

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
DIPARTIMENTO DI FISICA E ASTRONOMIA “GALILEO GALILEI”

Corso di Laurea in Ottica e Optometria



TESI DI LAUREA

FOTOTOSSICITÀ RETINICA.
EFFICACIA PROTETTIVA DEI DISPOSITIVI
OFTALMICI PER LA PREVENZIONE DEI DANNI
CAUSATI DALLE RADIAZIONI LUMINOSE

Relatore:
Prof. MIRKO CHINELLATO

Correlatore:
Dott. RUDY SALVI

Laureando:
GIANMARCO REVERENNA
1149898

ANNO ACCADEMICO 2018-2019

Light is the source of life and the origin of decay

Indice

Abstract	1
Capitolo 1	3
La luce	3
1.1 Cenni storici	3
1.2 Lo spettro elettromagnetico	5
1.3 Propagazione della luce all'interno dell'occhio.....	7
1.4 Fototrasduzione del segnale luminoso in segnale nervoso	10
Capitolo 2	12
Danni alla retina provocati dalla luce	12
2.1 Tipologie di danno	12
2.2 Danni all'epitelio pigmentato retinico	17
2.3 Danni ai fotorecettori	21
2.4 Danni provocati dalla lipofuscina e invecchiamento cellulare.....	24
2.5 Danni provocati dagli strumenti oftalmici	27
Capitolo 3	29
Meccanismi di protezione	29
3.1 Pigmenti maculari	29
3.2 Antiossidanti endogeni.....	33
Capitolo 4	37
Dispositivi oftalmici per la prevenzione dei danni	37
4.1 Lenti oftalmiche	38
4.2 Lenti a contatto	42
4.3 Lenti intraoculari.....	46
Conclusioni	50
Bibliografia	51

ELENCO DEGLI ACRONIMI

A2E	N-retinilidene-AT-retiniletanolamina
ACGIH	<i>American Conference of Governmental Industrial Hygienists</i>
ANSI	<i>American National Standards Institute</i>
ATP	Adenosin-trifosfato
CAT	Catalasi
CFL	Lampade a fluorescenza, dall'inglese <i>Compact Fluorescent Lamp</i>
CIE	Commissione Internazionale per l'Illuminazione
DHA	Acido docosaesaenoico, comunemente chiamato acido cervonico
DMS	Degenerazione maculare senile
EPR	Epitelio pigmentato retinico
FDA	<i>U.S. Food and Drug Administration</i>
GDP	Guanosin-difosfato
GMPc	Guanosin-monofosfato ciclico
GSH	Glutazione
GSSH	Glutazione ossidato
GTP	Guanosin-trifosfato
IOL	Lenti intraoculari, dall'inglese <i>Intraocular Lense</i>
IR	Infrarosso
ISO	<i>International Organisation for Standardization</i>
L	Luteina
LAC	Lenti a contatto
LED	Diodo ad emissione di luce, dall'inglese <i>Light Emitting Diode</i>
PDE	Fosfodiesterasi
PUFA	Acidi grassi polinsaturi, dall'inglese <i>Polyunsaturated Fatty Acids</i>
ROS	Specie reattive dell'ossigeno, dall'inglese <i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	Superossido dismutasi
UV	Ultravioletto
VEGF	Fattore di crescita dell'endotelio vascolare
Z	Zeaxantina

Abstract

Lo scopo di tale elaborato è quello di argomentare i rischi e i danni retinici provocati dalle radiazioni luminose – nello specifico le radiazioni con lunghezza d'onda corta – e i meccanismi che l'organismo attua per la prevenzione o il risanamento dei tessuti. Successivamente, vengono analizzati svariati dispositivi oftalmici in modo tale da valutare l'efficacia di filtraggio di queste onde e la conseguente protezione offerta.

Questa tesi si presenta come una *review* scientifica. Sono stati analizzati e sintetizzati diversi studi presenti nella letteratura e nelle banche dati scientifiche online, i cui risultati sono stati riportati nello scritto. I diversi articoli, i quali sono stati convalidati da parte di ulteriori studi, sono stati considerati per l'elaborazione della seguente tesi.

La ricerca dimostra come queste radiazioni luminose siano effettivamente in grado di generare alterazioni fisiologiche nei vari tessuti retinici. I meccanismi chimici e fisiologici specifici non vengono trattati in maniera approfondita, vengono però chiarite e commentate le conseguenze di tali processi.

I vari dispositivi oftalmici analizzati sono in grado di ridurre la trasmissione di queste onde all'interno dell'occhio, tuttavia gli studi scientifici che dimostrano la loro efficacia clinica sono limitati.

Capitolo 1

La luce

1.1 Cenni storici

Da sempre l'uomo si è interrogato su che cosa fosse la luce, quale fosse la definizione di questo fenomeno.

Platone, filosofo greco del III secolo a.C., all'interrogativo "Cos'è la luce?" avanzò una teoria secondo la quale l'occhio possiede un fuoco al suo interno che non brucia, ma produce un fascio che illumina qualsiasi oggetto che si incrocia con lo sguardo. La vista però si genera quando la luce interiore emanata dall'occhio incrocia quella naturale, esterna, formando un unico corpo omogeneo capace di realizzare un legame tra gli oggetti esterni e l'anima.

Il maggiore tra i teorici di ottica antica fu Tolomeo che, nel II secolo d.C., dopo aver analizzato le precedenti ipotesi di Euclide sulla luce, dedusse che la visione fosse dovuta all'azione di un flusso conico emesso dall'occhio. Per quanto oggi possa sembrare strano, questo concetto dominò l'occidente per quasi due millenni (Calisi, 2015).

Il XVII secolo fu un'era di teorie controverse riguardo alla natura della luce. Infatti, in questo periodo erano affiorati due diversi pensieri: Isaac Newton nel trattato *Opticks* dimostrò che la diffrazione è un fenomeno che avviene solamente se la luce viene considerata come un flusso di *corpuscoli*. Inoltre, questa concezione spiega in modo più approfondito perché la luce si propaga in linea retta, il motivo del perché la luce viene riflessa con un angolo di riflessione uguale all'angolo di incidenza e per quale motivo e in che modo la luce venga rifratta da una superficie limitante due mezzi diversi, come ad esempio aria ed acqua. L'altra teoria era quella sostenuta da Christian Huyghens secondo la quale la luce avrebbe una natura ondulatoria. Egli infatti nel 1670, all'interno del suo *Traité de la Lumière* arguì che i fenomeni di riflessione e rifrazione potessero trovare spiegazione nonostante la luce venisse considerata come un'onda. Inoltre, questa concezione era in grado di giustificare l'evento della doppia rifrazione, ovvero lo sdoppiamento del raggio incidente in due raggi rifratti.

Questo pensiero però non fu immediatamente compreso in quanto, per le conoscenze dell'epoca, non era in grado di dimostrare come fosse possibile la diffrazione. Solamente nel XIX secolo la natura ondulatoria della luce venne accettata, a seguito degli esperimenti di Thomas Young e Augustin Fresnel. Le esperienze di Young infatti permisero di misurare la lunghezza d'onda della luce mentre Fresnel scoprì che la propagazione della luce e i fenomeni di diffrazione potevano essere risolti considerando le onde con lunghezza d'onda corta.

