina somministrata in soluzione orale (Roda A. et al., *Curr. Ther. Res.*, 1983; Agut J. et al., *Arzneimittelforschung*, 1983).



5.2 Evidenze degli studi con Citicolina somministrata in sospensione orale nel Glaucoma

Nella letteratura internazionale sono riportati due studi (124, 125) in cui è stata utilizzata la somministrazione per via orale (compresse o sospensione) di Citicolina nei pazienti glaucomatosi.

Il primo studio riportato in letteratura è quello di Rejdak e coll., pubblicato nel 2003 (124), in cui sono state valutate le variazioni del PEV in 21 soggetti glaucomatosi sottoposti per 56 giorni a trattamento con Citicolina per via orale (1 g/giorno in compresse). Gli autori hanno osservato la riduzione del tempo implicito e l'aumento dell'ampiezza del PEV nel 62% dei pazienti trattati. In tale studio però non è stata specificata l'entità della MD dei pazienti arruolati e non sono state effettuate analisi statistiche atte ad identificare quel 62% di pazienti in cui era stato osservato un miglioramento della globale conduzione nervosa lungo le vie ottiche tramite l'analisi delle risposte dei PEV.

Il secondo studio pubblicato in letteratura è un nostro lavoro che ha avuto inizio nel 2005 e i cui dati definitivi sono stati pubblicati nel 2008 (125).

L'obiettivo di tale lavoro era di comparare gli effetti già noti della Citicolina somministrata per via intramuscolare con quelli ottenuti dalla somministrazione della Citicolina per via orale.

Questo studio ebbe una lunga fase preliminare della durata di circa 2 anni, atta ad identificare quale fosse la dose minima efficace della Citicolina somministrata in sospensione orale per indurre cambiamenti perimetrici e/o elettro-fisiologici.

Si partì con un dosaggio di 400 mg/die somministrati per due mesi e al termine del trattamento non furono osservate modificazioni perimetriche e/o elettro-fisiologiche.

Si passò quindi ad un dosaggio di 800 mg/die somministrati per due mesi ed anche in questo caso non furono rilevate modificazioni perimetriche e/o elettro-fisiologiche.

Il terzo step fu quello di somministrare 1600 mg/die per due mesi e solo in questo caso furono rilevate modificazioni perimetriche e/o elettro-fisiologiche.

Questa parte preliminare dello studio fu molto importante perché ci permise di comprendere che, se la Citicolina in sospensione orale fosse stata somministrata con un dosaggio inferiore ai 1600 mg, questo tipo di trattamento era del tutto inutile ai fini di indurre modificazioni perimetriche e/o elettro-fisiologiche.

Tutto ciò deve essere tenuto attualmente in considerazione specialmente nella pratica clinica quando si decide di trattare pazienti glaucomatosi con Citicolina somministrata in altre forme che non siano quella in soluzione orale di cui ben si conosce la biodisponibilità.

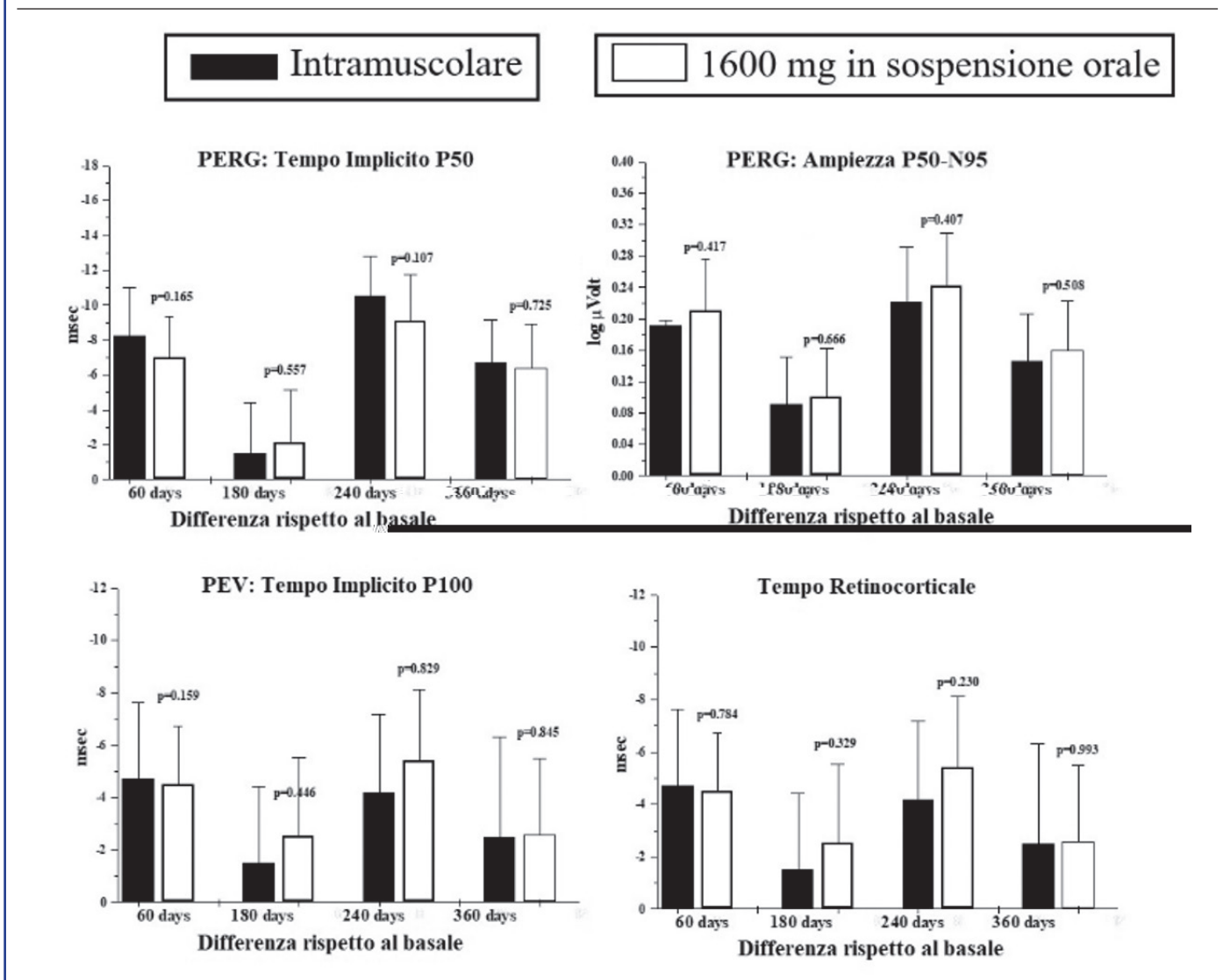
Quindi, in questo studio (125) sono stati considerati 60 pazienti glaucomatosi con un difetto medio (MD) della perimetria Humphrey tra -2 e -14 dB che sono stati divisi in maniera randomizzata in 3 gruppi: in un gruppo (NT-OAG) è stata effettuata una terapia esclusivamente con ipotonizzanti oculari (beta-bloccanti), nel secondo gruppo (TI-OAG) è stata somministrata Citicolina per via intramuscolo in aggiunta alla terapia con beta-bloccanti, un terzo gruppo (TO-OAG) in cui sempre in associazione alla terapia con beta-bloccanti è stata somministrata Citicolina per via orale al dosaggio di 1.6 g al giorno.

La Citicolina utilizzata era in sospensione orale (Cebrolux®, Tubilux Pharma) e scegliemmo un dosaggio di 1600 mg alla luce di quanto precedentemente esposto ma anche sulla mancanza di conoscenze riguardo la biodisponibilità di tale formulazione. Pertanto, ipotizzammo che utilizzando un dosaggio di 1600 mg avremmo potuto avere una biodisponibilità simile a quella ottenuta con la somministrazione per via intramuscolare, ma era solamente un'ipotesi non basata su dati scientifici. Il disegno di studio era il medesimo di quello utilizzato nello studio già pubblicato (115) utilizzando la Citicolina per via intramuscolare: due mesi di trattamento con Citicolina in sospensione orale o per via intramuscolare seguita da 4 mesi di sospensione; al sesto mese veniva effettuato un secondo ciclo di due mesi di trattamento con Citicolina in sospensione orale o per via intramuscolare seguita da ulteriori 4 mesi di sospensione.

Durante il periodo di follow-up, (basale, mesi 2, 6, 8 e 12) sono state valutate le modificazioni del PERG, del VEP e del campo visivo.

I risultati ottenuti erano del tutto simili a quelli rilevati nel primo studio da noi effettuato (115): dopo 2 mesi di trattamento con Citicolina (per via intramuscolare o 1600 mg in sospensione orale) si osservava un incremento dell'ampiezza P50-N95 del PERG, la riduzione del Tempo Retinocorticale e la riduzione del tempo implicito P100 del PEV. Dopo 4 mesi di sospensione, i valori dei PERG e dei PEV erano ridotti rispetto a quelli osservati dopo 2 mesi di trattamento e non statisticamente differenti rispetto a quelli basali. Dopo il secondo ciclo di due mesi di trattamento con Citicolina orale o intramuscolare si osservava un ulteriore miglioramento dell'ampiezza PERG e dei tempi impliciti del PEV che rimanevano significativamente differenti rispetto alla condizione basale. Tali parametri peggioravano dopo il secondo periodo di 4 mesi sospensione, ma erano ancora significativamente migliorati rispetto alla condizione basale. Non venivano evidenziate differenze significative tra il trattamento per via intramuscolare e quello in sospensione orale.

Figura 12. Rappresentazione grafica delle variazioni rispetto al basale dei parametri elettrofuntionali nei due gruppi di pazienti glaucomatosi: TI-OAG trattati con Citicolina per via intramuscolo in aggiunta alla terapia con beta-bloccanti; TO-OAG trattati con Citicolina in sospensione orale in aggiunta alla terapia con beta-bloccanti. I valori di p indicano l'assenza di differenze significative tra i due tipi di trattamento (Adattata da Parisi V. et al. Prog Brain Res., 2008).



Nella Figura 12 sono riportati i valori medi delle variazioni dei PERG e dei PEV dopo trattamento con Citicolina per via intramuscolo e in sospensione orale.

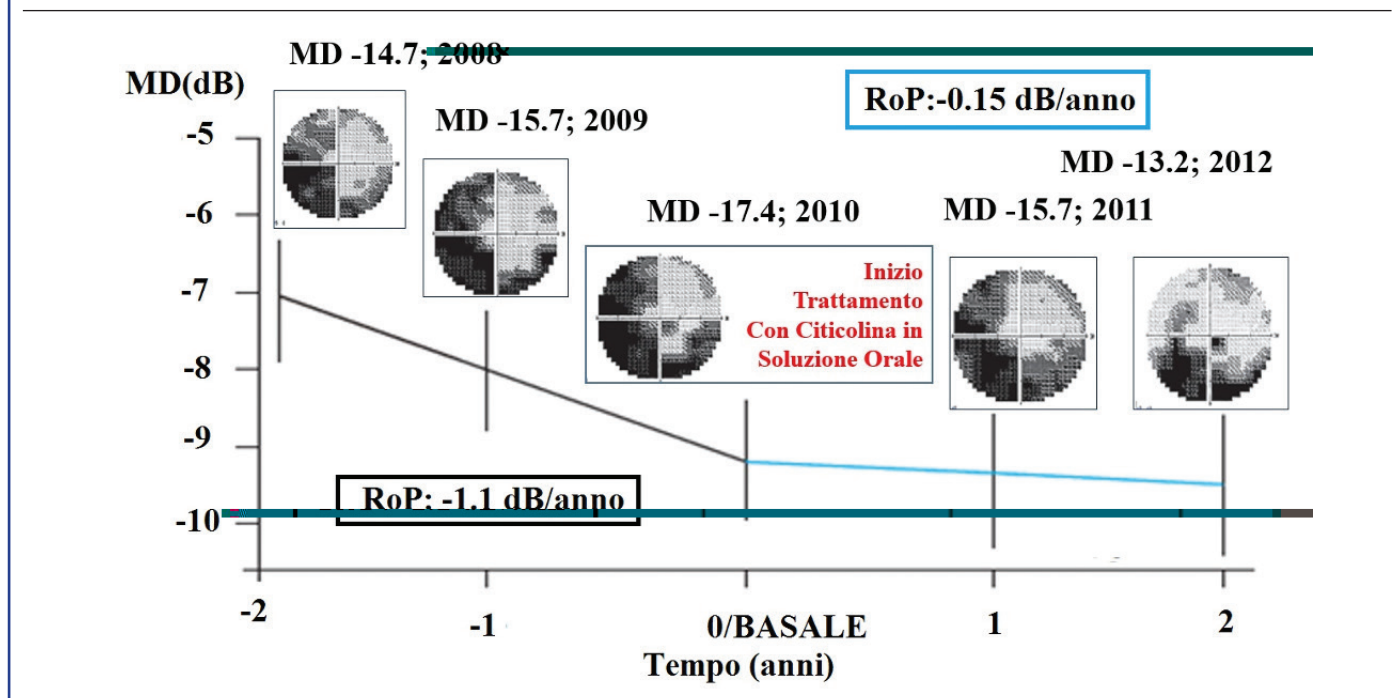
5.3 Evidenze degli studi con Citicolina somministrata in soluzione orale nel Glaucoma

Nel 2013 è stato pubblicato su *Ophthalmologica* (126) il primo studio multicentrico atto a valutare gli effetti della Citicolina in

soluzione orale nel Glaucoma. Questo studio è stato condotto dai ricercatori dell'Ospedale San Paolo di Milano, dell'Università di Genova e del Policlinico Tor Vergata di Roma ed è stato coordinato dal Professor Luca Rossetti.

Partendo dall'evidenza che un'alta percentuale di pazienti presenta negli anni un peggioramento del campo visivo nonostante il compenso tonometrico, l'obiettivo di questo studio è stato innovativo ed interessante: è possibile rallentare la progressione

Figura 13. Nei due anni antecedenti all'arruolamento (-2/0 anni) si osservava una perdita media -1.1 dB/anno; la velocità di progressione dopo i due anni di trattamento con Citicolina in soluzione orale è stata rallentata a -0.15dB/anno (Modificata da Ottobelli et al., *Ophthalmologica*, 2013).



del de cit perimetrico grazie all'uso di Citicolina in soluzione orale in aggiunta alla terapia ipotonizzante?

Sono stati valutati 41 pazienti glaucomatosi con un danno campimetrico medio di -9.2 dB, in cui era stata documentata la perdita di almeno -1 dB/anno del difetto medio (MD) della perimetria computerizzata, nonostante il buon compenso tonometrico, nei 3 anni precedenti l'arruolamento (IOP < 18 mmHg).

I pazienti arruolati sono stati sottoposti a trattamento con Citicolina in soluzione orale (500 mg/die, Neukron Ofta®, Omikron Italia) secondo la seguente modalità: 4 cicli di 4 mesi di trattamento seguiti da due mesi di sospensione per un periodo totale di follow-up di 2 anni.

Gli interessanti risultati ottenuti hanno evidenziato un rallentamento della progressione del difetto perimetrico da -1.1 dB/anno (media rilevata nei due anni precedenti all'arruolamento) a -0.15 dB/anno (media rilevata durante due anni di trattamento con Citicolina in soluzione orale).

Indubbiamente, il dato riportato da questo studio ha suscitato moltissimo interesse. Infatti, mentre negli studi precedenti (116, 117) in cui erano stati arruolati pazienti con una patologia stabile ed era stato osservato un miglioramento funzionale, nel caso

di questo studio sono stati arruolati pazienti glaucomatosi con elevata progressione del de cit perimetrico. E tale condizione di progressione costituisce, nella pratica clinica, il "maggior problema" dell'oftalmologo che, nonostante possa mettere in atto tutte quelle procedure terapeutiche ben note (mediche, laser o chirurgiche), assiste di frequente in maniera impotente al progredire del de cit della funzione visiva del suo paziente.

Tale studio, pertanto, ha avuto il merito di aprire importanti prospettive nella gestione a lungo termine del paziente glaucomatoso. Nella Figura 13 sono sintetizzati i risultati di questo studio.