Il successivo passo nella teoria della luce si deve a James Clerk Maxwell. Nel 1873 egli dimostrò che un circuito elettrico oscillante poteva irradiare onde elettromagnetiche. La velocità di queste onde risultò inoltre essere pari alla velocità della luce, ossia corrispondente a 3×10^8 m/sec. Da questa deduzione, nella metà del XIX secolo, egli formulò le equazioni universali dell'elettricità e del magnetismo, le quali permettevano di considerare la luce come un'onda elettromagnetica.

I successivi esperimenti di Heinrich Hertz, finalizzati a generare onde con piccola lunghezza d'onda attraverso un circuito oscillante, convalidarono la natura elettromagnetica della luce: le onde emesse possedevano tutte le proprietà fisiche delle onde luminose. La teoria ondulatoria era finalmente comprovata. Tuttavia, in alcuni casi la luce si comportava come un flusso di *particelle*, come per esempio nell'effetto fotoelettrico, il quale consiste nell'emissione di elettroni da parte di un conduttore colpito da onde luminose. Nel 1905 Einstein, grazie anche al pensiero avanzato da Planck, postulò che l'energia di un'onda elettromagnetica è concentrata in piccoli pacchetti energetici, o *fotoni*. Un singolo *fotone* possiede un'energia Q_v direttamente proporzionale alla frequenza dell'onda:

$$Q_v = h \times f$$

dove h è conosciuta come "Costante di Planck" e f come frequenza.

La teoria ondulatoria tuttavia non fu abbandonata in quanto un *fotone* possedeva comunque una frequenza, caratteristica fondamentale di un'onda, e la sua energia era dipendente da essa. Ciò permise quindi di accettare il concetto di *dualità* ondulatoria e particellare.

1.2 Lo spettro elettromagnetico

La luce è definita come “ente fisico al quale è dovuta l’eccitazione nell’occhio delle sensazioni visive, cioè la possibilità, da parte dell’occhio, di vedere gli oggetti” (Treccani). È quindi un fenomeno che riguarda tutti, quotidianamente, e ci permette di percepire il mondo che ci circonda, le forme e i colori. È doveroso però attuare un’importante considerazione quando si parla di luce: non tutta la luce emessa da una sorgente può stimolare l’occhio.

Un’onda elettromagnetica possiede tre caratteristiche fisiche: frequenza (f), lunghezza d’onda (λ) e velocità di propagazione (v). La frequenza è il numero di cicli della forma d’onda attuati in un secondo, la lunghezza d’onda è la distanza tra due creste o due ventri dell’onda mentre la velocità di propagazione è il tasso di cambiamento della posizione dell’onda in funzione del tempo (Walker, 2012). Frequenza e lunghezza d’onda sono caratteristiche univoche per l’onda considerata, mentre la velocità di propagazione nel vuoto è uguale per tutte le onde elettromagnetiche. Se il mezzo di propagazione che si considera non è il vuoto ma ad esempio l’aria o il vetro, la velocità dell’onda cambia in relazione alla sua lunghezza d’onda e ciò consente di definire il coefficiente n o indice di rifrazione di un mezzo come:

$$n = \frac{c}{v}$$

ovvero come il rapporto tra la velocità della luce nel vuoto (c) e la velocità della luce nel mezzo (v).

La frequenza e la lunghezza d’onda sono grandezze inversamente proporzionali, all’aumentare di una l’altra diminuisce in modo da rispettare la relazione $v = f \times \lambda$. Ciò significa che l’indice di rifrazione di un mezzo è dipendente dall’onda che si considera. Quindi, un fascio di luce policromatica, ovvero contenente diverse lunghezze d’onda, che attraversa un prisma, viene diviso nelle sue componenti in quanto ogni singola onda che si propaga nel mezzo avrà una velocità diversa e quindi anche un diverso cammino. L’insieme di tutte le possibili frequenze che l’onda elettromagnetica può avere è detto spettro elettromagnetico.

Come è stato accennato in precedenza, solo una sezione limitata di questo spettro è in grado di stimolare il nostro occhio ed è chiamata *spettro visibile*. La CIE, ovvero

la Commissione Internazionale per l'illuminazione, definisce *radiazione visibile* una “qualsiasi radiazione ottica in grado di causare direttamente una sensazione visuale”. Inoltre, precisa che non esiste un limite preciso per lo *spettro visibile*: esso, infatti, dipende dalla quantità di energia incidente la retina e dalla risposta dell'osservatore. Convenzionalmente si considera il limite minimo tra i 360 e 400 nm per il colore viola e il limite massimo tra 760 e 830 nm per il colore rosso (Figura 1).

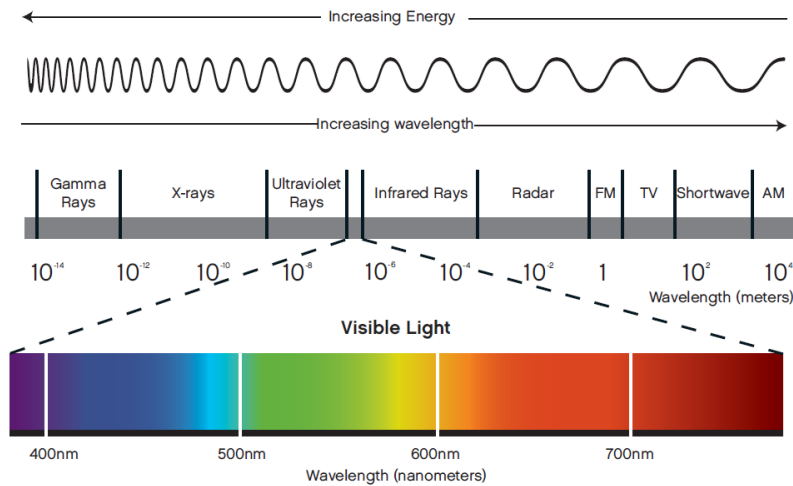


Figura 1: Spettro elettromagnetico e banda del visibile. (Morgan, 2017)

Al di fuori della banda del visibile esistono altre zone che l'occhio non può apprezzare. Le radiazioni con lunghezza d'onda che va dai 10 nm fino ai 380 nm sono denominate luce ultravioletta o UV. La luce UV viene ulteriormente suddivisa in NUV o ultravioletto vicino ($300 \leq \lambda < 400$ nm), UVA ($315 \leq \lambda < 400$ nm), UVB ($280 \leq \lambda < 315$ nm), UVC ($100 \leq \lambda < 280$ nm) e VUV o ultravioletto da vuoto ($10 \leq \lambda < 200$ nm) (ISO 21348). Tutti gli oggetti molto caldi sono in grado di emettere radiazioni ultraviolette, ma la maggior fonte di queste onde è il sole. La luce che esso emana è infatti costituita dal 10% di luce UV per una intensità di circa 140 W/m² nel vuoto (Khale et al, 2003).

Le radiazioni con lunghezza d'onda inferiore ai 10 nm vengono suddivise in raggi X e raggi gamma. I raggi X sono compresi tra 0,001 nm e 10 nm e sono radiazioni altamente perforanti. Essi vengono catalogati come raggi X molli ($\lambda > 0,1$ nm) oppure raggi X duri ($\lambda < 0,1$ nm). Sono onde generate da particelle cariche, come gli elettroni, quando sono accelerate da una elevata differenza di potenziale e urtano

contro la materia. Il loro principale utilizzo è per fini medici in quanto sono in grado di penetrare i tessuti molli e permettono l'analisi delle ossa del corpo.

I raggi gamma, invece, sono radiazioni elettromagnetiche prodotte dal decadimento radioattivo del nucleo di un atomo. Essi sono altamente dannosi per il corpo umano in quanto sono le onde che posseggono la più alta quantità di energia.

Oltre la banda del rosso invece, è presente la luce infrarossa. Ogni oggetto reale è in grado di emettere radiazioni infrarosse.

Circa il 50% delle radiazioni emesse dal sole nel vuoto sono raggi infrarossi, con una intensità totale di circa 700 W/m^2 (Khale et al, 2003). Della luce che arriva alla Terra invece, il 53% sono radiazioni infrarosse, costituendo così la maggior parte delle onde luminose sulla Terra.

Non esiste uno *standard* preciso per la suddivisione in bande, perciò questo spettro viene suddiviso a seconda dell'ambito in cui lo si considera. La ISO lo ripartisce in IRA ($760 \leq \lambda < 1.400 \text{ nm}$), IRB ($1.400 \leq \lambda < 3.000 \text{ nm}$) e IRC ($3.000 \text{ nm} \leq \lambda < 1.000.000 \text{ nm}$) (ISO 21348).

Tali radiazioni sono utilizzate negli strumenti per la visione notturna e sono ampiamente sfruttate da alcuni animali notturni, la cui visione si basa sulla percezione di queste onde. Dato che la produzione di queste radiazioni dipende dalla temperatura di un oggetto, i serpenti, ad esempio, sfruttano queste onde per individuare le prede a sangue caldo grazie ad alcuni recettori posti sotto gli occhi.

1.3 Propagazione della luce all'interno dell'occhio

L'atmosfera blocca circa il 77% dei raggi UV provenienti dal sole quando è nel punto di Zenit. L'incremento dell'assorbimento delle radiazioni UV è inversamente proporzionale alla loro lunghezza d'onda. La luce incidente sulla Terra è composta dal 42-45% di luce IR, dal 50-52% di luce visibile e solo dal 5-6% di luce UV (Sowa et al., 2013). Di queste, la maggior parte sono radiazioni UVA e in minima parte UVB. Le onde UVC vengono totalmente filtrate e assorbite dall'ossigeno dell'atmosfera, provocando così la generazione dell'ozono (Kerr, Fioletov, 2008). L'anatomia dell'occhio è progettata per far convergere i raggi luminosi provenienti dall'esterno sulla retina. Ciò concentra la luce, e quindi l'energia luminosa che essa trasporta, in una zona ristretta della retina. Per questo motivo, una quantità di luce che non sarebbe dannosa alla pelle, può invece causare danni all'occhio.

L'assorbimento e la dispersione della luce da parte dei tessuti oculari dipendono dalla lunghezza d'onda delle radiazioni. Le proprietà ottiche dei mezzi oculari giocano un ruolo importante nell'esposizione della retina alla luce.

La cornea trasmette dai 300 nm ai 2500 nm (Figura 2a), con l'80% di trasmittanza corrispondente ai 380 nm e il 90% di trasmittanza dai 500 nm ai 1300 nm (Boettner, Wolter, 1962). L'umor acqueo trasmette le radiazioni UV da 220 nm fino a 2400 nm, nella banda appartenente agli infrarossi (Figura 2b). La sua trasmittanza inizia a diminuire a 980, 1.200, 1.430 e 1.950 nm a causa dell'assorbimento da parte dell'acqua, fino ad arrivare ad una trasmissione dello 0,1% a circa 2.200 nm e ad una completa assorbanza a 2.400 nm. Non si notano differenze di trasmittanza legate all'età (Boettner, Wolter, 1962).

Il cristallino assorbe la maggior parte delle onde UVB e quasi tutte le UVA (Figura 2c, 3). Nei giovani però, questo meccanismo di filtraggio da parte del cristallino è meno efficiente rispetto a quello dei più anziani. Il cristallino di soggetti giovani ed in salute infatti ha un alto livello di trasparenza per le radiazioni ottiche con lunghezza d'onda corta. Il cristallino durante l'infanzia infatti risulta essere parzialmente trasparente per le onde con lunghezza d'onda oltre i 300 nm con un picco coincidente ai 360 nm, dopo il quale la trasmittanza si riduce fino ai 390 nm (Boettner, Wolter, 1962). Con l'avanzare degli anni si instaura un progressivo incremento della capacità di assorbimento del cristallino per la banda del blu dovuta al cambiamento di colore. Ciò è attribuibile all'ossidazione delle proteine contenute in questa struttura (Mellerio, 1994). Il cristallino ingiallisce sempre di più con l'età e questa pigmentazione agisce da barriera contro la propagazione della luce blu e delle onde più corte all'interno dell'occhio. Questo cambiamento fisiologico è associato alla diminuzione della visione scotopica nei soggetti anziani. In un soggetto di 53 anni, la visione scotopica diminuisce di circa il 33% rispetto all'infanzia, mentre a 75 anni si è ridotta di circa il 75%. Viceversa, la protezione fornita dal cristallino dalla luce blu e dalle radiazioni UV è aumentata approssimativamente del 90% (Algvere, Marshall, Seregard, 2006).

L'umor vitreo trasmette dai 300 nm ai 1400 nm con l'80% di trasmissione corrispondente a 350 nm e una totale trasmittanza in tutta la regione del visibile (Boettner, Wolter, 1962) (Figura 2d).

Dato che il cristallino è in grado di filtrare la maggior parte delle onde ultraviolette e in parte la luce blu, l'estrazione del cristallino affetto da cataratta provoca un

notevole incremento di radiazioni con lunghezza d'onda corta in grado di raggiungere la retina. Infatti, nei soggetti afachici, privi del cristallino, è presente una totale trasmissione di luce blu e di una porzione di UVA (Algere, Marshall, Seregard, 2006).