Un altro studio è stato condotto su 30 pazienti con glaucoma cronico ad angolo aperto randomizzati in due gruppi con l'obiettivo di valutare i cambiamenti della funzionalità delle RGC (valutata tramite registrazioni di PERG), della conduzione nervosa lungo le ottiche (valutata tramite registrazioni di PEV) e della morfologia dello spessore retinico (valutata tramite GDx) dopo trattamento con Citicolina in soluzione orale (500 mg/die) confrontandoli con i risultati dei PERG, PEV e GDx di pazienti glaucomatosi trattati con placebo (127). Nei pazienti trattati con Citicolina in soluzione orale, è stato osservato un miglioramento dei parametri elettrofisologici PEV e PERG e un rallentamen-

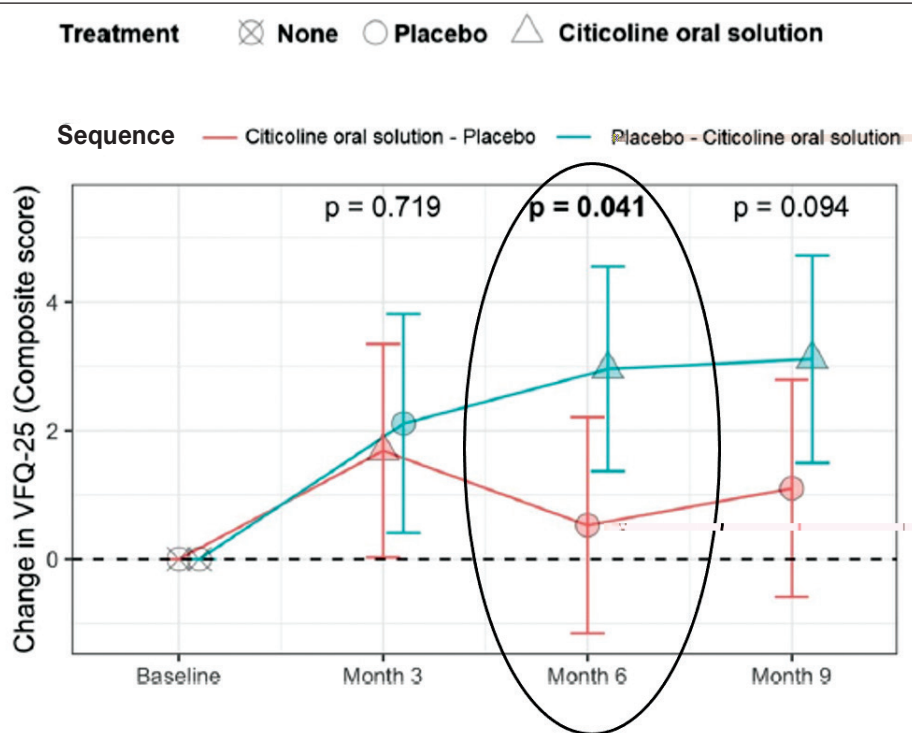
to nella riduzione dello spessore retinico. Tali cambiamenti non sono stati osservati nei pazienti trattati con placebo.

In un altro studio (128), prospettico e randomizzato, è stato studiato l'effetto della Citicolina in soluzione orale nel prevenire la perdita del campo visivo, delle fibre nervose peripapillari (RNFL) e del complesso di cellule ganglionari (GCC) in pazienti glaucomatosi in cui era stata verificata una lenta progressione della malattia, valutata mediante perimetria automatizzata

standard bianco su bianco (SAP) nei 3 anni precedenti all'inizio dello studio.

A tale fine sono stati arruolati 60 pazienti, randomizzati in due gruppi: un gruppo di pazienti (A) è stato trattato per 24 mesi con 4 cicli di Citicolina in soluzione orale (500 mg/die, Neukron Ofta®, Omikron Italia) della durata di 4 mesi seguiti da due mesi di interruzione unitamente alla terapia ipotonizzante, mentre un altro gruppo di pazienti (B) è stato trattato con la sola terapia ipotonizzante.

Figura 14. La Citicolina in soluzione orale migliora il punteggio Composite Score del Questionario sulla qualità di vita legata alla visione VFQ-25 con una differenza statisticamente significativa rispetto al placebo (p=0.0413).



Results of the sequence analysis at different time points. The table reports the estimate (95% confidence intervals) of the composite score from the model. The p-value are for the comparisons between the two arms at each time point.

	Time point	Citicoline oral solution-Placebo	Placebo-Citicoline oral solution	p-value
Change from baseline	Month 3	1.69 [0.03, 3.34]	2.11 [0.41, 3.81]	0.7190
	Month 6	0.53 [-1.15, 2.21]	2.96 [1.37, 4.55]	0.0413
	Month 9	1.1 [-0.59, 2.79]	3.11 [1.5, 4.73]	0.0940
Composite score	Baseline	80.15 [77.05, 83.24]	79.61 [76.64, 82.59]	0.8070
	Month 3	81.83 [78.74, 84.93]	81.72 [78.75, 84.70]	0.9594
	Month 6	80.67 [77.56, 83.79]	82.57 [79.59, 85.56]	0.3857
	Month 9	81.25 [78.13, 84.37]	82.73 [79.73, 85.72]	0.5010

Dopo 18 mesi, i valori medi della deviazione media SAP (MD) del gruppo A erano significativamente ($p = 0.039$) più alti (-7.25 dB) rispetto a quelli del gruppo B (-8.64 dB). Inoltre, sono apparsi stabili nelle visite successive a 24 mesi, mentre nel gruppo B, i valori medi di MD hanno continuato a diminuire significativamente ($p < 0.001$) nel tempo.

Nel gruppo A, lo spessore medio di RNFL e GCC era significativamente ($p < 0.01$) più alto dopo 12 mesi di terapia con Citicolina in soluzione orale. Nei tempi successivi (24 mesi) non si rilevano ulteriori cambiamenti. Al contrario, nei pazienti del gruppo B è stata osservata una significativa ($p < 0.01$) riduzione dello spessore medio di RNFL e GCC che ha avuto andamento progressivo durante tutti i 24 mesi di follow-up.

Questi risultati suggeriscono che nei pazienti glaucomatosi con documentata progressione del danno, la terapia con Citicolina in soluzione orale risulta essere efficace non solo nel rallentare la progressione del deficit perimetrico ma anche nello stabilizzare la perdita delle cellule ganglionari retiniche e delle loro fibre che formano il nervo ottico.

Quanto osservato riguardo la stabilizzazione/miglioramento del campo visivo, è stato riportato "come miglioramento soggettivo della percezione visiva" dai tanti pazienti con OAG o con NAION (vedi punto 5.4).

Uno studio (129) randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, cross-over, è stato condotto dai ricercatori di diversi centri europei [Barcellona, Louvain (Belgio), Thessaloniki (Grecia), Milano e Roma] con lo scopo di valutare l'effetto della Citicolina in soluzione orale sulla qualità di vita legata alla visione nei pazienti con OAG. A tal fine è stata esaminata la variazione media del punteggio "intra-paziente" del Visual Function Questionnaire-25 (VFQ-25) dopo Citicolina in soluzione orale vs placebo a 6 mesi rispetto al basale.

In questo studio, sono stati arruolati pazienti con OAG con danno bilaterale del campo visivo, una deviazione media (MD) compresa tra -5 e -13 dB nell'occhio migliore e IOP controllata. I pazienti arruolati, sono stati randomizzati in due gruppi: uno è stato trattato con Citicolina in soluzione orale (Neurotidine®, Omikron Italia, 500 mg/die) seguito da trattamento con placebo ed un altro gruppo è stato dapprima trattato con placebo e successivamente con Citicolina in soluzione orale (500 mg/die). Il cambio di trattamento è stato effettuato dopo 3 mesi; i pazienti sono stati poi seguiti per altri 6 mesi. Il follow-up includeva visite a distanza di 3 mesi, 6 mesi e 9 mesi.

Questo studio ha fornito dati molto interessanti: per la prima volta al mondo un trattamento farmacologico ha dimostrato di miglio-

rare la qualità di vita legata alla visione in pazienti glaucomatosi. La Citicolina in soluzione orale ha portato a un miglioramento significativo dei punteggi del VFQ-25 (indicanti la qualità di vita legata alla visione), con una differenza statisticamente significativa rispetto al placebo ($p=0.04$). L'incremento maggiore dei punteggi del VFQ-25 è stato osservato nei pazienti che al basale presentano una peggiore qualità di vita legata alla visione. Nella Figura 14. sono riportati i risultati di questo studio.

5.4 Evidenze degli studi con Citicolina somministrata in soluzione orale nelle Neuriti Ottiche Ischemiche

La neuropatia ottica ischemica anteriore non arteritica (NAION) è un'insufficienza vascolare irreversibile, indolore e acuta del nervo ottico. La NAION è caratterizzata da un'improvvisa perdita dell'acuità visiva e del campo visivo (130, 131). La percezione psicofisica (acuità visiva e campo visivo) peggiora progressivamente a seguito di una compromissione funzionale retinica che non è correlata ad una anomala conduzione nervosa lungo le vie visive (132), ma è associata sia a modificazioni strutturali come la riduzione dello spessore dello strato di fibre nervose retiniche (RNFL) (133) che ad una compromissione del flusso dei capillari peripapillari retinici e coriocapillari (134, 135). In particolare, la perdita di fibre delle RGC (valutata dallo spessore RNFL) è stata riportata in un periodo da 1 a 6 mesi dall'evento acuto (135-137). Considerate queste caratteristiche anomalie morfo-funzionali, attualmente la NAION può essere considerata come un valido modello di neurodegenerazione delle strutture retiniche che formano il nervo ottico che insorge in tempi decisamente più rapidi rispetto a quella di tipo glaucomatoso (138, 139).

L'obiettivo di un nostro studio (140), prospettico, randomizzato ed in doppio cieco, è stato quello di valutare, in pazienti affetti da NAION, se il trattamento con Citicolina in soluzione orale potesse migliorare la funzione visiva, la funzione delle RGC (valutata mediante il PERG) e la conduzione nervosa lungo le vie ottiche (valutata dai PEV) e/o indurre la conservazione della perdita di fibre delle RGC (quantificata mediante OCT).

Sono stati arruolati 36 pazienti con NAION e 20 controlli di pari età. 19 pazienti NAION hanno ricevuto 500 mg/die di Citicolina in soluzione orale (Neukron Ofta®, Omikron Italia) per un periodo di 6 mesi seguito da 3 mesi di wash-out (gruppo NC); 17 pazienti con NAION non sono stati trattati (gruppo NN) dal basale ai 9 mesi. In tutti i soggetti, al basale e negli occhi NC e NN a 6 e 9 mesi di follow-up, sono state valutate l'acuità visiva (VA), il PERG, i PEV e lo spessore RNFL (RNFL-T) e la MD dell'Humphrey 24-2. Le differenze medie sono state valutate

statisticamente con ANOVA tra i gruppi e le correlazioni lineari sono state analizzate con il test di Pearson. Nella Figura 15 sono presentati esempi di registrazioni simultanee di PERG e VEP, i relativi HFA e RNFL-T rilevati in

un paziente rappresentativo NAION trattato con Citicolina in soluzione orale per 6 mesi seguito da un periodo di 3 mesi di wash-out di Citicolina (NC # 13), e in un paziente NAION in cui non è stato eseguito alcun trattamento durante un periodo di

Figura 15. Esempi di registrazioni simultanee di PERG e VEP, HFA 24-2 e RNFL-T di un paziente con NAION trattato con Citicolina in soluzione orale durante un periodo di 6 mesi seguito da un periodo di 3 mesi di wash-out (occhio NC # 13) ed in un paziente con NAION non trattato per un periodo totale di 9 mesi (NN#11).

Al basale per entrambi gli occhi NC e NN, è stata visualizzata la testa del nervo ottico con un simile pallore diffuso. Nell'occhio NC, rispetto alla condizione basale, dopo il trattamento con Citicolina in soluzione orale (6 mesi), è stato osservato un aumento delle ampiezze di PERG, accorciamento dei tempi impliciti di 60' e 15' del PEV, aumento delle ampiezze PEV di 60' e 15', riduzione della MD e RNFL-T non modificato. Alla fine del wash-out, i risultati elettrofisiologici, HFA e RNFL-T erano simili a quelli osservati alla fine del trattamento. Al contrario, nell'occhio NN, sia a 6 che a 9 mesi di follow-up, è stata rilevata, rispetto alla condizione basale, riduzione delle ampiezze di PERG, un aumento dei tempi impliciti di 60' e 15' PEV e una riduzione delle ampiezze 60' e 15' PEV. Tali modificazioni elettrofisologiche erano associate a un peggioramento della MD e del RNFL-T (Modificata da Parisi V. et al., PLOS ONE, 2019).

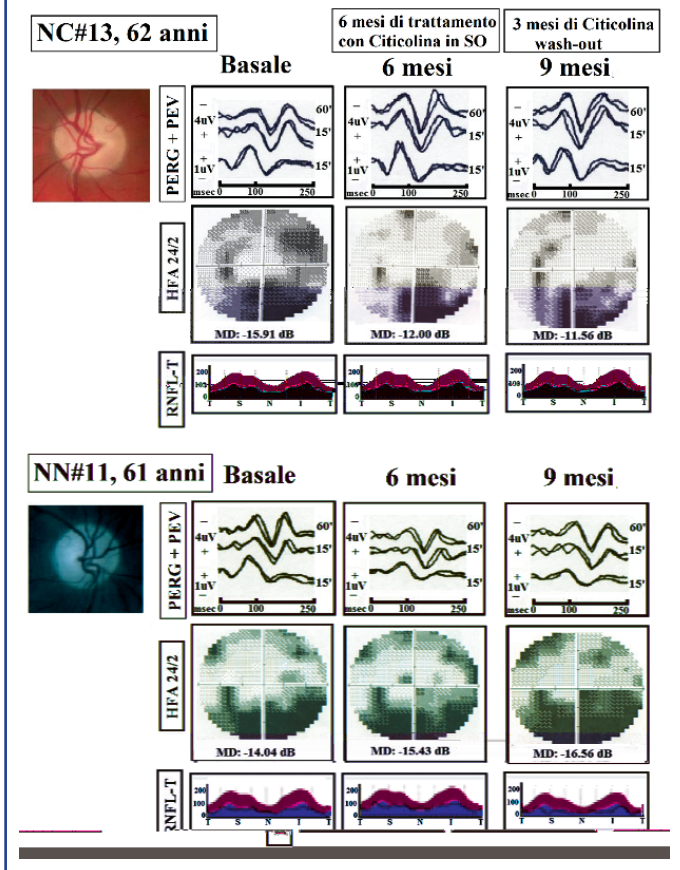
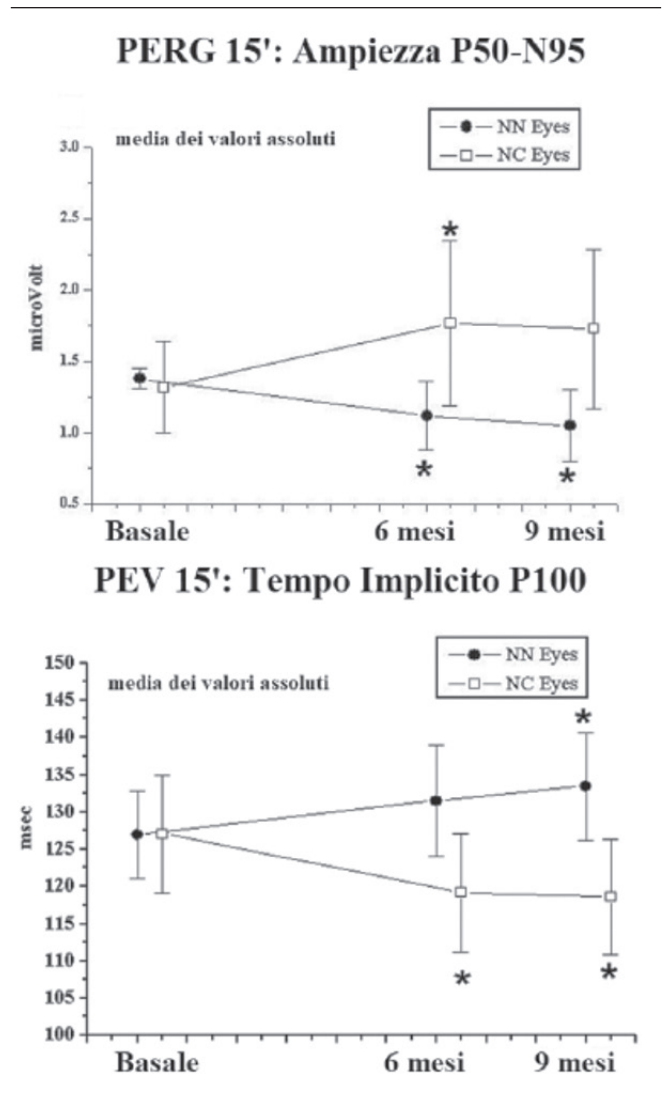


Figura 16. Medie e deviazioni standard dell'ampiezza P50-N95 del 15' PERG e del tempo implicito P100 del 15' PEV, rilevati nel gruppo di pazienti con NAION trattato con Citicolina in soluzione orale (NC) e nel gruppo di pazienti con NAION non trattato (NN) in condizione basale e dopo 6 e 9 mesi di follow-up.

Nel Gruppo NC, rispetto al basale, si osservava un aumento significativo (*=ANOVA $p < 0.01$) dell'ampiezza P50-95 del PERG ed una riduzione significativa del tempo implicito P100 del PEV, mentre nel gruppo NN si rilevava una riduzione significativa (*=ANOVA $p < 0.01$) dell'ampiezza P50-95 del PERG ed un aumento significativo del tempo implicito P100 del PEV (Modificata da Parisi V. et al., PLOS ONE, 2019).



follow-up di 9 mesi (NN # 11).

A 6 mesi di follow-up, sono state osservate differenze significative tra i gruppi NC e NN per tutti i parametri (ANOVA, $p < 0.01$). Negli occhi NC, la VA è aumentata, l'ampiezza delle risposte PERG è aumentata, i tempi impliciti P100 del PEV erano meno ritardati e significativamente correlati con l'aumento della MD ($p < 0.01$); il RNFL-T non era ridotto o migliorato. Al contrario, negli occhi NN, la VA, il PERG, il PEV, il RNFL-T e la HFA MD sono ulteriormente peggiorate. Le differenze significative erano ancora presenti al follow-up di 9 mesi nel gruppo NN e dopo 3 mesi di wash-out negli occhi NC.