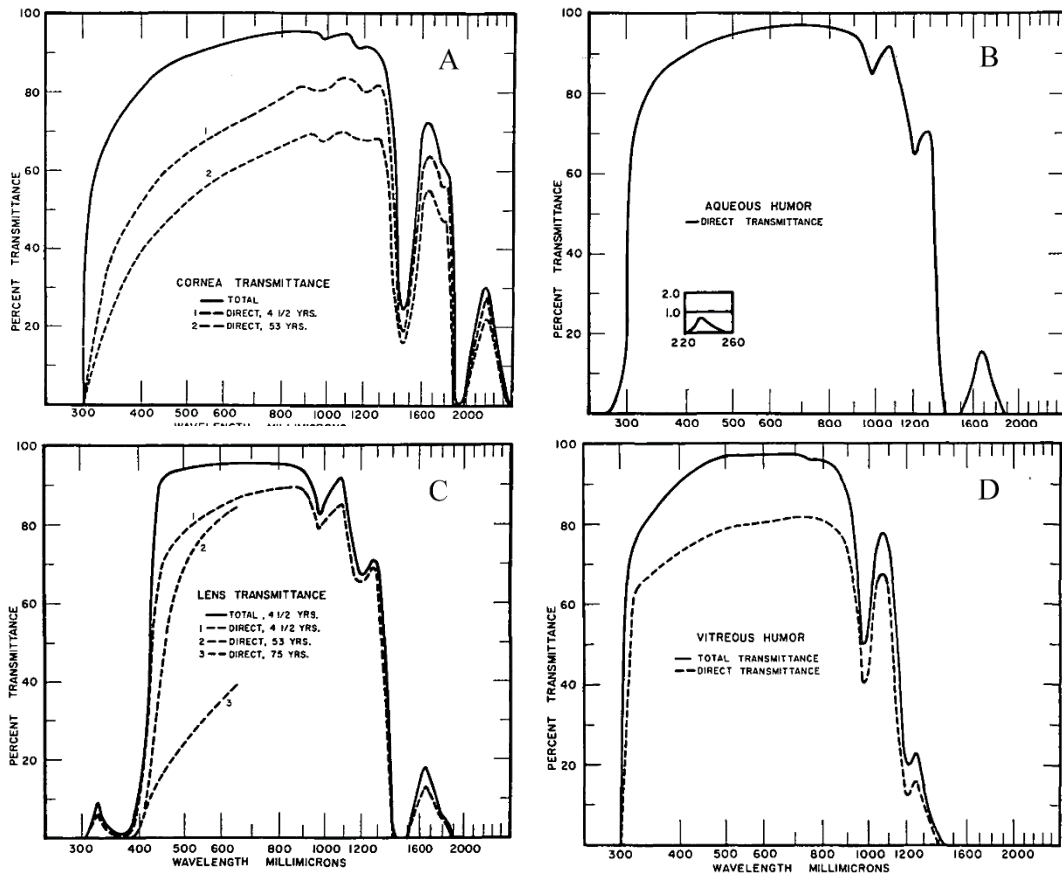


Figura 2: Grafici che analizzano la trasmittanza dei vari mezzi oculari per le diverse radiazioni. Nelle ascisse è presente la lunghezza d'onda delle radiazioni, nelle ordinate la percentuale di trasmittanza del mezzo. (Elaborazione dell'autore, immagini di Boettner, Wolter, 1962)

A: cornea B: umore acqueo C: cristallino D: umor vitreo

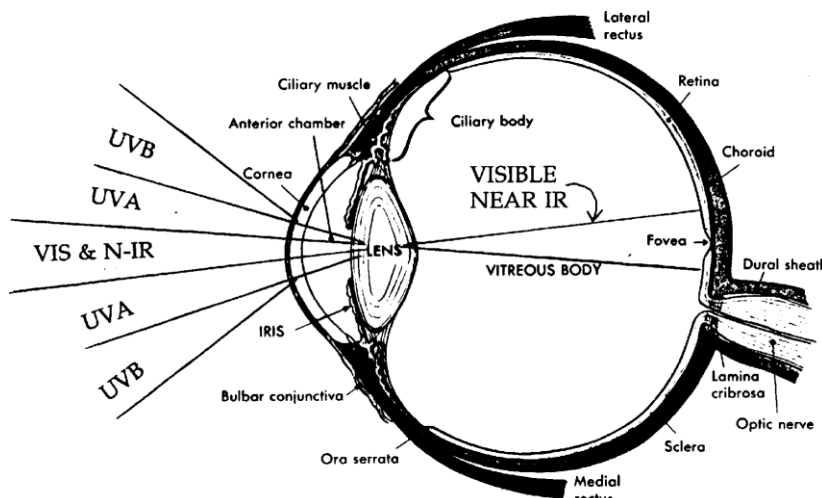


Figura 3: schema raffigurante le principali strutture anatomiche dell'occhio e le diverse proprietà di assorbimento dei mezzi. (Glickman, 2002)

1.4 Fototrasduzione del segnale luminoso in segnale nervoso

La fototrasduzione è il meccanismo endogeno che permette di trasformare il segnale luminoso in segnale elettrico. Esso si verifica nel segmento esterno dei fotorecettori, coni e bastoncelli. Dato che il numero dei bastoncelli è circa 20 volte maggiore rispetto a quello dei coni (Bucci, 1999), per semplicità verrà considerato il processo di fototrasduzione che si verifica all'interno di questi.

La membrana dei bastoncelli è costituita da un doppio strato di fosfolipidi al cui interno sono presenti dischi lamellari lipoproteici circondati da una membrana cellulare (Bucci, 1999). Nella membrana di questi dischi è presente la rodopsina, ovvero una proteina avente 7 domini transmembrana, formata dal cromoforo retinale e dalla proteina opsina. Il retinale è un'aldeide della vitamina A, il quale viene assorbito a livello intestinale in forma di retinolo e immagazzinato nel fegato. Successivamente, il retinolo viene trasportato alla retina attraverso una proteina in grado di legarlo, chiamata *retinol-binding protein*.

Quando non è presente luce, la rodopsina è inattivata dal retinale. Esso infatti possiede due possibili isomeri, ovvero conformazioni spaziali diverse: può esistere come 11-cis retinale o tutto-trans retinale. Al buio, l'opsina lega la molecola 11-cis retinale il quale rende inattiva la molecola di rodopsina.

L'assorbimento di un fotone di luce provoca l'isomerizzazione del cromoforo alla seconda configurazione, tutto-trans retinale, il quale agisce come un agonista dell'opsina. Il legame con il tutto-trans retinale, infatti, innesca una modificazione conformazionale dell'opsina ad uno stato attivato denominato *metarodopsina II*.

La variazione di forma dell'opsina provoca il distacco del retinale entro pochi minuti, il quale viene trasportato alle cellule dell'epitelio pigmentato retinico e ridotto in tutto-trans retinolo. Questo processo è detto *sbiancamento* del pigmento visivo. Il tutto trans-trans retinolo, precursore dell'11-cis retinale, viene successivamente riconvertito e trasportato nuovamente ai bastoncelli, pronto per attuare un nuovo ciclo visivo.

Il complesso *metarodopsina II* diffonde all'interno della membrana del disco, dove incontra la transducina, ovvero una proteina G. Come in altri tipi di questa proteina, la transducina inattiva lega una molecola di GDP (guanosindifosfato). L'interazione con la *metarodopsina II* promuove lo scambio del GDP con il GTP, attivando così la transducina. Questo evento provoca la dissociazione della transducina in tre

subunità: la subunità α attiva, a cui è legato il GTP, e le subunità β e γ . La rodopsina attivata, che non è stata in alcun modo alterata dall'interazione con la trasducina, continua a circolare e diffondere per attivare altre proteine G ed amplificare il segnale.

Il complesso G_{α} -GTP si lega ad una fosfodiesterasi dei nucleotidi ciclici (PDE), una proteina enzimatica che idrolizza il GMPc in 5'-GMP. Il legame tra il PDE e due complessi G_{α} -GTP comporta l'attivazione totale dell'enzima che, di conseguenza, aumenta la velocità di idrolisi.

In assenza di luce, esiste un equilibrio ferreo tra la sintesi del GMPc da parte della guanilato ciclasi e la sua idrolisi da parte del PDE. In questo modo la concentrazione di GMPc nel citoplasma è finemente regolata. In risposta alla luce invece, la PDE idrolizza fino a 1.000 molecole di GMPc al secondo e la sua concentrazione diminuisce esponenzialmente (Kandel et al., 2014).