Nella Figura 16 sono riportate le variazioni dei valori assoluti dell'ampiezza P50-N95 del PERG e del tempo implicito P100 del PEV rilevate nei gruppi NC e NN a 6 e 9 mesi di follow-up rispetto al basale e la relativa analisi statistica (ANOVA).

Questo studio ha fornito interessanti informazioni, chiarendo che la Citicolina non induce esclusivamente un miglioramento funzionale delle RGC e della conduzione nervosa lungo le vie ottiche (neuroenhancement) come già evidenziato negli studi effettuati in pazienti glaucomatosi (115, 121, 125), ma può anche permettere un risparmio della perdita di fibre delle RGC avendo così un'azione di neuroprotezione diretta come suggerito da studi sperimentali [vedi Parisi et al. 2018, come review (107)].

6. Evidenze degli studi che hanno valutato

gli effetti della Citicolina somministrata in collirio

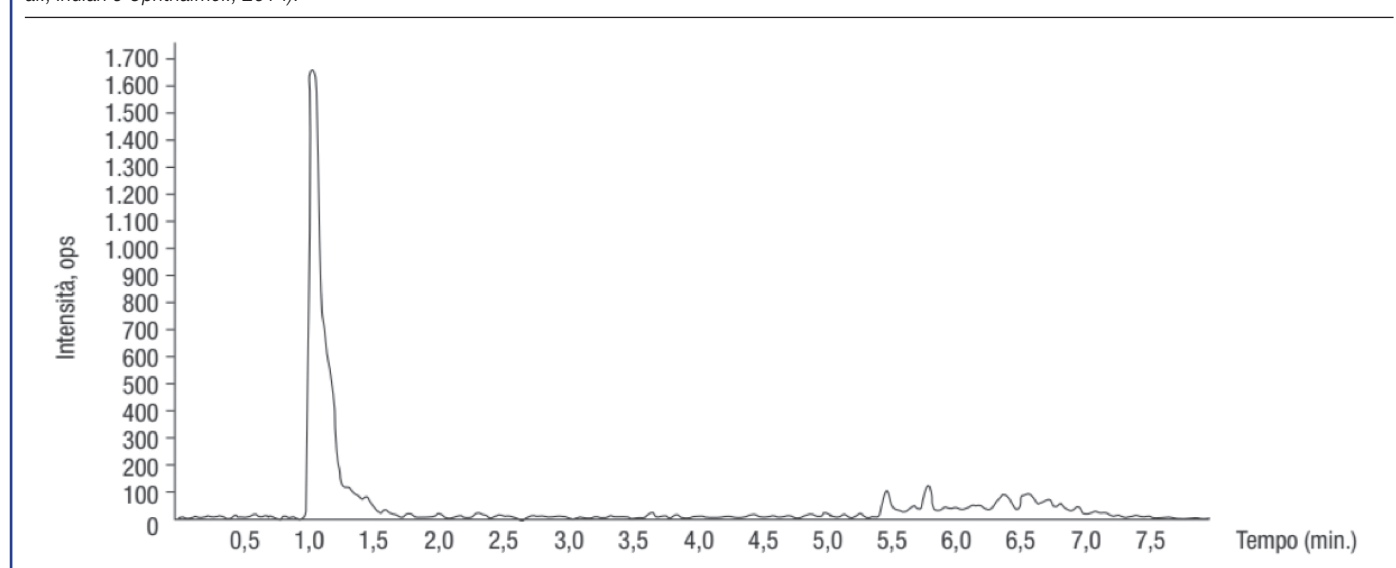
6.1 Cinetica della formulazione in collirio

Negli ultimi anni, grazie al lavoro di sviluppo effettuato dalla Omikron Italia, la Citicolina è disponibile anche in forma di collirio. La prima domanda che ci si è posti è stata quella di verificare se tale molecola potesse attraversare le strutture oculari esterne e raggiungere il vitreo.

A tale scopo è stato condotto un primo studio (141) sull'animale da esperimento somministrando un collirio contenente 1% o 2% di Citicolina, 0.2% di acido ialuronico (HA) ad alto peso molecolare e 0.01% di benzalconio cloruro (BAK) (OMK1[®], Omikron Italia) o stessa formulazione ma con Citicolina 1%. Tale somministrazione è stata effettuata tre volte al giorno per 3 giorni dopo di che è stata analizzata, tramite la HPLC (High Performance Liquid Chromatography) la presenza della Citicolina nel vitreo.

Come si evince dalla Figura 17, la HPLC ha dimostrato che la Citicolina, opportunamente veicolata da HA e BAK, era presente nel vitreo. Entrambe le molecole difatti agiscono da "penetration enhancer": l'acido ialuronico ad alto peso molecolare, aumentando il tempo di permanenza della sostanza a livello di superficie oculare/Im lacrimale, prolunga il tempo di contatto Citicolina/occhio; il benzalconio cloruro, a bassa concentrazione (0.01%), incrementa invece il passaggio transcorneale della

Figura 17. Grafico dei risultati della HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Il picco corrisponde alla presenza di Citicolina nel vitreo (da Roberti G. et al., *Indian J Ophthalmol.*, 2014).



Citicolina mediante apertura reversibile delle gap junction a livello corneale.

Il secondo studio (42) ha avuto lo scopo di valutare la presenza e la concentrazione di Citicolina e dei suoi metaboliti (colina, citidina e uridina) nel corpo vitreo dell'occhio umano dopo applicazione di Citicolina 2% in collirio, *in vivo*.

A tal fine, 21 soggetti affetti da membrana epiretinica con indicazione chirurgica per vitrectomia via pars-plana sono stati sottoposti a trattamento con 1 goccia 3 volte/die di un collirio con Citicolina 2%, acido ialuronico ad alto peso molecolare 0.2% e benzalconio cloruro 0.01% (OMK1®, Omikron Italia) 14 giorni prima dell'intervento e 2 ore prima dell'intervento. Altri 5 pazienti sono serviti come controlli e hanno ricevuto un collirio placebo (OMK1® senza Citicolina). I campioni vitreali sono stati prelevati all'inizio della vitrectomia pars-plana e analizzati per la determinazione qualitativa/quantitativa della concentrazione vitreale di Citicolina e dei suoi metaboliti mediante cromatografia a liquida ad alte prestazioni.

La concentrazione media complessiva di Citicolina rilevata nel vitreo dei pazienti trattati con Citicolina 2% in collirio era significativamente più alta di quella rilevata negli occhi non trattati (rispettivamente $406.72 \pm 52.99 \mu\text{g/ml}$ e $45.66 \pm 26.36 \mu\text{g/ml}$). Questo studio ha evidenziato che la Citicolina può raggiungere il vitreo umano in alta concentrazione quando somministrato in collirio.

6.2 Evidenze degli studi con Citicolina somministrata in collirio nel Glaucoma

L'evidenza che la Citicolina somministrata in collirio fosse presente nel vitreo costituiva un ottimo presupposto in quanto faceva ipotizzare che tale molecola potesse arrivare ad agire su quelle strutture retiniche (cellule e fibre ganglionari) interessate funzionalmente dalla malattia glaucomatosa.

Sulla base di tali presupposti (42, 141), è stato fondamentale valutare se la Citicolina somministrata in collirio potesse avere degli effetti sulla funzione visiva del paziente glaucomatoso.

È stato così disegnato un primo studio clinico prospettico e mascherato atto a valutare la funzionalità delle cellule ganglionari (tramite registrazione del PERG), la conduzione nervosa lungo le vie ottiche (attraverso la registrazione dei PEV) ed il difetto perimetrico in pazienti glaucomatosi sottoposti alla somministrazione di Citicolina in collirio (142).

In questo studio sono stati arruolati 56 pazienti glaucomatosi con una MD inferiore a -10 dB (danno campimetrico medio di -4.8 dB), di età media di 52.4 ± 4.72 anni e con una IOP < 18 mmHg

in terapia con beta-bloccanti stabile negli 8 mesi antecedenti all'arruolamento.

I 56 pazienti arruolati sono stati divisi in due gruppi randomizzati per età, sesso ed MD, al fine di creare due gruppi omogenei per le suddette caratteristiche demografiche e di difetto perimetrico. In un gruppo (gruppo GP) è stata somministrata esclusivamente la terapia ipotonizzante, mentre nell'altro gruppo (gruppo GC), unitamente alla terapia ipotonizzante, è stato somministrato un collirio contenente Citicolina 2%, acido ialuronico 0.2%, BAK 0.01% (OMK1®, Omikron Italia). La somministrazione era di 1 goccia per 3 volte al giorno per un periodo di 4 mesi. Questo tempo di somministrazione era stato stabilito in base alle nostre conoscenze riguardo il periodo di trattamento effettuato con la Citicolina in soluzione orale.

I pazienti dei gruppi GP e GC sono stati analizzati (valutazione della IOP, del campo visivo e registrazione di PERG e PEV) in condizione basale, dopo 4 mesi (al termine della terapia con Citicolina in collirio per il gruppo GC) e dopo 6 mesi (dopo 2 mesi di sospensione della terapia con Citicolina in collirio per il gruppo GC).

Questo studio ha dato luogo ai seguenti risultati.

In primo luogo, nella condizione basale, è stata calcolata l'entità della variabilità delle misure effettuate nelle registrazioni PERG e PEV. Questo dato è molto importante in quanto, in uno studio di follow-up, per comprendere bene se esistano delle variazioni reali rispetto alla condizione basale è necessario conoscere quanto il parametro da noi considerato possa avere una naturale variabilità. Questo calcolo è semplice da eseguire e prende il nome di "test-retest": in condizione basale vengono effettuate dalle 2 alle 4 misurazioni e, calcolando le differenze tra le varie misurazioni, si determina così la "variabilità intraindividuale". In seguito, viene calcolata la media e la SD delle variabilità intraindividuali rilevate nei gruppi dei soggetti in esame e, considerando la media ± 2 SD dei valori della variabilità intraindividuale, si otterrà il 95% dei limiti di condensa della "variabilità interindividuale". Durante il follow-up, la differenza rispetto al basale è considerata come "realmente modificata" se il suo valore eccederà in più o in meno rispetto al 95% dei limiti di condensa della variabilità interindividuale.

Nella condizione basale, i due gruppi GP e GC non presentavano alcuna differenza statisticamente significativa (ANOVA con $p > 0.01$) per ciascun parametro considerato (IOP, MD, ampiezza P50-N95 del PERG, tempo implicito P100 del PEV etc.).

Dopo 4 mesi di trattamento con Citicolina 2% in collirio, nel gruppo GC si osservava che il 79% dei pazienti presentava valori "realmente migliorati" dell'ampiezza P50-N95 del PERG e

del tempo implicito P100 del PEV (le differenze rispetto ai valori basali eccedevano dal 95% dei limiti di con denza della variabilità intraindividuale). In circa il 21% dei pazienti l'ampiezza del PERG ed il tempo implicito del PEV rimanevano sostanzialmente invariati (all'interno del 95% dei limiti di con denza della variabilità intraindividuale).

Considerando i valori medi dei gruppi GP e GC, nel gruppo dei pazienti trattati con Citicolina in collirio si osservava una variazione statisticamente signi cativa ($p < 0.01$) rispetto alla condizione basale sia per l'ampiezza P50-N95 del PERG che per il tempo implicito P100 del PEV; per gli stessi parametri, i valori del gruppo dei pazienti trattati esclusivamente con terapia ipotonizzante oculare non differivano da quelli basali ($p > 0.01$). La rappresentazione gra ca di tali variazioni è riportata nella Figura 18.

Nel gruppo GC abbiamo osservato che l'incremento dell'ampiezza del PERG correlava signi cativamente con la riduzione del tempo implicito del PEV indicando così che una migliore funzionalità delle cellule ganglionari retiniche fosse in grado di indurre una riduzione del ritardo della conduzione nervosa lungo le vie ottiche. Inoltre, è stato osservato che il miglior incremento dell'ampiezza del PERG si osservava in quei pazienti che presentavano la maggiore disfunzione in condizione basale.

Per ciò che riguarda i risultati sul campo visivo, in 17 su 24

(71% circa) pazienti glaucomatosi trattati con Citicolina 2% in collirio, è stato osservato, rispetto alla condizione basale, un incremento della MD > 1 dB con una "mean progressive rate" di 0.56 dB. In 23 su 23 dei pazienti del gruppo GP, i valori della MD erano sostanzialmente non modificati rispetto al basale (modificazioni $<$ di 1 dB con una "mean progressive rate" di -0.24 dB). Per ciò che riguarda la significatività statistica delle variazioni del campo visivo, questo studio non poteva fornire dati a riguardo, in quanto il campione dei pazienti arruolati non era adeguato (in quanto calcolato sulle variazioni del PERG) per effettuare un'analisi statistica corretta.

Un dato molto interessante è stato quello di osservare che le modi cazioni del campo visivo (differenza dei valori MD a 4 mesi meno i valori MD basali), fossero signi cativamente correlate con le differenze (4 mesi meno basale) dell'ampiezza P50-N95 del PERG e del tempo implicito P100 del PEV. Da tale dato, i cui valori sono riportati nella Figura 19, si evince che il miglioramento del campo visivo potesse essere ascrivibile ad una concomitanza di fattori: una migliore funzionalità delle cellule ganglionari ed una riduzione del ritardo della conduzione nervosa lungo le vie ottiche.

Un dato molto importante di questo studio è quello che, nel cam-

Figura 18. Rappresentazione grafica dei valori medi ± 1 errore standard (barra verticale) dell'ampiezza P50-N95 del PERG e del tempo implicito P100 del PEV rilevati nei gruppi di pazienti glaucomatosi trattati con Citicolina 2% in collirio in aggiunta alla terapia ipotonizzante (GC) o trattati con sola terapia ipotonizzante. Il simbolo * indica una differenza statisticamente significativa (ANOVA: $p < 0.01$) rispetto alla condizione basale. Il simbolo ns* indica l'assenza di differenze statisticamente significative (ANOVA: $p > 0.01$) rispetto alla condizione basale (Modificata da Parisi V. et al., Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol., 2015).

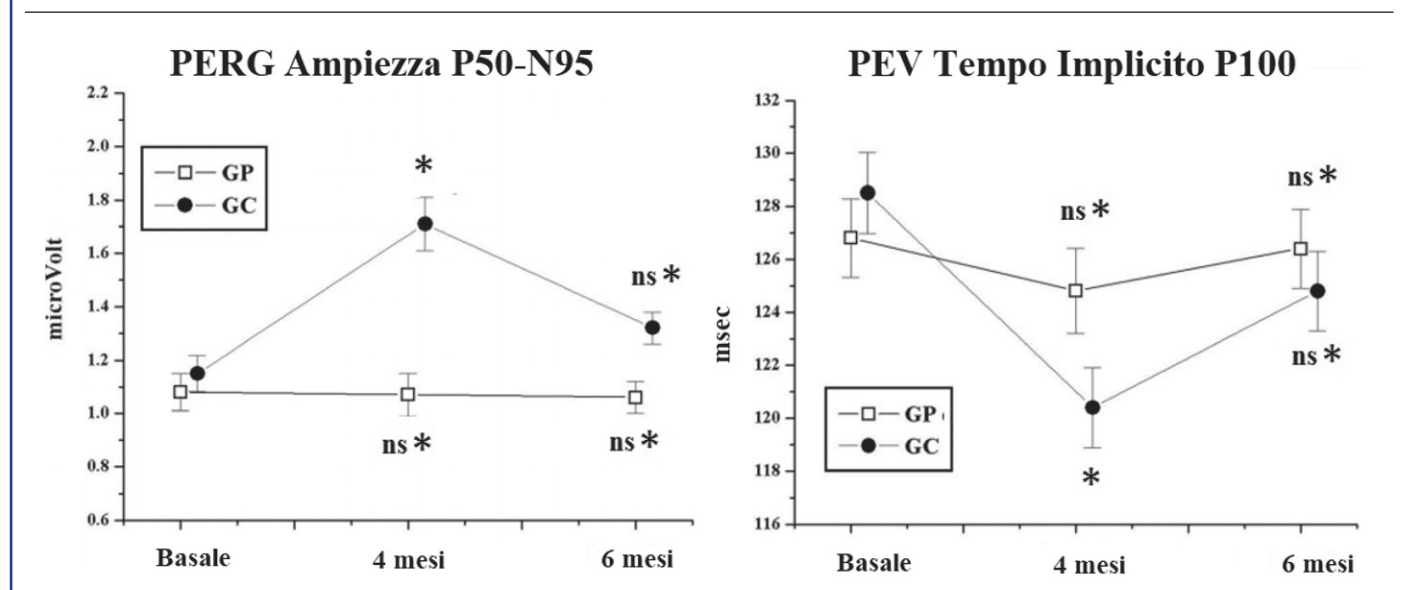
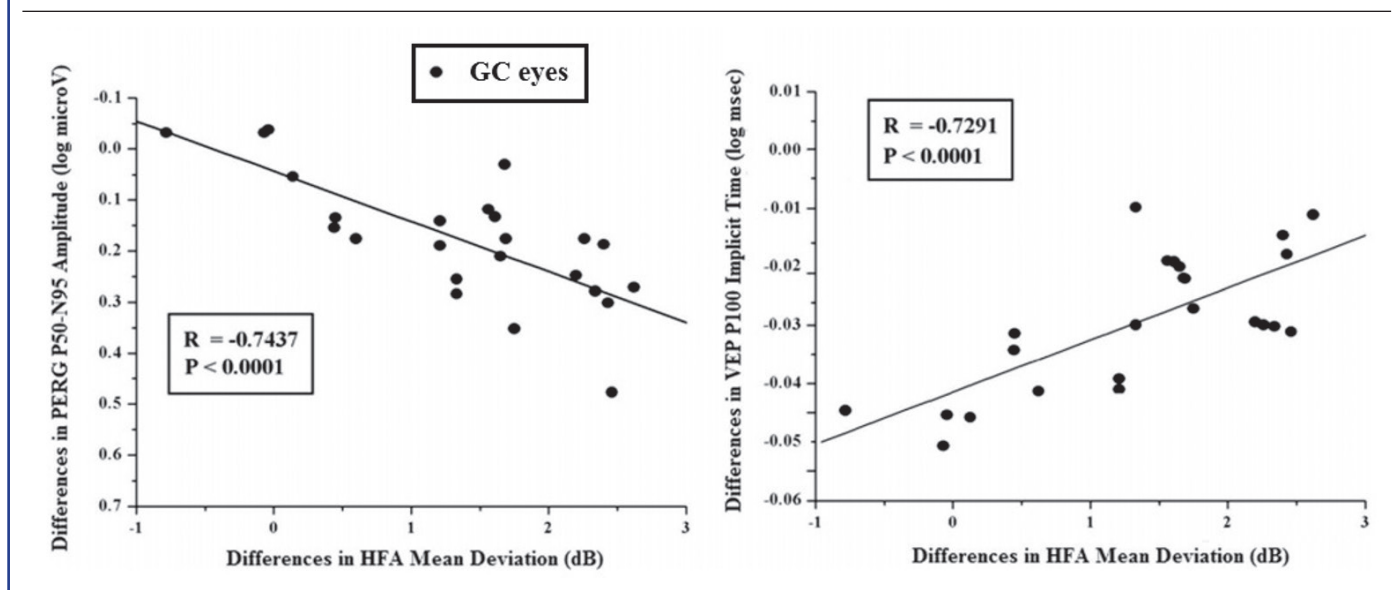