Il GMPc, in grado di legarsi ai canali di membrana GMPc-dipendenti, ne controlla l'apertura e la chiusura, regolando quindi anche l'entrata e l'uscita degli elettroliti. Al buio, la concentrazione di GMPc è elevata, i canali di membrana sono aperti ed una notevole quantità di Na^{+} entra nel citoplasma per mantenere la depolarizzazione (circa -40 mV) della cellula e la costante liberazione di glutammato. Al contrario, la riduzione della concentrazione di GMPc prodotta dall'assorbimento di un fotone determina la chiusura dei canali. Il sodio non è più in grado di attraversare la membrana e la cellula si iperpolarizza. L'iperpolarizzazione inibisce la liberazione del glutammato dando inizio al segnale nervoso. Il ciclo della fototrasduzione è rappresentato in Figura 4a.

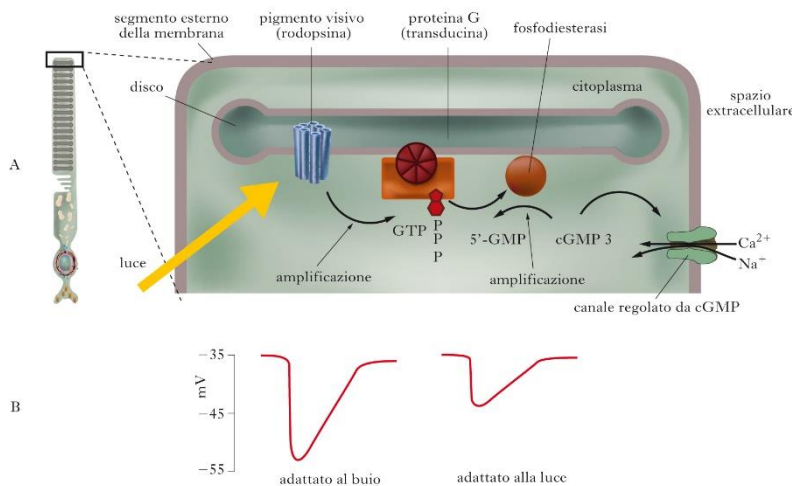


Figura 4:
A) Meccanismo d'azione della fototrasduzione.
B) Grafico della polarizzazione della membrana del fotorecettore in condizioni di luce e buio.
(Treccani)

Capitolo 2

Danni alla retina provocati dalla luce

I danni oculari causati dalla luce sono stati da sempre origine di grande dibattito. Dato che l'energia trasportata dalla radiazione luminosa è inversamente proporzionale alla sua lunghezza d'onda, la luce UV e le cosiddette onde corte, ovvero la luce visibile sul viola e sul blu, sono la maggior fonte di danno. Come è stato detto precedentemente, solo una minima parte della luce UV riesce a passare gli strati della cornea e il cristallino per arrivare alla retina. È però importante considerare i danni che le radiazioni ultraviolette provocano per la gestione dei soggetti afachici, pseudofachici (operati di cataratta) e dei ragazzi. Nei primi due casi infatti il meccanismo di filtraggio dato dai mezzi oculari non risulta essere integro, mentre nell'infanzia il cristallino deve ancora maturare e quindi una maggior quantità di raggi UV raggiunge la retina (Boettner, Wolter, 1962). Per quanto riguarda la luce blu invece, la valutazione dei danni è di rilevata importanza in quanto non esistono barriere biologiche in grado di filtrarla. Anche se questa banda della luce visibile è fondamentale per la visione e discriminazione dei colori, è necessario dedicarle attenzione quando l'esposizione ad essa è prolungata o intensa. Da questo punto di vista, l'occhio rappresenta un paradosso: esso si è evoluto per rispondere alla luce ma è fortemente suscettibile ai danni che essa provoca, e contiene strutture altamente ossigenate che la rendono sensibile ai danni ossidativi.

2.1 Tipologie di danno

Esistono tre tipologie di danno con le quali le radiazioni luminose risultano essere nocive alla retina:

1. Danno meccanico: causato dall'esposizione estremamente breve ad un fascio di luce ad elevata intensità. Questa tipologia di danno è causata dai laser, i quali proiettano un'ingente quantità di energia in un tempo molto più corto rispetto a quello richiesto per prevenire l'espansione termoelastica dei

tessuti colpiti. La fotodistruzione dei tessuti deriva dall'azione di forze meccaniche di compressione o trazione (Jacques et al., 1992). Le forze di trazione producono delle piccole bolle di vapore che implodono (fenomeno denominato *cavitazione*) provocando danni letali all'epitelio retinico pigmentato e alle altre cellule (Lin e Kelly, 1997; Brinkmann et al., 2000; Leszczynski et al., 2001). In oftalmologia, alcuni laser vengono utilizzati per produrre buchi o tagli precisi, soprattutto nel segmento anteriore dell'occhio. Impulsi laser sono raramente usati per la chirurgia del segmento posteriore perché il rischio dei danni collaterali alla retina è troppo elevato.

2. Danno termico: avviene quando l'energia propagata dalle radiazioni luminose viene intrappolata o assorbita in un substrato molecolare con conseguente innalzamento significativo della temperatura locale di almeno 10°C (Mainster et al., 1983). Quando la temperatura raggiunge questa soglia, i danni sono solitamente irreversibili e si sviluppano lentamente, dipendentemente dalla durata dell'esposizione. Maggiore è la temperatura raggiunta, più velocemente si riscontrano i danni quali denaturazione proteica, perdita della struttura terziaria delle macromolecole o la fluidificazione delle membrane cellulari (Thomsen, 1991). Questi meccanismi spesso sono sufficienti per causare morte cellulare ritardata. Quando l'incremento di temperatura raggiunge i 100°C avviene l'ebollizione e l'evaporazione dell'acqua contenuta nei tessuti, con conseguente morte cellulare.

La *fotocoagulazione* è un meccanismo attraverso il quale l'incremento di temperatura supera la soglia di danno irreversibile ma non quella di evaporazione. Essa è spesso utilizzata nella pratica clinica oftalmologica per trattare condizioni retiniche patologiche o traumatiche come ad esempio la retinopatia diabetica e il distacco di retina. I laser che vengono utilizzati emettono un fascio di radiazioni luminose con lunghezza d'onda del visibile o dell'infrarosso vicino ad un'irradiazione di 110 W/cm². Aumentando l'irradiazione a circa 1000 W/cm², l'acqua e gli organelli cellulari raggiungono il punto di ebollizione ed evaporano istantaneamente; questo processo è detto *fotoablazione* ed è utilizzato in chirurgia per incidere e simultaneamente cauterizzare i tessuti (Thomsen, 1991).

3. Danno chimico: meccanismo attraverso il quale l'assorbimento di fotoni da parte di alcune sostanze provoca la degradazione della loro struttura chimica. Queste sostanze fotosensibilizzanti, ovvero i cromofori, vengono eccitati dall'energia luminosa ad uno stato di singoletto per poi subire una transizione allo stato terzetto grazie al meccanismo di incrocio intersistema. A differenza dello stato singoletto, lo stato terzetto ha una vita media molto lunga ed è in grado di avere interazioni con altre molecole in due meccanismi differenti: attraverso il trasferimento di elettroni (o ioni di idrogeno) formando radicali liberi (tipo I) oppure attraverso il trasferimento dell'energia di eccitazione dai cromofori all'ossigeno producendo ossigeno singoletto (tipo II). I radicali liberi (tipo I) possono reagire con un substrato o con l'ossigeno per creare reazioni di perossidi, generando una cascata di reazioni in grado di auto-propagarsi. L'ossigeno singoletto (tipo II) invece può reagire con i lipidi per produrre perossidi senza l'utilizzo di radicali, oppure può reagire con altri substrati per formare radicali liberi molto reattivi. (Girotti, 1990; Girotti, 2001). Le reazioni che si producono sono illustrate in Figura 5.

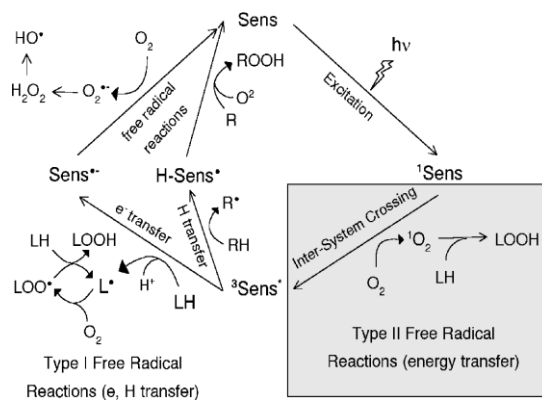


Figura 5: Schema dei meccanismi di fotosensibilizzazione di tipo I e tipo II. Le reazioni di tipo I implicano il trasferimento di un elettrone o un protone (H^+) dal fotosensibilizzatore eccitato (raffigurato come "Sens" in figura) ad un substrato. Nelle reazioni di tipo II invece avviene una transizione di energia dal sensibilizzatore direttamente ad una molecola di ossigeno generando un ossigeno singoletto. Entrambe le reazioni necessitano di ossigeno. (Girotti, 1990)

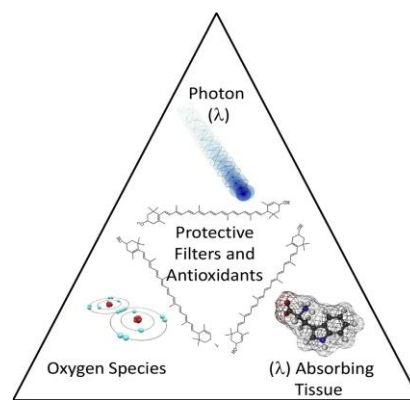


Figura 6: Triangolo della fotossidazione. Agli angoli si trovano i fattori necessari per scatenare le reazioni ossidative. (Hammond, Johnson, George, 2014)

Il "triangolo di fuoco" della fotodegradazione (Figura 6) consiste nell'esposizione alle radiazioni luminose con specifiche lunghezze d'onda e nella presenza di cromofori e di ossigeno. Questa combinazione di fattori,

associata all'assenza di una sufficiente risposta antiossidante, provoca l'inizio della fotodegradazione ossidativa. L'energia delle radiazioni, il tempo di esposizione e la tipologia di cromoforo determinano il grado di ossidazione.

La fotodegradazione è un processo autossidativo, ovvero i prodotti generati dall'assorbimento della luce provocano a loro volta una catena di reazioni ossidative. Questo meccanismo è spesso suddiviso in tre fasi: inizio, propagazione e termine. L'inizio coincide con l'assorbimento dell'energia luminosa da parte dei cromofori (come la rodopsina o la lipofuscina) provocando la formazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS), scissioni di catene molecolari, estrazione di protoni e anche la formazione di radicali liberi, perossidi e gruppi carbonili, in grado di generare una reazione a catena (propagazione) (Khan, Wilson, 1995; Winslow, 1977). Il termine della catena reattiva sussiste nell'azione degli antiossidanti che "spengono" le reazioni intervenendo sui radicali liberi delle reazioni intermedie o inibendo le reazioni ossidative facendo ossidare se stessi. Solo alcune cellule retiniche sono suscettibili ai danni provocati dalle radiazioni luminose. Le cellule retiniche degli strati interni come cellule di Müller, ganglionari, amacrine e bipolari, le quali sono per lo più trasparenti, non sono direttamente coinvolte nel meccanismo fototossico. La retina è uno dei tessuti con maggior attività metabolica presente nell'organismo (Adijanto et al., 2013) ed è perciò particolarmente suscettibile al danno ossidativo. Questa eccezionale vulnerabilità è data da 4 fattori (Gaillard et al., 2011; Hunter et al., 2012; Margrain et al., 2004):

1. Coni e bastoncelli sono ricchi di acidi grassi polinsaturi (PUFA) come l'acido docosaesaenoico (DHA), Omega 3 e Omega 6, i quali contengono numerosi doppi legami. Uno dei due legami è più debole dell'altro ed è facilmente attaccabile dalle molecole reattive. Essi tendono quindi ad ossidarsi facilmente formando idroperossidi;
2. Il flusso sanguigno che irrorla la coroide e arriva alla retina non è regolato efficacemente, soprattutto nell'infanzia (Hardy et al., 1994) e nella senilità (Groh et al., 1996). Questo fattore è di fondamentale importanza in quanto aumenta notevolmente la

sensibilità al danno ossidativo: la retina infatti utilizza un alto quantitativo di ossigeno, fondamentale nel metabolismo delle cellule per la produzione dell'energia necessaria al loro mantenimento. L'elevato apporto di ossigeno in entrata rende perciò la retina un forte bersaglio delle reazioni ossidative;

3. Nella retina si accumulano con il tempo un elevato numero di sostanze fotosensibilizzanti, ovvero sostanze in grado di aumentare la sensibilità alla luce delle strutture adiacenti, come la lipofuscina (Margrain et al., 2004);
4. La retina è quasi sempre esposta alle radiazioni luminose, soprattutto alla luce blu, le quali spesso sono di elevata intensità.

In condizioni di normalità, i danni meccanici e danni termici non si verificano mentre è possibile che avvengano i danni di tipo chimico.

Esistono due tipologie di danno fotochimico, differentemente dalla durata dell'esposizione e dalla lunghezza d'onda delle radiazioni luminose. La classe di danno di tipo I è quella provocata da una ridotta intensità di luce ($< 1 \text{ mW/cm}^2$) e una lunga durata di esposizione (diverse ore o alcune settimane) alla luce bianca. Fu scoperta da Noell e colleghi (Noell et al., 1966) nel 1966 attraverso un esperimento eseguito su ratti albini. Essi notarono che lo spettro di emissione delle radiazioni luminose dannose coincideva con lo spettro di assorbimento della rodopsina e della visione scotopica. Questa fototossicità si presentava soprattutto nei fotorecettori, provocandone la degenerazione. L'ipotesi che i danni provocati dalla luce fossero mediati dai pigmenti visivi è supportata anche da esperimenti eseguiti sulle scimmie, animali diurni diversamente dai topi, nei quali l'esposizione a diverse radiazioni con varie lunghezze d'onda provocava lo sbiancamento in una particolare classe di fotorecettori. I risultati mostrano quindi che i danni sono altamente selettivi per la classe di recettori capaci di assorbire quella radiazione. Inoltre, è dimostrato come i coni blu vengono degenerati permanentemente mentre quelli verdi solo temporaneamente (Sperling, Johnson, Harwerth, 1980).