Figura 19. Correlazioni (Pearson's Test) tra le differenze (4 mesi - fine trattamento con Citicolina 2% in collirio - meno basale) della MD e le differenze dell'ampiezza P50-N95 del PERG e del tempo implicito P100 del PEV. Si osservi come il miglioramento del difetto perimetrico sia significativamente correlato con una migliore funzionalità delle cellule ganglionari e con una riduzione del ritardo della conduzione nervosa lungo le vie ottiche (Modificata da Parisi V. et al., Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol., 2015).



pione da noi testato, non abbiamo rilevato nessuna variazione della IOP a seguito del trattamento con il collirio contenente Citicolina. Inoltre, poiché nella Citicolina 2% in collirio è stato utilizzato il BAK ad una concentrazione molto bassa (0.01%) particolare attenzione è stata posta nel valutare gli eventuali effetti collaterali legati all'uso di tale conservante. Abbiamo osservato che, durante tutto il periodo di trattamento, nessun paziente ha riferito sensazione di corpo estraneo, occhio secco, bruciore o visione offuscata o presentato segni oculari come iperemia o disepitelizzazione corneale, subito dopo o in tempi successivi all'instillazione.

In un secondo studio (143), prospettico ed in aperto è stata valutata la funzionalità delle cellule ganglionari (tramite registrazione del PERG), la conduzione nervosa lungo le vie ottiche (attraverso la registrazione dei PEV) ed il difetto perimetrico in pazienti glaucomatosi sottoposti alla somministrazione di Citicolina 2% in collirio in formulazione liposomiale (CLF).

A tal fine, sono stati arruolati dodici pazienti con OAG di età media di 52.58 ± 11.39 anni, pressione intraoculare < 18 mmHg sotto trattamento ipotensivo topico, MD media di -4.49 ± 2.46 dB. Solo un occhio dei pazienti studiati è stato trattato con collirio con CLF (OMK1®-LF, Omikron Italia, 3 gocce/die) (gruppo CLF, 12 occhi) per un periodo di 4 mesi. Negli occhi CLF, il PERG, i PEV ed il campo visivo sono stati valutati al basale e alla fine del

trattamento (mese 4).

Dopo il trattamento con collirio con CLF, sono stati riscontrati un aumento significativo (ANOVA, $p < 0.01$) dell'ampiezza P50-N95 del PERG e un significativo accorciamento del tempo implicito di P100 del PEV. Negli occhi trattati con CLF, l'accorciamento del tempo implicito di VEP P100 era significativamente correlato con l'aumento dell'ampiezza di PERG P50-N95.

Pertanto questo studio ha fornito risultati del tutto simili a quello effettuato precedentemente (142).

Un terzo studio (144) randomizzato, in doppio cieco, controllato vs placebo, multicentrico di 3 anni è stato realizzato dai ricercatori dell'Ospedale San Paolo di Milano, dell'Università di Genova e del Policlinico Tor Vergata di Roma ed è stato coordinato dal Professor Luca Rossetti.

Lo studio aveva lo scopo di verificare se la terapia aggiuntiva con Citicolina in collirio al trattamento di abbassamento della pressione intraoculare (IOP) potesse rallentare la progressione del danno glaucomatoso.

Hanno concluso il periodo di follow-up di 3 anni 40 pazienti trattati in maniera continuativa con Citicolina 2% in collirio (OMK1®, Omikron Italia) e 38 pazienti trattati con placebo. Durante l'intero periodo di follow-up è stata rilevata in tutti i pazienti una costante pressione intraoculare < 18 mmHg.

Figura 20. A sinistra sono riportati i valori medi della MD del HFA 24-2 e dell'HFA 10-2 con relativa analisi statistica tra i gruppi di pazienti trattati con Citicolina 2% in collirio o con placebo. A destra sono presentate le relative rappresentazioni grafiche (Modificata da Rossetti L. et al., J. Glaucoma, 2020).

HFA 24-2 MD in the 2 Study Arms at the Different Trial Intervals

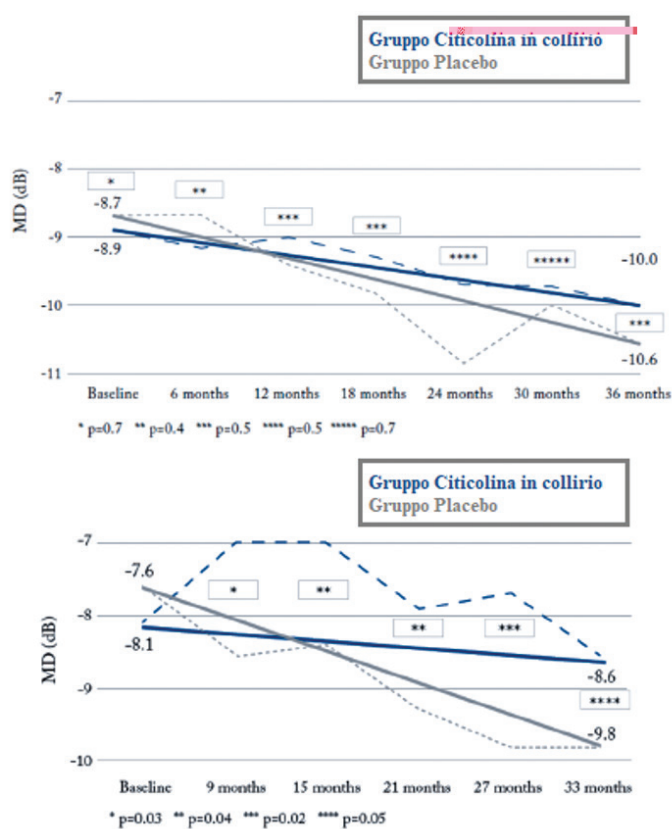
HFA 24-2 MD	Citicoline (40)	Placebo (38)	P
Baseline (dB)	-8.9 (3.1)	-8.7 (2.9)	0.7
6 mo	-9.2 (2.9)	-8.7 (3.0)	0.4
12 mo	-9 (2.8)	-9.4 (3.0)	0.5
18 mo	-9.4 (2.9)	-9.8 (2.9)	0.5
24 mo	-9.7 (3.2)	-10.8 (3.8)	0.1
30 mo	-9.7 (3.1)	-10 (3.9)	0.7
36 mo	-10 (3.9)	-10.6 (3.8)	0.5

Values are represented as mean (SD).
Rates of change: citicoline 3-year rates: -1.03 dB (2.14).
Placebo 3-year rates: -1.92 dB (2.23).
P=0.07, analysis of variance.
HFA indicates Humphrey field analyzer; MD, mean deviation.

HFA 10-2 MD in the 2 Study Arms at the Different Trial Intervals

HFA 10-2 MD	Citicoline (40) (dB)	Placebo (38) (dB)	P
Baseline	-8.1 (2.9)	-7.6 (2.9)	0.4
9 mo	-7 (3.2)	-8.6 (3.0)	0.03
15 mo	-7 (3.0)	-8.4 (3.0)	0.04
21 mo	-7.9 (2.9)	-9.3 (3.2)	0.04
27 mo	-7.7 (3.3)	-9.8 (3.8)	0.02
33 mo	-8.6 (2.7)	-9.8 (2.8)	0.05

Values are represented as mean (SD).
Rates of change: citicoline 3-year rates: -0.41 dB (3.45).
Placebo 3-year rates: -2.22 dB (3.63).
P=0.02, analysis of variance.
HFA indicates Humphrey field analyzer; MD, mean deviation; ns, not significant.



Modificata da Rossetti L et al. J Glaucoma 2020 Jul;29(7):513-520

I pazienti sono stati visitati ogni 3 mesi e sottoposti a un esame del campo visivo, con strategie 24-2 e 10-2 e ogni 6 mesi valutazione del RNFL. L'analisi della varianza e dei modelli lineari sono stati utilizzati per testare le differenze tra i gruppi.

Per ciò che riguarda le modi cazioni perimetriche, valutando le differenze tra i due gruppi di pazienti (trattati con Citicolina in collirio o placebo), durante i 36 mesi di follow-up non sono state rilevate differenze signi cative ($p > 0.05$) per ciò che riguarda la MD del HFA 24-2, mentre è risultata signi cativa ($p = 0.02$) la differenza della MD del HFA 10-2 (-81% nella velocità di progressione del danno campimetrico vs il gruppo placebo).

I valori medi e la rappresentazione gra ca di questi risultati sono

riportati nella Figura 20.

Per ciò che riguarda le modi cazioni strutturali, valutando le differenze tra i due gruppi di pazienti (trattati con Citicolina 2% in collirio o placebo), durante i 36 mesi di follow-up sono state rilevate differenze signi cative ($p = 0.02$) per ciò che riguarda la riduzione dello spessore del RNFL. Infatti nei pazienti trattati con Citicolina in collirio al termine del follow-up è stata osservata una riduzione media dello spessore RNFL di 1.86 μm , mentre nei pazienti trattati con placebo è stata rilevata una maggiore perdita media dello spessore RNFL pari a 2.99 μm , con una riduzione del 38% nella perdita di bre vs placebo.

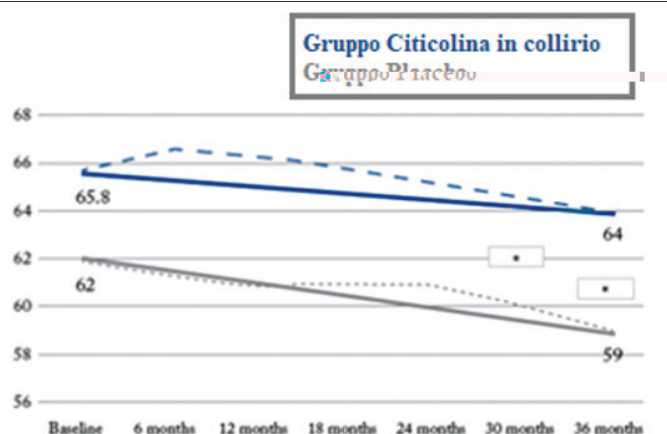
I valori medi di questi risultati sono riportati nella Figura 21.

Figura 21. Valori medi dello spessore delle fibre nervose peripapillari (RNFL) rilevati nei pazienti trattati con Citicolina 2% in collirio o con placebo e relativa analisi statistica tra i gruppi (Modificata da Rossetti L. et al., J. Glaucoma, 2020).

RNFL Thickness in the 2 Study Arms at the Different Trial Intervals

RNFL (µm)	Citicoline (40)	Placebo (38)	P
Baseline	65.8 (12.2)	62 (13)	0.2
6 mo	66.6 (12.3)	61.3 (12.8)	0.1
12 mo	66.4 (12)	60.9 (12.9)	0.07
18 mo	65.9 (11.5)	61 (12.4)	0.07
24 mo	65.1 (11.2)	60.5 (11.7)	0.08
30 mo	64.8 (11.2)	59.4 (11.3)	0.04
36 mo	64 (11.1)	59 (11.3)	0.04

Rates of change (RNFL thickness, average 4 sectors): citicolina 3-year rates: -1.86 µm (1.89).
 Placebo 3-year rates: -2.99 µm (2.52).
 P=0.02.
 RNFL indicates retinal nerve fiber layer, average of 4 sectors (SD) (µm).



Modificata da Rossetti L. et al. J Glaucoma 2020 Jul;29(7):513-520

Questo studio ha suggerito che il trattamento aggiuntivo con Citicolina 2% in collirio, nonostante una pressione intraoculare stabile < 18 mmHg con terapia ipotonizzante, potrebbe diminuire la progressione sia del deficit perimetrico centrale (HFA 10-2) che della riduzione dello spessore delle fibre nervose che formano il nervo ottico.

6.3 Evidenze degli studi con Citicolina somministrata in collirio nella Retinopatia Diabetica

Nonostante la Retinopatia Diabetica (DR) sia sempre stata considerata una malattia microvascolare, è stato dimostrato che nelle fasi iniziali della patologia è presente una degenerazione degli elementi retinici neurali, come le RGC, che potrebbe essere implicata nello sviluppo del danno microvascolare (145-151). La neurodegenerazione retinica potrebbe essere indotta da diversi fattori, come l'aumento dei metaboliti eccitotossici (ad esempio glutammato, aminoacidi a catena ramificata e omocisteina), la diminuzione dell'acido folico e della vitamina B12 (148) o l'attivazione dell'innervazione da parte del recettore P2X7 (149-151). Nella patologia diabetica è stato inoltre rilevato che il processo neuropatico coinvolge anche i nervi corneali con riduzione dello spessore degli stessi (152).

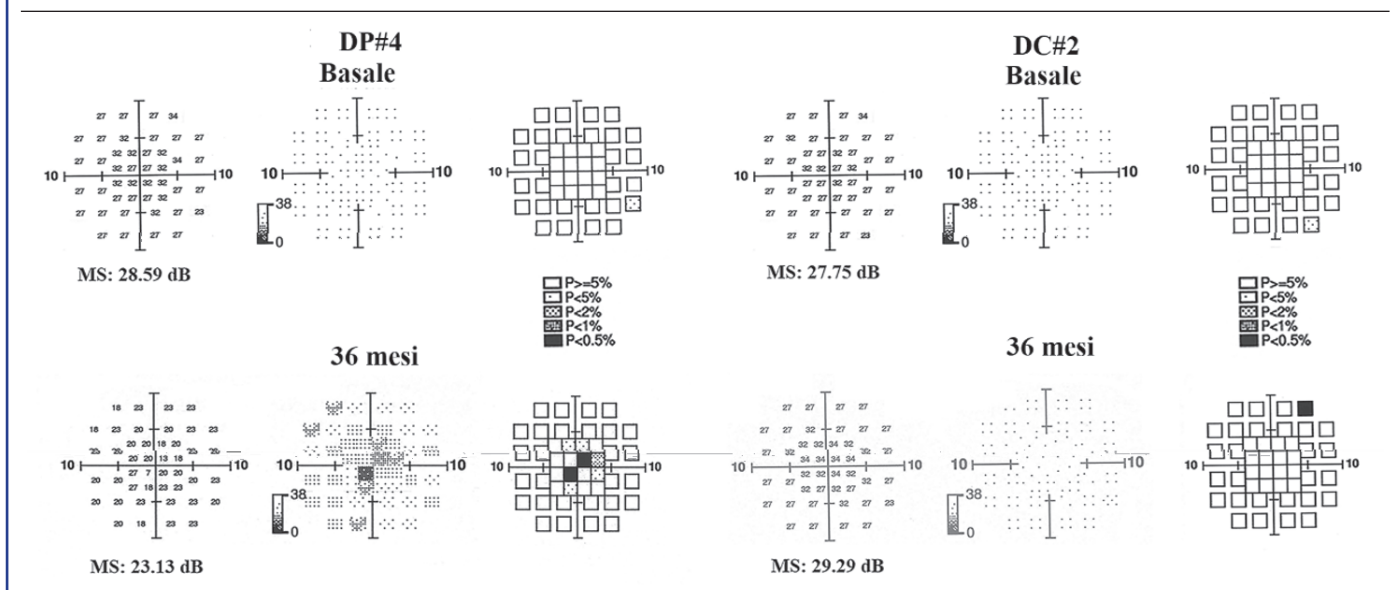
Molti dati supportano il ruolo della Citicolina sulle RGC aumentando la sua funzione (neuroenhancement) e prevenendo la neurodegenerazione (neuroprotezione) [vedi, come review, Parisi et al. (107)]. In base a tali presupposti sono stati effettuati 3 studi atti a valutare gli effetti della Citicolina 2% in collirio in aggiunta alla

vitamina B12 (OMK2®, Omikron Italia) nei pazienti diabetici con Retinopatia iniziale o con deficit dell'innervazione corneale. Nel primo studio (153), prospettico e randomizzato in doppio cieco, sono stati studiati gli effetti della Citicolina e della vitamina B12 somministrati in collirio sulla funzione, la struttura e la condizione vascolare della retina centrale in pazienti diabetici di tipo 1 (DM1) con lievi segni di DR valutati per un periodo di 36 mesi. In questo studio, sono stati arruolati venti pazienti con DM1 e lievi segni di retinopatia diabetica non proliferativa (NPDR); questi sono stati divisi in modo casuale in due gruppi: il gruppo DC, con pazienti trattati con collirio di Citicolina 2% e vitamina B12 (tre gocce/die, OMK2®, Omikron Italia) e il gruppo DP, con pazienti trattati con placebo (tre gocce/die, collirio contenente ipromellosa 0,3%). I pazienti arruolati sono stati trattati per 36 mesi e in tutti i pazienti sono stati eseguiti l'Humphrey Matrix a duplicazione di frequenza (FDT), la SD-OCT e OCT angiografia (OCTA) e l'ottica adattiva (AO) in condizione basale e dopo 12, 24 e 36 mesi del periodo di follow-up.