La classe di danno di tipo II è stata ipotizzata da Ham e colleghi (Ham et al., 1978), i quali mostrarono che i danni retinici aumentano più la lunghezza d'onda si accorcia. Questi danni sono provocati da una ridotta esposizione alla luce (minuti o qualche ora) di elevata intensità ($> 10 \text{ mW/cm}^2$) e sono indipendenti dallo spettro

di assorbimento della rodopsina. Questo fenomeno è chiamato *blue light hazard* o “rischio da luce blu” ed ha il picco di eccitazione a circa 440 nm, coincidente appunto con la banda visibile di luce blu. L’esperimento di Ham et al. sui primati dimostrò che i danni erano localizzati principalmente nell’EPR e la loro gravità dipendeva dalla tensione dell’ossigeno e dalla quantità di antiossidanti presenti.

2.2 Danni all’epitelio pigmentato retinico

L’epitelio pigmentato retinico ha un ruolo fondamentale nel mantenimento delle funzioni della retina. Esso trasporta i nutrienti essenziali per il metabolismo come l’omega 3, glucosio e il retinolo ai fotorecettori e produce e secerne diversi fattori di crescita necessari per costruire e mantenere la coroide e i fotorecettori, come il fattore di crescita dell’endotelio vascolare (VEGF). Inoltre, acqua, ioni e i prodotti del metabolismo sono trasportati dalla retina ai vasi coroidali attraverso l’EPR (Bhutto, Luty, 2016; Strauss, 2005). Data la sua funzione di regolazione dei movimenti in entrata ed uscita, l’epitelio pigmentato retinico forma la barriera ematoretinica esterna (Forrester, Xu, 2012). Di conseguenza la degenerazione delle cellule dell’EPR provocherebbe la morte dei fotorecettori adiacenti.

Anatomicamente, l’epitelio pigmentato retinico è posto tra la retina sensoriale e la coroide ed è lo strato più esterno della retina. La sua localizzazione rende le sue cellule maggiormente esposte ad un ambiente ossidativo dato dall’elevata tensione dell’ossigeno proveniente dai coriocapillari sottostanti e dall’ingente quantità di attività metaboliche attuate dalla retina. Fisiologicamente, le sue cellule hanno il compito di fagocitare e digerire i segmenti esterni dei fotorecettori, i quali contengono più del 60% di PUFA. Ogni cellula dell’EPR è in contatto con 8-10 fotorecettori ed ogni fotorecettore perde dai 20 ai 30 dei suoi segmenti esterni giornalmente. Una sola cellula dell’EPR fagocita ogni giorno più di 2000 dischi (Young, 1967). La sola funzione di fagocitosi procura all’EPR un ingente carico di stress ossidativo che provoca la generazione endogena di ROS come superossidi (O_2^-) (Dorey et al., 1989; Jin et al., 2001) e perossido di idrogeno (H_2O_2) (Tate et al., 1995). Il tasso di danno è inoltre provocato dalla presenza di retinale nei fotorecettori. Questo retinoide infatti, è in grado di ossidare i PUFA innescando una reazione a catena attraverso la produzione di un’abbondante quantità di ROS

(Esterbauer et al., 1991; Srivastava et al., 1995). L'acidificazione dei fagosomi dovuta alla costante digestione dei segmenti esterni dei fotorecettori innalza il livello di danno ossidativo in quanto genera ulteriori anioni perossido.

È stato notato che i mitocondri contenuti nell'epitelio pigmentato retinico avessero un ruolo fondamentale nella produzione dello stress ossidativo (Jarret et al., 2008; Liang et al., 2003). Jarrett et al. (Jarret et al., 2008) e Liang et al. (Liang et al., 2003) infatti, sostengono che i mitocondri rappresentano la maggior sorgente endogena di ROS nei fotorecettori e nel sottostante strato dell'EPR. Ciò è dovuto al fatto che nei mitocondri avviene la catena respiratoria, ovvero quell'insieme di reazioni che permettono la creazione delle molecole di ATP. In questa cascata di reazioni gli elettroni attraversano la membrana interna dei mitocondri fino a reagire con l'ossigeno formando H₂O (Sadava et al., 2011). Un esperimento pubblicato dall'*American Society for Photobiology* condotto da King e colleghi (King et al., 2004) su una coltura di cellule ARPE-19 dell'epitelio pigmentato retinico, dimostra come l'esposizione alla luce blu induca la produzione di ROS attraverso l'interazione con i citocromi. I citocromi sono delle proteine che prendono parte in diverse fasi della catena respiratoria; essi sono dei vettori di elettroni che permettono la produzione di ATP nei mitocondri. Grazie alla presenza del gruppo *eme* al loro interno, essi fungono da cromofori e permettono l'assorbimento delle radiazioni luminose. Successivamente all'utilizzo di sostanze inibitorie (rotenone e MitoQ) di alcune reazioni della catena respiratoria, King e i suoi collaboratori notarono che la quantità di ROS si riduceva significativamente, indicando come i mitocondri possano essere la fonte di queste sostanze tossiche. Inoltre, l'esposizione per 5 minuti alle radiazioni luminose con lunghezza d'onda di 425 nm provocava la morte delle cellule in coltura. Per verificare che i danni cellulari fossero causati dalla relazione luce-citocromo, nuove cellule vennero trattate con MitoQ e illuminate con le stesse onde e nello stesso periodo di tempo. Dopo 24 ore dall'esposizione, queste cellule non subirono sostanziali cambiamenti morfologici, mentre le cellule precedentemente esposte e non trattate mostrarono un rimpicciolimento con parziale distaccamento dal terreno di coltura. Le membrane plasmatiche dei nuclei avevano perso la loro integrità e di conseguenza andarono incontro a morte cellulare per apoptosi. Sembra infatti che i mitocondri abbiano un ruolo nel segnale di apoptosi. L'irregolare funzione dei mitocondri provoca un

innalzamento della concentrazione di calcio nel citoplasma cellulare il quale è un importante messaggero nella regolazione dell'apoptosi delle cellule.

È stato dimostrato come i ROS e il risultante stress ossidativo giochi un ruolo fondamentale nell'apoptosi (Kannan, Jain, 2000). L'apoptosi è un meccanismo di morte cellulare programmata, geneticamente ben regolato. In condizioni di normalità contribuisce nell'eliminazione delle cellule per mantenere costante il loro numero, è essenziale per l'omeostasi dei tessuti e il loro sviluppo nell'organismo (Kerr, Wyllie, Currie, 1972). Le cellule che muoiono per apoptosi sono riconoscibili perché si rimpiccioliscono, perdendo fino al 50% del loro volume, e diventano sferiche, il loro citoplasma e la cromatina del nucleo vengono condensate ed il nucleo frammentato. Successivamente, la cellula si rompe formando piccole vescicole dette corpi apoptotici, i quali vengono riconosciuti dai fagociti circostanti ed inglobati. Diversi studi dimostrano come l'esposizione della retina alla luce, e soprattutto dell'epitelio pigmentato retinico, possa scatenare il meccanismo di apoptosi (Hafezi et al. 1997; Seko et al. 2001).