Durante il periodo di follow-up sono stati rilevati i seguenti risultati:

- a) I valori di sensibilità media (MS) del FDT 24-2 non differivano significativamente tra i gruppi DC e DP, mentre analizzando l'FDT 10-2 si osservava una differenza significativa (p=0.018) tra i due gruppi: nel gruppo DC si rilevava una stabilità, ed in alcuni casi un miglioramento, della MS, mentre nel gruppo DP si osservava un peggioramento della MS. Un esempio di FDT-10 è riportato nella Figura 22.
- b) Analizzando i risultati morfologici, lo spessore dello strato nu-

Figura 22. Esempi di sensibilità media (MS) con la strategia 10-2 della tecnologia Humphrey Matrix a duplicazione di frequenza (FDT) in due pazienti con diabete di tipo 1 con lievi segni di retinopatia diabetica non proliferativa. Un paziente (DP# 4) è stato trattato con collirio contenente placebo (3 gocce/die) e un paziente (DC# 2), con Citicolina 2% e vitamina B12 in collirio (3 gocce/die), entrambi per un periodo di 36 mesi. Rispetto al basale, alla fine del follow-up (36 mesi), è stato osservato un peggioramento dei valori di MS nell'occhio DP, mentre non sono state osservate variazioni significative nell'occhio DC (Modificata da Parravano M. et al., ADV Ther., 2020).



clearare interno parafoveale (INL) dell'OCT ha mostrato un aumento significativo del gruppo DP nel tempo rispetto al gruppo DC, dove non sono stati notati cambiamenti significativi. Inoltre, lo spessore dello strato plessiforme esterno (OPL) ha mostrato una riduzione significativa a 12, 24 e 36 mesi nel gruppo DP, mentre i valori OPL erano simili durante l'intero follow-up nel gruppo DC.

La valutazione microvascolare ottenuta con OCTA ha mostrato che la densità dei vasi foveali (VD) nel plesso capillare superficiale (SCP) e quella nel plesso capillare profondo (DCP) erano diverse tra i gruppi DC e DP; in particolare, la VD foveale sia a SCP che a DCP è apparsa ridotta nel tempo nel gruppo DP rispetto al gruppo DC, dove non sono stati osservati cambiamenti significativi. Inoltre, l'area della zona avascolare foveale (FAZ) non ha mostrato cambiamenti significativi nel tempo in entrambi i gruppi.

Per quanto riguarda i risultati AO, la densità dei coni, l'indice di dispersione lineare e l'indice di impacchettamento dell'eterogeneità non hanno mostrato cambiamenti significativi tra i gruppi DC e DP nel tempo.

Nel secondo studio (154) prospettico e randomizzato in doppio cieco, sono stati valutati gli effetti della Citicolina 2% e della vitamina B12 in collirio sulla funzionalità delle cellule maculari in pazienti (DM1) con NPDR, valutati per un periodo di 36 mesi.

In questo studio, sono stati arruolati 20 pazienti con DM1 e lievi segni di retinopatia diabetica non proliferativa (NPDR); questi sono stati divisi in modo casuale in due gruppi: il gruppo DC, con pazienti trattati con Citicolina 2% e vitamina B12 in collirio (3 gocce/die, OMK2®, Omikron Italia) e il gruppo DP, con pazienti trattati con collirio contenente placebo (3 gocce/die, collirio contenente ipromellosa 0,3%). I pazienti arruolati sono stati trattati per 36 mesi e in tutti i pazienti sono state eseguite registrazioni di Elettroretinogramma multifocale (mfERG) in condizione basale e dopo 36 mesi. [Il mfERG è una metodica elettrofisologica oggettiva che, attraverso specifiche analisi delle risposte bioelettriche (Response Amplitude Density, RAD), permette di valutare la funzionalità dei coni e delle cellule bipolari off presenti tra 0 e 2.5 gradi centrali maculari (Ring 1), tra 2.5 e 5 gradi centrali maculari (Ring 2) e tra 5 e 10 gradi centrali maculari (Ring 3). Il mfERG permette, nei pazienti diabetici, di rilevare disfunzioni precoci delle cellule maculari (155)].

Rispetto ai valori basali, dopo 36 mesi di follow-up, le RAD registrate in R1, R2, R3 e R1+R2+R3 erano significativamente (ANOVA, p<0.01) aumentate (R1+R2+R3 RAD da 21.552±2.522 nV/grado² al basale a 26.912±2850 nV/grado² a 36 mesi) negli occhi DC, mentre negli occhi DP erano significativamente ridotte (R1+R2+R3 RAD da 21.033 ± 3.574 nV/grado² al basale a 16.151 ± 3.571 nV/grado² a 36 mesi). Nella Figura 23 sono riportati esempi di risposte mfERG registra-

pazienti diabetici con DR randomizzati al trattamento con Citicolina 2% e vitamina B12 in collirio (tre gocce/die, OMK2[®], Omikron Italia) o trattati con collirio contenente placebo per 18 mesi, con l'obiettivo di valutare l'effetto della Citicolina sulla morfologia corneale (valutata con microscopia confocale) e sulla sensibilità (esaminata mediante estesiometria corneale). Nel gruppo trattato con Citicolina, è stato rilevato un aumento significativo della densità

7. Sintesi delle evidenze psicofisiche, elettrofisiologiche e morfologiche dopo trattamento con Citicolina somministrata per via intramuscolare, orale ed in collirio nel Glaucoma, nelle Neuriti Ottiche Ischemiche e nella Retinopatia Diabetica

Nelle seguenti Tabelle 3, 4 e 5 sono riportate le evidenze scien-

ti che ottenute da studi condotti in pazienti glaucomatosi, con Neuriti Ottiche Ischemiche e con Retinopatia Diabetica, in cui l'efficacia della Citicolina (somministrata per via intramuscolare, orale ed in collirio) è stata rilevata attraverso l'esecuzione di metodiche semeiologiche di valutazione psicofisica/funzionale (acuità visiva e campo visivo), elettrofisiologica (ERG Multifocale, PERG e PEV) e morfologica (OCT). Tutte queste evidenze sono riportate in una review pubblicata nel 2021 (156).

Tabella 3. Sintesi degli studi clinici che hanno valutato l'efficacia della Citicolina: evidenze da valutazioni psicofisiche/funzionali.

Autori	Anno	Popolazione dello studio	Tipologia di somministrazione	Dosaggio	Programma di trattamento	Follow-up	Risultati principali
Pecori Giraldi J. et al. [116]	1989	OAG	IM	1000 mg/giorno	10 giorni	90 giorni	Miglioramento e stabilità del campo visivo
Virno M. et al. [117]	2000	OAG	IM	1000 mg/giorno	20 cicli di 15 giorni di trattamento ciascuno seguiti da 180 giorni di sospensione	10 anni	Miglioramento del campo visivo
Parisi V. et al. [121]	2005	OAG con MDg -3/-6 dB	IM	1000 mg/giorno	14 cicli di 60 giorni di trattamento ciascuno seguiti da 120 giorni di sospensione	8 anni	Il miglioramento del campo visivo è correlato con: aumento delle As P50-N95 del PERG e N75-P100 del PEV e riduzione dei TI P50 del PERG e P100 del PEV
Ottobelli L. et al. [126]	2013	OAG progressiva	Soluzione orale	500 mg/giorno	4 cicli di 120 giorni di trattamento ciascuno seguiti da 60 giorni di sospensione	2 anni	Riduzione della velocità di progressione del campo visivo
Roberti G. et al. [141]	2014	OAG con MD -2/-14 dB	Citicolina 2% in collirio	3 gocce al giorno	60 giorni di trattamento seguiti da 30 giorni di sospensione	90 giorni	Miglioramento del campo visivo associato a: aumento delle As P50-N95 del PERG e riduzione dei TI P50 del PERG
Parisi V. et al. [142]	2015	OAG con MD > 12 dB	Citicolina 2% in collirio	3 gocce al giorno	120 giorni di trattamento seguiti da 60 giorni di sospensione	180 giorni	Miglioramento del campo visivo correlato con: aumento delle As P50-N95 del PERG e N75-P100 del PEV N75-P100 e riduzione dei TI P50 del PERG e P100 del PEV
Parisi V. et al. [143]	2019	OAG con MD -2/-6 dB	Citicolina 2% in collirio LF	3 gocce al giorno	120 giorni di trattamento	120 giorni	Miglioramento del campo visivo associato a: aumento delle As P50-N95 del PERG e N75-P100 del PEV N75-P100 e riduzione dei TI P50 del PERG e P100 del PEV

Parisi V. et al. [140]	2019	NAION	Soluzione Orale	500 mg/giorno	180 giorni di trattamento seguiti da 90 giorni di sospensione	9 mesi	Miglioramento dell'acuità visiva e del campo visivo correlato con: aumento delle As P50-N95 del PERG e N75-P100 del PEV e riduzione dei Tif P50 del PERGc e P100 del PEV
Lanza M. et al. [128]	2019	OAG	Soluzione Orale	500 mg/giorno	2 cicli di 120 giorni di trattamento ciascuno seguiti da 60 giorni di sospensione	2 anni	Riduzione dell'entità di progressione del campo visivo associato al rallentamento della riduzione del RNFL-T ed all'assottigliamento del GCC-T
Rossetti L. et al. [144]	2020	OAG con MD -2/-15 dB	Citicolina 2% in collirio	3 gocce al giorno	3 anni di trattamento	3 anni	Stabilizzazione del campo visivo 24-2 e miglioramento del 10-2 associato ad una stabilizzazione del RNFL-T
Parravano M. et al. [153]	2020	NPDR	Citicolina 2% e Vitamina B12 in collirio	3 gocce al giorno	3 anni di trattamento	3 anni	Aumento della sensibilità media maculare del FDT 10-2 associato con stabilizzazione dello spessore di IPL e OPL ed alla densità vascolare foveale del SCP e DCP valutata dall'OCTA
Abbreviazioni. OAG = Glaucoma ad Angolo Aperto; IM = Intramuscolare; PERG = Elettroretinogramma da Pattern; PEV = Potenziali Evocati Visivi; As = Ampiezze; TI = Tempi Impliciti; MD = Deviazione media della perimetria Humphrey 24-2 SITA Strategia standard; NAION = Neuropatia Ottica Ischemica Anteriore Non Arteritica; LF = Formulazione liposomiale; RNFL-T = Spessore dello strato di fibre nervose peripapillari; GCC-T = Spessore del complesso delle cellule ganglionari; NPDR = Retinopatia diabetica non proliferativa; FDT = Tecnologia a duplicazione di frequenza; IPL = Inner Plexiform Layer (strato plessiforme interno); OPL = Outer Plexiform Layer (strato plessiforme esterno); SCP = Superficial Capillary Plexus (plesso capillare superficiale); DCP = Deep Capillary Plexus (plesso capillare profondo); OCTA = Optical Coherence Tomography Angiography (angiografia tomografica a coerenza ottica).							

Tabella 4. Sintesi degli studi clinici che hanno valutato l'efficacia della Citicolina: evidenze da valutazioni elettrofisiologiche.

Autori	Anno	Popolazione dello studio	Tipologia di somministrazione	Dosaggio	Programma di trattamento	Follow-up	Risultati principali
Parisi V. et al. [115]	1999	OAG ^a con MD -3/-6 dB1	IM	1000 mg/giorno	2 cicli di 60 giorni di trattamento ciascuno seguiti da 120 giorni di sospensione	360 giorni	Aumento delle As P50-N95 del PERG e N75-P100 del PEV e riduzione dei TI P50 del PERG e P100 del PEV
Redjak R. et al. [124]	2003	OAG	Compresa	1000 mg/giorno	1 ciclo di 56 giorni di trattamento	56 giorni	Riduzione dei TI P100 del PEV
Parisi V. [121]	2005	OAG con MD -3/-6 dB	IM	1000 mg/giorno	14 cicli di 60 giorni di trattamento ciascuno seguiti da 120 giorni di sospensione	8 anni	Aumento delle As P50-N95 del PERG e N75-P100 del PEV e riduzione dei TI P50 del PERG e P100 del PEV. Correlazione con il miglioramento del campo visivo.
Parisi V. et al. [125]	2008	OAG con MD -2/-14 dB	IM Orale	1000 mg/giorno 600 mg/giorno	2 cicli di 60 giorni di trattamento ciascuno seguiti da 120 giorni di sospensione	360 giorni	Aumento delle As P50-N95 del PERG e N75-P100 del PEV e riduzione dei TI P50 del PERG e P100 del PEV. Associazione con il miglioramento del campo visivo. Differenze non significative tra il trattamento IM e quello orale
Roberti G. et al. [141]	2014	OAG con MD -2/-14 dB	Citicolina 2% in collirio	3 gocce al giorno	60 giorni di trattamento seguiti da 30 giorni di sospensione	90 giorni	

Parisi V. et al. [142]	2015	OAG con MD > 12 dB	Citicolina 2% in collirio	3 gocce al giorno	120 giorni di trattamento seguiti da 60 giorni di sospensione	180 giorni	Aumento delle As P50-N95 del PERG e N75-P100 del PEV e riduzione dei TI P50 del PERG e P100 del PEV correlati con il miglioramento del campo visivo
Parisi V. et al. [143]	2019	OAG con MD -2/-6 dB	Citicolina 2% in Soluzione Oftalmica liposomiale (preservative free)	3 gocce al giorno	120 giorni di trattamento	120 giorni	Aumento delle As P50-N95 del PERG e N75-P100 del PEV e riduzione dei TI P50 del PERG e P100 del PEV. Associazione con il miglioramento del campo visivo
Parisi V. et al. [140]	2019	NAION	Soluzione orale	500 mg/giorno	6 mesi di trattamento seguiti da 3 mesi di wash-out	9 mesi	Aumento delle As P50-N95 del PERG e N75-P100 del PEV e riduzione dei TI P50 del PERG e P100 del PEV. Correlazione con miglioramento del campo visivo. Stabilizzazione o miglioramento del RNFL-T
Parisi V. et al. [154]	2021	NPDR	Citicolina 2% e Vitamina B12 in collirio	3 gocce al giorno	3 anni di trattamento	3 anni	Aumento della RAD dell'ERG multifocale registrata nei 10 gradi centrali retinici

Abbreviazioni. OAG = Glaucoma ad Angolo Aperto; IM = Intramuscolare; PERG = Elettroretinogramma da Pattern; PEV = Potenziali Evocati Visivi; As = Ampiezze; TI = Tempi Impliciti; MD = Deviazione Media della perimetria Humphrey 24-2 SITA Strategia Standard; NAION = Neuropatia Ottica Ischemica Anteriore Non Arteritica; LF = Formulazione Liposomiale; RNFL-T = Spessore dello Strato di Fibre Nervose Peripapillari; NPDR = Retinopatia Diabetica Non Proliferativa; RAD = Response Amplitude Density dell'ERG multifocale.

Tabella 5. Sintesi degli studi clinici che valutato l'efficacia della Citicolina: evidenze da valutazioni morfologiche.

Autori	Anno	Popolazione dello studio	Tipologia di somministrazione	Dosaggio	Programma di trattamento	Follow-up	Risultati principali
Lanza M. et al. [128]	2019	OAG	Soluzione orale	500 mg/giorno	2 cicli di 120 giorni di trattamento ciascuno seguiti da 60 giorni di sospensione	2 anni	Rallentamento della riduzione del RNFL-T e dell'assottigliamento del GCC-T associato con la stabilizzazione del campo visivo
Rossetti L. et al. [144]	2020	OAG con MD -2/-15 dB	Citicolina 2% in collirio	3 gocce al giorno	1095 giorni di trattamento	3 anni	Stabilizzazione del RNFL-T ed associazione con miglioramento del campo visivo 10-2
Parisi V. et al. [140]	2019	NAION	Soluzione orale	500 mg/giorno	180 giorni di trattamento seguiti da 90 giorni di sospensione	9 mesi	Stabilizzazione o miglioramento del RNFL-T associato a: 1) Aumento delle Ase P50-N95 del PERG e N75-P100 del PEV e riduzione dei TI P50 del PERG e P100 del PEV. 2) Miglioramento dell'acuità visiva e del campo visivo
Parravano M. et al. [153]	2020	NPDR	Citicolina 2% e Vitamina B12 in collirio	3 gocce al giorno	3 anni di trattamento	3 anni	Stabilizzazione dello spessore di IPL e OPL e della densità vascolare foveale del SCP e DCP valutata dall'OCTA
Fognolo P. et al. [152]	2020	DR	Citicolina 2% e Vitamina B12 in collirio	3 gocce al giorno	18 mesi di trattamento	18 mesi	Aumento della densità e della lunghezza delle fibre nervose corneali e della sensibilità corneale

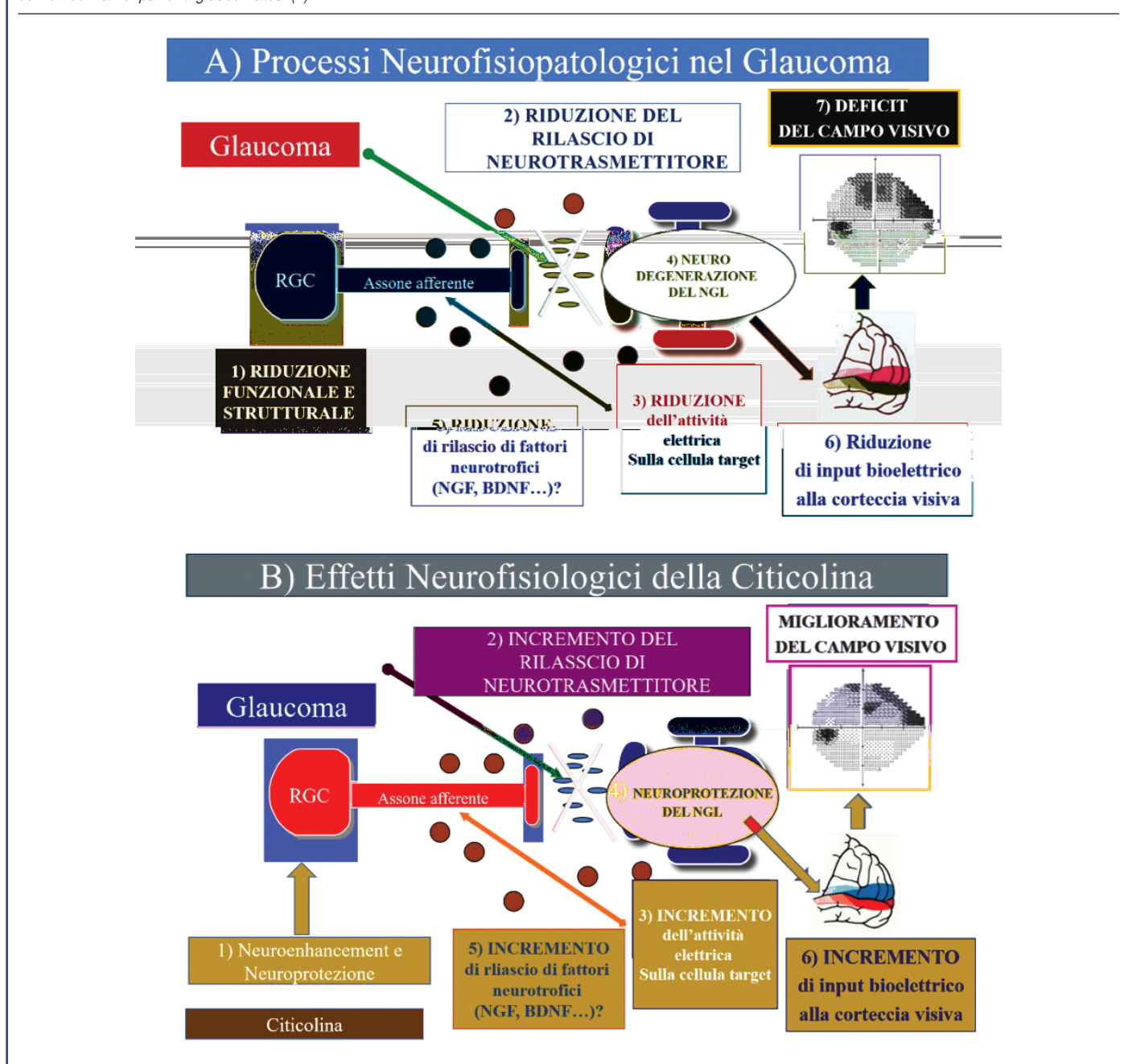
Abbreviazioni. OAG = Glaucoma ad Angolo Aperto; RNFL-T = Spessore dello Strato di Fibre Nervose Peripapillari; GCC-T = Spessore del Complesso di Cellule Ganglionari; MD = Deviazione Media della perimetria Humphrey 24-2 SITA Strategia Standard; NAION = Neuropatia Ottica Ischemica Anteriore Non Arteritica; PERG = Elettroretinogramma da Pattern; PEV = Potenziali Evocati Visivi; As = Ampiezze; IT = Tempi Impliciti; NPDR = Retinopatia Diabetica Non Proliferativa; IPL = Strato Plessiforme Interno; OPL = Strato Plessiforme Esterno; SCP = Plesso Capillare Superficiale; DCP = Plesso Capillare Profondo; OCTA = Angiografia Tomografica a Coerenza Ottica; DR = Retinopatia Diabetica.

8. Considerazioni neurofisiologiche

Sulla base degli studi preclinici, dalle evidenze provenienti da studi condotti sia su pazienti con OAG che con NAION,

emerge un dato fondamentale: dopo trattamento con Citicolina (in soluzione orale o in collirio nel caso dei pazienti OAG ed in soluzione orale nei pazienti NAION), si rileva un rallentamento della progressione del danno morfologico e/o

Figura 24. Rappresentazione schematica dei meccanismi neurofisiopatologici che determinano la perdita del campo visivo (A), ed il suo recupero dopo trattamento con Citicolina nei pazienti glaucomatosi (B).



funzionale ed un miglioramento del campo visivo e, nel caso dei pazienti OAG è stato documentato anche un miglioramento della qualità della visione.

Dunque, tutto quanto osservato è la risultante di una serie di implicazioni neurofisiologiche che saranno di seguito riassunte.

Come espresso nel punto 4.1 ed in base agli studi combinati di perimetria, elettro fisiologia e morfologia [vedi come review (13)], nell'OAG il deficit perimetrico è la risultante di un deficit morfo-funzionale delle RGC con conseguente riduzione di attività bioelettrica e fenomeni di neurodegenerazione a livello del NGL e successiva anomalia della conduzione nervosa tra NGL e corteccia visiva che si manifesta con un deficit del campo visivo.

Dopo trattamento con Citicolina, sia nel OAG che nella NAION è stata osservata una riduzione della progressione di perdita e/o miglioramento delle RGC e del RNFL (neuroprotezione) ed un incremento della funzionalità delle RGC (neuroenhancement).

Il primo step della piramide dell'evidenza relativa agli studi pre-clinici sulla Citicolina (riportato nel capitolo 2), fornisce una serie di informazioni per comprendere sia gli effetti neuroprotettivi che di neuroenhancement che possono essere sintetizzati nell'azione strutturale della Citicolina (vedi capitolo 3). Bisogna considerare anche l'azione neuromodulatrice per fornire una spiegazione riguardo gli effetti della Citicolina sulla conduzione nervosa. Tale effetto è documentato dalla riduzione dei tempi impliciti P100 del PEV sia nei pazienti con OAG che nei pazienti con NAION.

Tale azione "dopaminergic-like activity" è derivata da due tipi di considerazioni.

La prima riguarda gli studi effettuati sui pazienti ambliopi che presentano, analogamente a quelli glaucomatosi, una disfunzione post-retinica (aumento del Tempo Retinocorticale) (157) ed in cui, dopo trattamento con Citicolina, è stato osservato un incremento dell'acuità visiva (158-159) del tutto simile a quello rilevato dopo trattamento con levodopa (160-162). La seconda è basata sugli effetti della Citicolina, che è raccomandata come terapia complementare nella malattia di Parkinson (80), in cui è noto esista una carenza di dopamina.

Per spiegare l'azione neuromodulatrice dobbiamo fare riferimento al modello della disfunzione del sistema visivo del soggetto glaucomatoso riportato nella Figura 7B.

Dunque, è del tutto verosimile che, se la Citicolina viene somministrata per via generale (intramuscolare o orale), tale mole-

cola vada direttamente ad agire a livello della sinapsi formata dall'assone della cellula ganglionare e la cellula del NGL. Ciò produrrebbe una stimolazione con conseguente riattivazione di quelle cellule post-sinaptiche che erano disfunzionanti (in quanto ricevevano minor neurotrasmettitore) che a loro volta fornirebbero un miglior input nervoso alla corteccia visiva. E qui si apre un interessantissimo campo di ricerca oggetto di uno studio in corso relativo alla possibilità della Citicolina di indurre plasticità cerebrale (vedi capitolo 9). Questa ipotesi è supportata dal dato molto importante del miglioramento del Tempo Retinocorticale dopo trattamento con Citicolina per via intramuscolare o per via orale (vedi Tabella 4). Tale sequenza di eventi è utile per spiegare i miglioramenti del campo visivo riportati in vari studi (116, 117, 121, 126, 140, 142, 144).

Inoltre, poiché dopo il trattamento con Citicolina si ha un "neuroenhancement" delle cellule ganglionari, è del tutto probabile che tale miglioramento funzionale induca un maggior rilascio di neurotrasmettitore a livello della sinapsi con il NGL, con conseguente migliore conduzione nervosa lungo le vie ottiche e relativo miglioramento del campo visivo.

Nella Figura 24 sono riassunti sia i meccanismi neuro fisiologici che determinano la perdita del campo visivo (A), che il suo recupero dopo trattamento con Citicolina (B) nei pazienti glaucomatosi.

9. Evidenze.... in progress

Attualmente sono in corso due studi che si spera arricchiscano le evidenze scientifiche sull'impiego terapeutico della Citicolina nel glaucoma.

Il primo studio, dal titolo "*The efficacy of citicoline eye drops 2% on visual field preservation in patients with open angle glaucoma*", ha l'obiettivo di confermare l'efficacia della Citicolina in collirio in aggiunta alla terapia ipotensiva oculare nel rallentare il danno funzionale e strutturale in pazienti con glaucoma.

Si tratta di un trial clinico di fase III (numero Clinicaltrials.gov: NCT05710198) randomizzato, multicentrico, internazionale (32 Centri in 8 Paesi EU ed extra-EU) in doppio cieco vs placebo.

È previsto l'arruolamento di 1000 pazienti con glaucoma ad angolo aperto, pseudoesfoliativo e pigmentario con pressione controllata (< 18 mmHg) che saranno seguiti per 3 anni.

Il parametro principale di valutazione sarà la differenza nella

velocità di progressione del danno perimetrico (variazione del MD) osservata nei 3 anni di studio nel gruppo trattato con Citicolina in collirio rispetto a quella rilevata nel gruppo placebo. Il termine dello studio è previsto per aprile 2027.

Il secondo studio, dal titolo "Studio morfo-funzionale multimodale in pazienti affetti da glaucoma-Citicolina soluzione orale", ha l'obiettivo di studiare la connettività sinaptica lungo le vie ottiche in pazienti glaucomatosi trattati con Citicolina in soluzione orale in aggiunta alla terapia ipotensiva oculare.

Si tratta di un trial clinico (numero Clinicaltrials.gov: NCT05315206) randomizzato, multicentrico nazionale, in doppio cieco vs placebo.

È previsto l'arruolamento di 44 pazienti con glaucoma ad angolo aperto, con pressione controllata (< 18 mmHg) e danno campimetrico tra -6 e -25 dB.

Il parametro principale di valutazione sarà la differenza dei valori della conduzione nervosa post-retinica (valutata elettro - fisiologicamente e correlata sia alla morfologia delle fibre nervose peripapillari che alle misure di connettività talamo-corticali valutate tramite la Risonanza Magnetica Funzionale) osservata dopo 12 mesi di studio nel gruppo trattato con Citicolina rispetto a quella rilevata nel gruppo di controllo trattato con placebo. Il termine dello studio è previsto per marzo 2025.

10. Considerazioni conclusive

Basandosi sui vari punti della "piramide dell'evidenza scientifica" (vedi Figura 1), la Citicolina ha una solida storia di evidenze scientifiche (in tutti i punti della piramide) che supportano il suo utilizzo terapeutico "Evidence Based Medicine", sia nelle patologie neurodegenerative che nelle patologie che interessando il sistema nervoso visivo come il Glaucoma, le Neuriti Ottiche Ischemiche, la Retinopatia Diabetica.

Dalle evidenze scientifiche che si desume che il trattamento con Citicolina in soluzione orale e in collirio [il cui meccanismo di azione è riportato nelle review (32) (108) (156) (163)] induce:

- 1) un miglioramento della funzionalità delle cellule ganglionari retiniche sia nel OAG che nelle NAION (neuroenhancement);
- 2) un miglioramento della funzionalità delle cellule maculari con conseguente incremento della sensibilità retinica nella Retinopatia Diabetica non proliferativa (neuroenhancement);
- 3) un miglioramento della conduzione nervosa lungo le vie ottiche sia nel OAG che nelle NAION (neuroenhancement);
- 4) una stabilizzazione/miglioramento della morfologia delle cellule ganglionari e delle loro fibre che formano il nervo ottico sia nel OAG che nelle NAION (neuroprotezione);
- 5) rallentamento della perdita delle fibre nervose retiniche peripapillari nel OAG in progressione (neuroprotezione);
- 6) una stabilizzazione del danno perimetrico nel OAG in progressione (neuroenhancement e neuroprotezione);
- 7) un miglioramento del campo visivo nel OAG con stabilità perimetrica e nelle NAION (neuroenhancement e neuroprotezione);
- 8) un miglioramento della qualità di vita legata alla visione.

È da sottolineare che, in diversi studi clinici, il trattamento con Citicolina (in soluzione orale o in collirio) è stato quasi sempre seguito da periodi di sospensione che veniva effettuata solo a dimostrazione del fatto che l'effetto indotto fosse farmaco-dipendente e che diminuisse dopo la sospensione del trattamento. E ciò rappresentava una prova dell'efficacia terapeutica.

Nella pratica clinica il trattamento con Citicolina in soluzione orale o in collirio non necessita di alcuna sospensione, come avviene in diverse patologie del Sistema Nervoso Centrale.

In conclusione, attualmente, la Citicolina ha una "autorevole storia" di evidenze scientifiche che documentano, nelle patologie del sistema nervoso visivo (OAG, NAION, RD), la sua efficacia sia di neuropotenziamento che di neuroprotezione, con conseguenti importanti benefici sulla percezione visiva.

11. Bibliografia

1. Magnitude and causes of visual impairment. Fact sheet No 282, November 2004. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs282/en/> (accessed June 16, 2016).
2. The Advanced Glaucoma Intervention Study (AGIS). 7. The relationship between control of intraocular pressure and visual field deterioration. The AGIS Investigators. *Am J Ophthalmol* 2000;130:429-40.
3. Maier PC, Funk J, Schwarzer G, et al. Treatment of ocular hypertension and glaucoma: meta-analysis of randomized controlled trials. *BMJ* 2005;331:134.
4. European Glaucoma Society. Terminology and guidelines for glaucoma. 3rd ed. Savona, Italy: European Glaucoma Society; 2008. Available at http://www.eugs.org/eng/EGS_guidelines.asp.
5. American Academy of Ophthalmology Glaucoma panel. Preferred practice Pattern. Primary Open-Angle Glaucoma. San Francisco, CA: American Academy of ophthalmology 2010; Available at: <http://one.aao.org/CE/PracticeGuidelines/PPP.aspx>.
6. Wilson MR, Kosoko O, Cowan CL Jr et al. Progression of visual field loss in untreated glaucoma patients and glaucoma suspects in St. Lucia, West Indies. *Am J Ophthalmol*. 2002; 134:399-405.
7. Comparison of glaucomatous progression between untreated patients with normal-tension glaucoma and patients with therapeutically reduced intraocular pressures. Collaborative Normal-Tension Glaucoma Study Group. *Am J Ophthalmol*. 1998; 126:487-97.
8. Heijl A, Leske MC, Bengtsson B, Hyman L, Bengtsson B, Hussein M; Early Manifest Glaucoma Trial Group. Reduction of intraocular pressure and glaucoma progression: results from the Early Manifest Glaucoma Trial. *Arch Ophthalmol*. 2002; 120:1268-79.
9. Weinreb RN, Friedman DS, Fechtner RD, et al. Risk assessment in the management of patients with ocular hypertension. *Am J Ophthalmol*. 2004; 138:458-67.
10. Quigley HA, Sanchez RM, Dunkelberger GR, L'Hernault NL, Baginski TA. Chronic glaucoma selectively damages large optic nerve fibers. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1987; 28:913-20.
11. Quigley HA, Dunkelberger GR, Green WR. Chronic human glaucoma causing selectively greater loss of large optic nerve fibers. *Ophthalmology* 1987; 95:357-63.
12. Quigley HA, Nickells RW, Kerrigan LA, Pease ME, Thibault DJ, Zack DJ. Retinal ganglion cell death in experimental glaucoma and after axotomy occurs by apoptosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1995; 36:774-86.
13. Parisi V, Ziccardi L, Tanga L, Roberti G, Barbano L, Carnevale C, Manni G, Oddone F. Neural Conduction Along Postretinal Visual Pathways in Glaucoma. *Front Aging Neurosci*. 2021; 13:697425
14. Chaturvedi N, Hedley-Whyte T, Dreyer EB. Lateral geniculate nucleus in Glaucoma. *Am J Ophthalmol*. 1993; 116:182-8.
15. Gupta N, Yucel YH. Brain changes in glaucoma. *Eur J Ophthalmol*. 2003;13 Suppl 3:S32-5.
16. Yucel YH, Zhang Q, Weinreb RN, Kaufman PL, Gupta N. Effects of retinal ganglion cell loss on magno-, parvo-, koniocellular pathways in the lateral geniculate nucleus and visual cortex in glaucoma. *Prog Retin Eye Res*. 2003; 22:465-81.
17. Gupta N, Greenberg G, de Tilly LN, Gray B, Polemidiotis M, Yücel YH. Atrophy of the lateral geniculate nucleus in human glaucoma detected by magnetic resonance imaging. *Br J Ophthalmol*. 2009; 93:56-60.

18. Dai H, Mu KT, Qi JP, Wang CY, Zhu WZ, Xia LM, et al. Assessment of lateral geniculate nucleus atrophy with 3T MR imaging and correlation with clinical stage of glaucoma. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2011; 32:1347-53.
19. Furlanetto RL, Teixeira SH, Gracitelli CPB, Lottenberg CL, Emori F, Michelan M et al. Structural and functional analyses of the optic nerve and lateral geniculate nucleus in glaucoma. *PLoS One.* 2018; 13:e0194038.
20. Lawlor M, Danesh-Meyer H, Levin LA, Davagnanam I, De Vita E, Plant GT. Glaucoma and the brain: Trans-synaptic degeneration, structural change, and implications for neuroprotection. *Surv Ophthalmol.* 2018; 63:296-314.
21. Hardy J, Revesz T. The spread of neurodegenerative disease. *N Engl J Med.* 2012; 366:2126-8.
22. Rejdak R, Toczolowski J, Solski J, Duma D, Grieb P. Citicoline Treatment Increases Retinal Dopamine Content in Rabbits. *Ophthalmic. Res.* 2002; 34:146-49.
23. Martinet M, Fonlupt P, Pacheco H. Effects of Cytidine-5' Diphosphocholine on Norepinephrine, Dopamine and Serotonin Synthesis in Various Regions of the Rat Brain. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 1979; 239:52-61.
24. Bucolo C, Leggio G.M, Drago F, Salomone S. Dopamine outside the brain: The eye, cardiovascular system and endocrine pancreas. *Pharmacol Ther.* 2019; 203:107392.
25. Faiq MA, Wollstein G, Schuman JS, Chan KC. Cholinergic nervous system and glaucoma: From basic science to clinical applications. *Prog. Retin. Eye Res.* 2019; 72:100767.
26. Frezzotti P, Giorgio A, Motolese I, De Leucio A, Iester M, Motolese E, et al. Structural and Functional Brain Changes beyond Visual System in Patients with Advanced Glaucoma. *PLoS One.* 2014; 9:e105931.
27. Giorgio A, Zhang J, Costantino F, De Stefano N, Frezzotti P. Diffuse brain damage in normal tension glaucoma. *Hum Brain Mapp.* 2018; 39:532-41.
28. Hardy J, Revesz T. The spread of neurodegenerative disease. *N Engl J Med.* 2012; 366:2126-8.
29. Rejdak R, Toczolowski J, Solski J, Duma D, Grieb P. Citicoline Treatment Increases Retinal Dopamine Content in Rabbits. *Ophthalmic. Res.* 2002; 34:146-49.
30. Martinet M, Fonlupt P, Pacheco H. Effects of Cytidine-5' Diphosphocholine on Norepinephrine, Dopamine and Serotonin Synthesis in Various Regions of the Rat Brain. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 1979; 239:52-61.
31. Bucolo C, Leggio G.M, Drago F, Salomone S. Dopamine outside the brain: The eye, cardiovascular system and endocrine pancreas. *Pharmacol Ther.* 2019; 203:107392.
32. Faiq MA, Wollstein G, Schuman JS, Chan KC. Cholinergic nervous system and glaucoma: From basic science to clinical applications. *Prog. Retin. Eye Res.* 2019; 72:100767.
33. Grieb P. Neuroprotective Properties of Citicoline: Facts, Doubts and Unresolved Issues. *CNS Drugs* 2014; 28:185-93.
34. Kennedy EP, Weiss SB. The function of cytidine coenzymes in the biosynthesis of phospholipides. *J. Biol. Chem.* 1956; 222:193-214.
35. Fagone P, Jackowski S. Phosphatidylcholine and the CDP-choline cycle. *Biochim. Biophys. Acta* 2013; 1831:523-32.

36. Weiss GB. Metabolism and actions of CDP-choline as an endogenous compound and administered exogenously as citicoline. *Life Sci.* 1995; 56:637–60.
37. Gandol S, Marchini G, Caporossi A, Scuderi G, Tomasso L, Brunoro A. Cytidine 5'-Diphosphocholine (Citicoline): Evidence for a Neuroprotective Role in Glaucoma. *Nutrients* 2020; 12:793.
38. Grieb P, Rejdak R. Pharmacodynamics of citicoline relevant to the treatment of glaucoma. *J. Neurosci. Res.* 2002; 67:143–48.
39. Secades JJ. Citicoline: Pharmacological and clinical review, 2016 update. *Rev. Neurol.* 2016; 63:1–73.
40. Schauss AG, Somfai-Relle S, Financsek I, Glavits R, Parent SC, Endres JR, Varga T, Szücs Z, Clewell A. Single- and Repeated-Dose Oral Toxicity Studies of Citicoline Free-Base (Choline Cytidine 5'-Pyrophosphate) in Sprague-Dawley Rats. *Int. J. Toxicol.* 2009; 28:479–87.
41. Gareri P, Castagna A, Cotroneo AM, Putignano S, De Sarro G, Bruni AC. The Role of Citicoline in Cognitive Impairment: Pharmacological Characteristics, Possible Advantages, and Doubts for an Old Drug with New Perspectives. *Clin. Interv. Aging* 2015; 10:1421–9.
42. Carnevale C, Manni G, Roberti G, Micera A, Bruno L, Cacciamani A, Altani R, Quaranta L, Agnelli L, Tanga L et al. Human Vitreous Concentrations of Citicoline Following Topical Application of Citicoline 2% Ophthalmic Solution. *PLoS ONE* 2019; 14:e0224982.
43. Matteucci A, Varano M, Gaddini L, Mallozzi C, Villa M, Pricci F, Malchiodi-Albedi F. Neuroprotective Effects of Citicoline in in Vitro Models of Retinal Neurodegeneration. *Int. J. Mol. Sci.* 2014; 15:6286–97.
44. Oshitari T, Fujimoto N, Adachi-Usami E. Citicoline Has a Protective Effect on Damaged Retinal Ganglion Cells in Mouse Culture Retina. *Neuroreport* 2002; 13:2109–11.
45. Davinelli S, Chiosi F, Di Marco R, Costagliola C, Scapagnini G. Cytoprotective Effects of Citicoline and Homotaurine against Glutamate and High Glucose Neurotoxicity in Primary Cultured Retinal Cells. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2017; 2017:2825703.
46. Hurtado O, Pradillo JM, Fernández-López D, Morales JR, Sobrino T, Castillo J, Alborch E, Moro MA, Lizasoain I. Delayed Post-Ischemic Administration of CDP-Choline Increases EAAT2 Association to Lipid Rafts and Affords Neuroprotection in Experimental Stroke. *Neurobiol. Dis.* 2008; 29:123–31.
47. Park CH, Kim YS, Noh HS, Cheon EW, Yang YA, Yoo JM, Choi WS, Cho GJ. Neuroprotective Effect of Citicoline against KA-Induced Neurotoxicity in the Rat Retina. *Exp. Eye Res.* 2005; 81:350–8.
48. Oshitari T, Yoshida-Hata N, Yamamoto S. Effect of neurotrophic factors on neuronal apoptosis and neurite regeneration in cultured rat retinas exposed to high glucose. *Brain Res.* 2010; 1346: 43–51.
49. Matteucci A, Gaddini L, Villa M, Varano M, Parravano M, Monteleone V, Cavallo F, Leo L, Mallozzi C, Malchiodi-Albedi F et al. Neuroprotection by Rat Müller Glia against High Glucose-Induced Neurodegeneration through a Mechanism Involving ERK1/2 Activation. *Exp. Eye Res.* 2014; 125:20–9.
50. Krupinski J, Slevin M, Badimon L. Citicoline Inhibits MAP Kinase Signalling Pathways after Focal Cerebral Ischaemia. *Neurochem. Res.* 2005; 30:1067–73.
51. Bogdanov P, Sampedro J, Solà-Adell C, Simó-Servat O, Russo C, Varela-Sende L, Simó R, Hernández C. Effects of Liposomal Formulation of Citicoline in Experimental Diabetes-Induced Retinal Neurodegeneration. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19:2458.
52. Maestroni S, Preziosa C, Capuano V, Spinello A, Zucchiatti I, Gabellini D, Lattanzio R, Bandello F, Zerbini G. In vivo Evaluation of Retinal and Choroidal Structure in a

- Mouse Model of Long-Lasting Diabetes. Effect of Topical Treatment with Citicoline. *J. Ocul. Dis. Ther.* 2015; 3:1–8.
53. Nusanti S, Sari RI, Siregar NC, Sidik M. The Effect of Citicoline on Ethambutol Optic Neuropathy: Histopathology and Immunohistochemistry Analysis of Retina Ganglion Cell Damage Level in Rat Model. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 2022; 38:584-9.
 54. Hurtado O, Hernández-Jiménez M, Zarruk JG, Cuartero MI, Ballesteros I, Camarero G, Moraga A, Pradillo JM, Moro MA, Lizasoain I. Citicoline (CDP-Choline) Increases Sirtuin1 Expression Concomitant to Neuroprotection in Experimental Stroke. *J. Neurochem.* 2013; 126:819–26.
 55. Goto Y, Okamoto S, Yonekawa Y, et al: Degradation of phospholipid molecular species during experimental cerebral ischemia in rats. *Stroke* 1988; 19:728-35.
 56. Hirashima Y, Moto A, Endo S, Takaku A: Activities of enzymes metabolizing phospholipids in rat cerebral ischemia. *Mol Chem Neuropathol.* 1989; 10:87-100.
 57. Cohen MM. Biochemistry of cerebral anoxia, hypoxia and ischemia. Monograph in Neural Sciences 1973;1:1-49.
 58. Mykita S, Golly F, Dreyfus H, Freysz L, Massarelli R. Effect of CDP-choline on hypocapnic neurons in culture. *J Neurochem.* 1986; 47:223-31.
 59. Bladergroen BA, Bussiere M, Klein W, et al: Inhibition of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine biosynthesis in rat-2 fibroblasts by cell-permeable ceramides. *Eur J Biochem.* 1999; 264:152-60.
 60. Rao AM, Hatcher JF, Dempsey RJ. Does CDP-choline modulate phospholipase activities after transient fore-brain ischemia? *Brain Res.* 2001; 893:268-72.
 61. Onal MZ, Tatlisumak T, Locke KW, Sandage BW, Fisher M. Synergistic effect of citicoline and MK-801 in temporary experimental focal ischemia in rats. *Stroke* 1997; 28:1060-65.
 62. Boismare F, Le Poncin M, Lefrancois J and Lecordier JC. Action of cytidinediphosphocholine on functional and hemodynamic effects of cerebral ischemia in cats. *Pharmacology* 1978; 17:15-24.
 63. Kakihana M, Fukuda N, Suno M and Nagaoka A. Effects of CDP choline on neurologic deficits and cerebral glucose metabolism in a rat model of cerebral ischemia. *Stroke* 1988; 19: 217-22.
 64. Krupinski J, Ferrer I, Barrachina M, Secades JJ, Mercadal J, Lozano R. CDP-Choline Reduces pro-Caspase and Cleaved Caspase-3 Expression, Nuclear DNA Fragmentation, and Specific PARP-Cleaved Products of Caspase Activation Following Middle Cerebral Artery Occlusion in the Rat. *Neuropharmacology* 2002; 42:846–54.
 65. Trovarelli G, de Medio GE, Dorman RV, Piccinin GL, Horrocks LA, Porcellati G. Effect of cytidine diphosphate choline (CDP-choline) on ischemia-induced alterations of brain lipid in the gerbil. *Neurochem. Res.* 1981; 6:821–33.
 66. Adibhatla RM, Hatcher JF. Citicoline Decreases Phospholipase A2 Stimulation and Hydroxyl Radical Generation in Transient Cerebral Ischemia. *J. Neurosci. Res.* 2003; 73:308–15.
 67. Giménez R, Aguilar J. Effects of CDP-Choline Administration on Brain Striatum Platelet-Activating Factor in Aging Rats. *Eur. J. Pharmacol.* 1998; 344:149–52.
 68. Paradies G, Paradies V, Ruggiero FM, Petrosillo G. Role of Cardiolipin in Mitochondrial Function and Dynamics in Health and Disease: Molecular and Pharmacological Aspects. *Cells* 2019; 8:728.
 69. Schuettauf F, Rejdak R, Thaler S, Bolz S, Lehaci C, Mankowska A, Zarnowski T, Junemann A, Zagorski Z,

78. Bonvicini M, Travaglini S, Lelli D, Antonelli Incalzi R, Pedone C. Is Citicoline Effective in Preventing and Slowing Down Dementia? A Systematic Review and a Meta-Analysis. *Nutrients*. 2023;15:386.
79. Cacabelos R, Caamano J, Gomez MJ, et al. Therapeutic effects of CDP-choline in Alzheimer disease. Cognition, brain mapping, cerebrovascular hemodynamics, and immune factors. *Ann N Y Acad Sci*. 1996; 777:399-403.
80. Que DS, Jamora RDG. Citicoline as Adjuvant Therapy in Parkinson's Disease: A Systematic Review. *Clin Ther*. 2021; 43:e19-e31.
81. Eberhardt R, Birbamer G, Gerstenbrand R, Rainer E, Traegner H. Citicoline in the treatment of Parkinson's disease. *Clin Ther*. 1990; 12:489-95.
82. Agnoli A, Ruggirei, Denaro A, Bruno G. New strategies in the management of Parkinson's Disease. *Clin Ther*. 2014; 36(11):1852-60.

- Therapeutic Potentialities: Cutting and Non-Cutting Edges. *Pharmacol. Ther.* 2020; 213:107579.
88. Glick D, Barth S, Macleod KF. Autophagy: cellular and molecular mechanisms. *J. Pathol.* 2010; 221:3–12.
 89. Livneh I, Cohen-Kaplan V, Cohen-Rosenzweig C, Avni N, Ciechanover A. The Life Cycle of the 26S Proteasome: From Birth, through Regulation and Function, and onto Its Death. *Cell Res.* 2016; 26:869–85.
 90. VerPlank JJS, Goldberg AL. Regulating Protein Breakdown through Proteasome Phosphorylation. *Biochem. J.* 2017; 474:3355–71.
 91. Brailoiu E, Chakraborty S, Brailoiu GC, Zhao P, Barr JL, Ilies MA, Unterwald EM, Abood ME, Taylor CW. Choline Is an Intracellular Messenger Linking Extracellular Stimuli to IP3-Evoked Ca²⁺ Signals through Sigma-1 Receptors. *Cell Rep.* 2019; 26:330–337.e4.
 92. Bucolo C, Campana G, Di Toro R, Cacciaguerra S, Spampinato S. Sigma1 recognition sites in rabbit iris-ciliary body: Topical sigma1-site agonists lower intraocular pressure. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1999; 289:1362–69.
 93. Bucolo C, Drago F, Lin LR, Reddy VN. Sigma receptor ligands protect human retinal cells against oxidative stress. *Neuroreport* 2006; 27:287–91.
 94. Sbardella D, Coletta A, Tundo GR, Ahmed IMM, Bellia F, Oddone F, Manni G, Coletta, M. Structural and Functional Evidence for Citicoline Binding and Modulation of 20S Proteasome Activity: Novel Insights into Its pro-Proteostatic Effect. *Biochem. Pharmacol.* 2020; 177:113977.
 95. Vernazza S, Passalacqua M, Tirendi S, Marengo B, Domenicotti C, Sbardella D, Oddone F, Bassi AM. Citicoline Eye Drops Protect Trabecular Meshwork Cells from Oxidative Stress Injury in a 3D In Vitro Glaucoma Model. *Int J Mol Sci.* 2022; 23:11375.
 96. Lopez Salon M, Pasquini L, Besio Moreno M, Pasquini JM, Soto E. Relationship between Beta-Amyloid Degradation and the 26S Proteasome in Neural Cells. *Exp. Neurol.* 2003; 180:131–43.
 97. Alvarez XA, Sampedro C, Lozano R, Cacabelos R. Citicoline Protects Hippocampal Neurons against Apoptosis Induced by Brain Beta-Amyloid Deposits plus Cerebral Hypoperfusion in Rats. *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.* 1999; 21:535–40.
 98. Tundo GR, Sbardella D, Ciaccio C, Grasso G, Gioia M, Coletta A, Polticelli F, Di Pierro D, Milardi D, Van Ender P. et al. Multiple Functions of Insulin-Degrading Enzyme: A Metabolic Crosslight? *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2017; 52:554–82.
 99. Sbardella D, Tundo GR, Coletta A, Marcoux J, Koufogeorgou EI, Ciaccio C, Santoro AM, Milardi D, Grasso G, Cozza P. et al. The Insulin-Degrading Enzyme Is an Allosteric Modulator of the 20S Proteasome and a Potential Competitor of the 19S. *Cell Mol. Life Sci. CMLS* 2018; 75:3441–56.
 100. Sbardella D, Tundo GR, Sciandra F, Bozzi M, Gioia M, Ciaccio C, Tarantino U, Brancaccio A, Coletta M, Marini S. Proteasome Activity Is Affected by Fluctuations in Insulin-Degrading Enzyme Distribution. *PLoS ONE* 2015; 10: e0132455.
 101. Skripuletz T, Manzel A, Gropengießer K, et al. Pivotal role of choline metabolites in remyelination. *Brain.* 2015; 138(Pt 2):398-413.
 102. O'Donnel M. *A sceptic's medical dictionary.* BMJ Books, London, 1997.
 103. Djulbergovic B, Guyatt G. Progress in evidence-based medicine: a quarter century on. *Lancet* 2017; 10092: 415-23.
 104. Parisi V. Neural conduction in the visual pathways in ocular hypertension and glaucoma. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol.*, 1997; 235:136-42.

105. Javaid S, Farooq T, Rehman Z, Afzal A, Ashraf W, Rasool MF, Alqahtani F, Alsanea S, Alasmari F, Alanazi MM, Alharbi M, Imran I. Dynamics of Choline-Containing Phospholipids in Traumatic Brain Injury and Associated Comorbidities. *Int J Mol Sci.* 2021; 22:11313
106. Secades JJ, Gareri P. Citicolina: pharmacological and clinical review, 2022 update. *Rev Neurol.* 2022; 75:S1-S89.
107. Parisi V, Oddone F, Ziccardi L, Roberti G, Coppola G, Manni G. Citicolina and Retinal Ganglion Cells: Effects on Morphology and Function. *Curr Neuropharmacol.* 2018; 16: 919-32.
108. Falsini B, Colotto A, Porciatti V, Porrello G. Follow-up study with pattern ERG in ocular hypertension and glaucoma patients under timolol maleate treatment. *Clin Vision Sci.* 1992 7:341-347.
109. Ventura L, Porciatti V. Restoration of retinal ganglion cell function in early glaucoma after intraocular pressure reduction. *Ophthalmology* 2005; 1:20-7.
110. Papst N, Bopp M, Schnaudigel OE. The pattern evoked electroretinogram associated with elevated intraocular pressure. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1984; 22:34-7.
111. Arden GB, O'Sullivan F. Longitudinal follow up of glaucoma suspects tested with pattern electroretinogram. *Bull Soc Belge Ophtalmol.* 1992; 244:147-54.
112. Neshet R, Trick GL, Kass MA, Gordon MO. Steady-state pattern electroretinogram following long term unilateral administration of timolol to ocular hypertensive subjects. *Doc Ophthalmol.* 1990; 75:101-9.
113. Colotto A, Salgarello T, Giudiceandrea A, et al. Pattern electroretinogram in treated ocular hypertension: a cross-sectional study after timolol maleate therapy. *Ophthalmic Res.* 1995; 27:168-77.
114. Chang EE, Goldberg JL. Glaucoma 2.0: neuroprotection, neuroregeneration, neuroenhancement. *Ophthalmology* 2012;119:979-86.
115. Parisi V, Manni GL, Colacino G, Bucci MG. Cytidine-5'-diphosphocholine (Citicolina) improves retinal and cortical responses in patients with glaucoma. *Ophthalmology* 1999; 106:1126-34.
116. Pecori Giraldi J, Virno M, Covelli GP, et al. Therapeutic value of citicolina in the treatment of glaucoma (Computerized and automatic perimetric investigation). *Int Ophthalmol.* 1989; 13:109-15.
117. Virno M, Pecori-Giraldi J, Liguori A, De Gregorio F. The protective effect of citicolina on the progression of the perimetric defects in glaucomatous patients (perimetric study with a 10-year follow-up). *Acta Ophthalmol Scand Suppl.* 2000; 232:56-7.
118. Bruce SE, Werner KB, Preston BF, Baker LM. Improvements in concentration, working memory and sustained attention following consumption of a natural citicolina-caffeine beverage. *Int J Food Sci Nutr.* 2014; 65:1003-7.
119. Fioravanti M, Yanagi M. Cytidinediphosphocholine (CDP-choline) for cognitive and behavioural disturbances associated with chronic cerebral disorders in the elderly. *Cochrane Database Syst Rev.* 2005; 8:CD000269.
120. Parisi V., Manni G.L., Colacino G., Gregori D., Bucci M.G. Citicolina improves the neural conduction in the visual pathways: an open study in glaucoma patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998; (Supp 39), S23.
121. Parisi V. Electrophysiological assessment of glaucomatous visual dysfunction during treatment with Cytidine-5'-diphosphocholine (citicolina): a study of 8 years of follow-up. *Doc Ophthalmol.* 2005;110:91-102
122. Agut J, Font E, Sacrist A, Ortiz J.A. Bioavailability of Methyl-14C CDP-Choline by Oral Route. *Arzneimittelforschung* 1983; 33:1045-47.

123. Roda A, Fini A, Grigolo B, Scapini G. Routes of administration and serum levels of [Methyl-14C]-Cytidine-Diphosphocholine. *Curr. Ther. Res.* 1983; 34:1049-53.
124. Rejdak R, Toczolowski J, Krukowski J, et al. Oral citicoline treatment improves visual pathway function in glaucoma. *Med. Sci. Monit.* 2003; 9: PI24-PI28.
125. Parisi V, Coppola G, Centofanti M, et al. Evidence of the neuroprotective role of citicoline in glaucoma patients. *Prog Brain Res.* 2008; 173:541-554.
126. Ottobelli L, Manni GL, Centofanti M, Iester M, Allevina F, Rossetti L. Citicoline oral solution in glaucoma: is there a role in slowing disease progression? *Ophthalmologica.* 2013; 229:219-26.
127. Morreale Bubella R, Carità S, Morreale Bubella D. Neuroprotezione del paziente con glaucoma cronico ad angolo aperto: ruolo della citicolina in soluzione orale. *Ottica Fisiopatologica* 2011; 16:171-7.
128. Lanza M, Gironi Carnevale UA, Mele L, Bifani Sconocchia M, Bartollino S, Costagliola C. Morphological and Functional Evaluation of Oral Citicoline Therapy in Chronic Open-Angle Glaucoma Patients: A Pilot Study with a 2-Year Follow-Up. *Front. Pharmacol.* 2019; 10:1117.
129. Rossetti L, Goni F, Montesano G, Stalmans I, Topouzis F, Romano D, Galantin E, Delgado-Gonzales N, Giammaria S, Coco G, Vandewalle E, Lemmens S, Giannoulis D, Pappas T, Manni G. The effect of citicoline oral solution on quality of life in patients with glaucoma: the results of an international, multicenter, randomized, placebo-controlled cross-over trial. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2023; 261:1659-68.
130. Hayreh SS, Zimmerman B. Visual field abnormalities in non-arteritic anterior ischemic optic neuropathy: their pattern and prevalence at initial examination. *Arch Ophthalmol.* 2005; 123: 1554-62.
131. Patel HR, Margo CE. Pathology of Ischemic Optic Neuropathy. *Arch Pathol Lab Med.* 2017; 141: 162-6.
132. Parisi V, Gallinaro G, Ziccardi L, Coppola G. Electrophysiological assessment of visual function in patients with non-arteritic ischaemic optic neuropathy. *Eur J Neurol.* 2008; 15(8): 839-45.
133. Sun MH, Liao YJ. Structure-Function Analysis of Nonarteritic Anterior Ischemic Optic Neuropathy and Age-Related Differences in Outcome. *J Neuroophthalmol.* 2017; 37: 258-64.
134. Wright Mayes E, Cole ED, Dang S, Novais EA, Vuong L, Mendoza-Santiesteban C, et al. Optical coherence tomography angiography in nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy. *J Neuroophthalmol.* 2017; 37: 358-64.
135. Balducci N, Morara M, Veronese C, Barboni P, Casadei NL, Savini G, et al. Optical coherence tomography angiography in acute arteritic and non-arteritic anterior ischemic optic neuropathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2017; 255: 2255-61.
136. Contreras I, Noval S, Rebolleda G, Muñoz-Negrete FJ. Follow-up of nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy with optical coherence tomography. *Ophthalmology.* 2007; 114: 2338-44.
137. Huang-Link YM, Al-Hawasi A, Lindehammar H. Acute optic neuritis: retinal ganglion cell loss precedes retinal nerve fiber thinning. *Neurol Sci.* 2015; 36: 617-20.
138. Khalilpour S, Lati S, Behnammanesh G, Majid AMSA, Majid ASA, Tamayol A. Ischemic optic neuropathy as a model of neurodegenerative disorder: A review of pathogenic mechanism of axonal degeneration and the role of neuroprotection. *J Neurol Sci.* 2017; 375: 430-41.
139. Barbano L, Ziccardi L, Parisi V. Correlations between visual morphological, functional and psychophysical changes in chronic non-arteritic ischemic optic neuropathy. *Graefes Arch Ophthalmol* 2021; 259:1297-1308

140. Parisi V, Barbano L, Di Renzo A, Coppola G, Ziccardi L. Neuroenhancement and neuroprotection by oral solution citicolina in nonarteritic ischemic optic neuropathy as a model of neurodegeneration: A randomized pilot study. *PLoS ONE* 2019; e0220435.
141. Roberti G, Tanga L, Parisi V, Sampalmieri M, Centofanti M, Manni G. A preliminary study of the neuroprotective role of citicolina eye drops in glaucomatous optic neuropathy. *Indian J. Ophthalmol.* 2014; 62:549–53.
142. Parisi V, Centofanti M, Ziccardi L, Tanga L, Michelesi M, Roberti G, Manni G. Treatment with citicolina eye drops enhances retinal function and neural conduction along the visual pathways in open angle glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2015; 253:1327–40.
143. Parisi V, Oddone F, Roberti G, Tanga L, Carnevale C, Ziccardi L, Manni G. Enhancement of Retinal Function and of Neural Conduction Along the Visual Pathway Induced by Treatment with Citicolina Eye Drops in Liposomal Formulation in Open Angle Glaucoma: A Pilot Electrofunctional Study. *Adv. Ther.* 2019; 36: 987–96.
144. Rossetti L, Lester M, Tranchina L, Ottobelli L, Coco G, Calcatelli E, Ancona C, Ciracci P, Manni G. Can Treatment With Citicolina Eyedrops Reduce Progression in Glaucoma? The Results of a Randomized Placebo-controlled Clinical Trial. *J. Glaucoma* 2020; 29: 513–20.
145. Antonetti DA, Barber AJ, Bronson SK, Freeman WM, Gardner TW, Jefferson LS, Kester M, Kimball R, Krady JK, LaNoue KF, et al. Diabetic retinopathy: Seeing beyond glucose-induced microvascular disease. *Diabetes* 2006; 55:2401–11.
146. Fletcher EL, Phipps JA, Ward MM, Puthussery T, Wilkinson-Berka JL. Neuronal and glial cell abnormality as predictors of progression of diabetic retinopathy. *Curr. Pharm. Des.* 2007; 13: 2699–712.
147. Das A, McGuire PG, Rangasamy S. Diabetic macular edema: Pathophysiology and novel therapeutic targets. *Ophthalmology* 2015; 122:1375–94.
148. Van de Lagemaat EE, de Groot LCPGM, van den Heuvel EGHM. Vitamin B12 in relation to oxidative stress: A systematic review. *Nutrients* 2019; 11:482.
149. Platania CBM, Giurdanella G, Di Paola L, Leggio GM, Drago F, Salomone S, Bucolo C. P2X7 receptor antagonism: Implications in diabetic retinopathy. *Biochem Pharmacol.* 2017; 138: 130–9.
150. Solini A, Novak I. Role of the P2X7 receptor in the pathogenesis of type 2 diabetes and its microvascular complications. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2019; 47:75–81.
151. Pavlou S, Augustine J, Cunning R, Harkin K, Stitt AW, Xu H, Chen M. Attenuating Diabetic Vascular and Neuronal Defects by Targeting P2rx7. *Int J Mol Sci.* 2019; 20:2101.
152. Fogagnolo P, Melardi E, Tranchina L, Rossetti L. Topical citicolina and vitamin B12 versus placebo in the treatment of diabetes-related corneal nerve damage: A randomized double-blind controlled trial. *BMC Ophthalmol.* 2020; 20:315.
153. Parravano M, Scarinci F, Parisi V, Giorno P, Giannini D, Oddone F, Varano M. Citicolina and Vitamin B(12) Eye Drops in Type 1 Diabetes: Results of a 3-year Pilot Study Evaluating Morpho-Functional Retinal Changes. *Adv. Ther.* 2020; 37:1646–63.
154. Parisi V, Ziccardi L, Barbano L, Giorno P, Varano M, Parravano M. Citicolina and Vitamin B12 Eye Drops in Type 1 Diabetes: Results of a 36-Month Pilot Study Evaluating Macular Electrophysiological Changes. *Adv Ther.* 2021; 38:3924–36
155. Parravano M, Ziccardi L, Borrelli E, Costanzo E, Frontoni S, Picconi F, Parisi V, Sacconi R, Di Renzo A, Varano M, Querques G. Outer retina dysfunction and choriocapillaris impairment in type 1 diabetes. *Scientific Reports* 2021; 11:15183.

156. Oddone F, Rossetti L, Parravano M, Sbardella D, Colletta M, Ziccardi L, Roberti G, Carnevale C, Romano D, Manni G, Parisi V. Citicoline in Ophthalmological Neurodegenerative Disease: A Comprehensive Review. *Pharmaceuticals* 2021; 14: 281.
157. Parisi V, Scarale ME, Balducci N, Fresina M, Campos EC. Electrophysiological detection of delayed post-retinal neural conduction in human amblyopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010; 51:5041-48.
158. Fresina M, Dickmann A, Salerni A, De Gregorio F, Campos EC. Effect of oral CDP-choline on visual function in young amblyopic patients. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2008; 246:143-50.
159. Porciatti V, Schiavi C, Benedetti P, Baldi A, Campos EC. Cytidine-5'-diphosphocholine improves visual acuity, contrast sensitivity and visually evoked potentials of amblyopic subjects. *Curr Eye Res.* 1998; 17:141-48.
160. Gottlob I, Stangler-Zuschrott E. Effect of levodopa on contrast sensitivity and scotomas in human amblyopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1990; 31:776-80.
161. Gottlob I, Charlier J, Reinecke RD. Visual acuities and scotomas after one week levodopa administration in human amblyopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1992; 33:2722-8.
162. Leguire LE, Rogers GL, Bremer DL, Walson PD, McGregor ML. Levodopa/carbidopa for childhood amblyopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1993; 34:3090-5
163. Roberti G, Tanga L, Michelessi M, Quaranta L, Parisi V, Manni G, Oddone F. Cytidine 5'-Diphosphocholine (Citicoline) in Glaucoma: Rationale of Its Use, Current Evidence and Future Perspectives. *Int J Mol Sci.* 2015; 16:28401-17.

Comitato Scientifico Editoriale

BASSETTI M.
DI BIAGIO A.
FERRARA P.

MARZETTI A.
PACE F.
SCAGLIONE F.

VAIRA D.
VERALDI S.

FARMACI

AGGIORNAMENTO CONTINUO PER LA PRATICA CLINICA

Direttore Responsabile: Antonio Guastella

©2023 MEDIZIONI S.r.l. - Cod. 13/23
Via Monte delle Gioie, 13 - 00199 Roma
Tel. 06.31050390 - 06.31050602
medizioni@medizioni.it - medizioni@ohspe.it

Vol. 22 - n. 3/2023 - settembre-dicembre
Reg. Trib. di Roma n. 238 del 23/5/2002
Periodicità quadrimestrale

Tutti i diritti sono riservati. Nessuna parte può essere riprodotta in alcun modo (comprese fotocopie),
senza il permesso scritto dell'editore.

Stampa: GESCOM S.p.A. Strada Teverina km 7 (via pian di Giorgio 27/29)
Loc. Acquarossa - 01100 Viterbo - Italia

Finito di stampare nel mese di dicembre 2023