Nakamura et al. (Nakamura et al., 2018) dimostrarono inoltre come l'esposizione di 3 ore per 3 giorni consecutivi alla luce blu (456 nm e 1100 lux) provocasse la degenerazione dell'ERP nei topi. Dopo 3 giorni dall'esposizione alla luce, erano presenti accumuli di materiale bianco nella retina dei topi e materiale extracellulare si era depositato nelle giunzioni tra segmento interno ed esterno dei fotorecettori. Questo materiale era costituito da perossidi degli acidi grassi e detriti cellulari contenenti macrofagi. La presenza dei perossidi suggerì il fatto che questa sostanza era simile a *drusen*, una sostanza presente nella degenerazione maculare senile non essudativa. I macrofagi sono fagociti mononucleari e la loro funzione è quella di eliminare le cellule apoptiche e i corpi estranei (Rabinovitch, 1995). Tuttavia, un'eccessiva attività dei macrofagi può danneggiare la retina attraverso la secrezione delle citochine facendo scatenare un evento infiammatorio che porterebbe alla distruzione del tessuto (Jiao et al., 1995; Cruz-Guilloty et al., 2013). L'accumulo di questo materiale potrebbe essere causato dall'esposizione alla luce blu emessa dai LED e l'azione di rimozione dei macrofagi potrebbe essere la ragione per cui sono presenti frammenti cellulari di questi fagociti. Inoltre, l'EPR era più sottile intorno al nervo ottico successivamente all'esposizione di luce blu. L'assottigliamento sembrerebbe essere causato dalla sua degenerazione. I microvilli dell'epitelio pigmentato retinico avvolgono il segmento distale dei

fotorecettori per fagocitarlo. La luce blu potrebbe aver provocato un'eccessiva perdita dei segmenti esterni dei fotorecettori e la degenerazione dell'EPR, aggravata dal fatto che i ROS sono in grado di deprimere le funzioni lisosomiali delle cellule epiteliali (Algvere et al., 2006), potrebbe aver indotto l'impedimento della fagocitosi e quindi alla non digestione dei dischi. Il materiale non digerito si sarebbe accumulato nello spazio subretinale provocando l'infiltrazione dei macrofagi e generando del materiale simile a *drusen*.

Per ridurre e riparare i danni distruttivi provocati dai ROS, le cellule hanno sviluppato dei meccanismi antiossidanti di tipo enzimatico, come la superossido dismutasi, la catalasi, l'eme ossigenasi e la fosfolipasi, e non enzimatico, come la vitamina A, C ed E. Questo sistema sarebbe di per sé in grado di combattere gli effetti tossici dei ROS, tuttavia il suo funzionamento non è sempre perfetto e l'accumulo quotidiano dei danni provoca non solo disturbi legati all'età, quali la degenerazione maculare senile (DMS) o la cataratta, bensì anche l'invecchiamento del sistema di difesa (Barja, 2002). Il tasso con cui i danni generati dai ROS si accumulano aumenta sempre di più con il tempo poiché le difese cellulari perdono di efficienza (Boulton et al., 2001). Per questo motivo l'EPR è particolarmente vulnerabile alla nocività dei ROS; la quantità di melanina, necessaria per la protezione dalla dispersione della luce all'interno dell'occhio e per il suo comportamento antiossidante, presente al suo interno diminuisce con il passare degli anni ed aumenta invece l'incremento della formazione di lipofuscina (Figura 7). Essa oltre a generare un elevato quantitativo di ROS ha anche un effetto inibitorio sull'azione degli antiossidanti (Shamsi, Boulton, 2001).

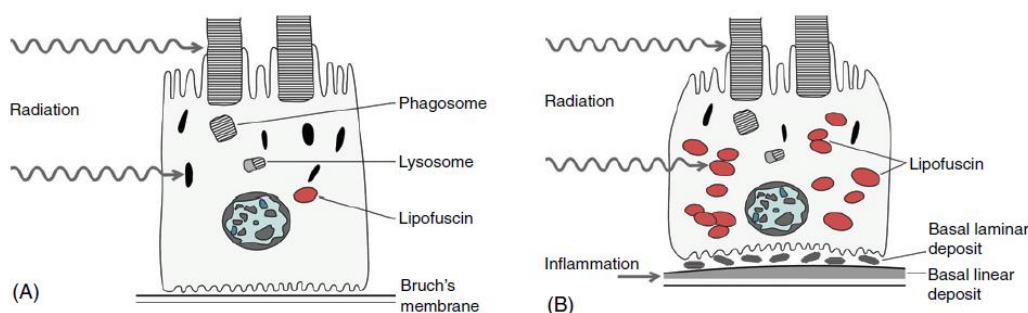


Figura 7: Rappresentazione figurativa dell'invecchiamento cellulare nell'EPR. A) In risposta alle radiazioni, i segmenti esterni dei fotorecettori sono soggetti alla perossidazione dei PUFA, i loro dischi vengono fagocitati dall'EPR e digeriti dai lisosomi. I residui molecolari sono in grado di formare lipofuscina. B) Con l'avanzare degli anni, la quantità di lipofuscina nell'EPR aumenta considerevolmente, provocando una maggior vulnerabilità delle cellule di questo tessuto. Alcuni di questi prodotti che non vengono digeriti possono uscire dall'EPR e depositarsi nello spazio extracellulare e sulla membrana di Bruch, scatenando una risposta infiammatoria secondaria. (Algvere, Marshall, Seregard, 2006)

2.3 Danni ai fotorecettori

È stato inequivocabilmente dimostrato che la tossicità della luce blu sia mediata dal suo assorbimento da parte della rodopsina. Infatti, l'esposizione alla luce scatena il meccanismo di apoptosi nei fotorecettori. Per dimostrare ciò, Grimm et al. (Grimm et al., 2000b) utilizzarono dei topi mutati del gene RPE65 ($RPE65^{-/-}$). Questo gene codifica la sintesi della proteina RPE65, essenziale nella rigenerazione della rodopsina durante il meccanismo di trasduzione del segnale luminoso. L'assenza di questa proteina provoca il blocco del ciclo visivo a causa della mancata re-isomerizzazione della molecola tutto-trans retinolo, e di conseguenza anche della rigenerazione della rodopsina dopo lo sbiancamento. L'esposizione di topi selvatici ad una luce bianca molto intensa è risultata in una rottura di entrambi i segmenti (interno ed esterno) dei bastoncelli, condensazione della cromatina e perdita delle cellule dello strato nucleare esterno della retina. Dopo 7 giorni dall'esposizione la maggior parte dei recettori risultavano essere morti per apoptosi o degenerati. Nei topi mutanti invece, la retina non subiva nessun tipo di danno e la sua morfologia era simile a quella del gruppo di controllo. Analogamente, anche i ratti mutati ($Rho^{-/-}$) incapaci di sintetizzare la proteina opsina risultavano protetti dalla fototossicità. È importante sottolineare il fatto che nei campioni considerati non era compromesso il sistema di apoptosi, bensì veniva inattivato il meccanismo che lo stimola. I danni provocati dalla luce aumentano l'attività del fattore di trascrizione AP-1, una molecola necessaria per lo stimolo dell'apoptosi (Hafezi et al., 1997). In entrambe le specie mutate l'attività di questo fattore era ridotta al minimo dimostrando come la rodopsina fosse il meccanismo principale attraverso cui la luce provoca la degenerazione dei fotorecettori (Grimm et al., 2000b).

Ovviamente non è sufficiente un singolo ciclo di sbiancamento della rodopsina per generare la morte dei fotorecettori, bensì è necessario un assorbimento ripetuto e continuo di fotoni. Rapp e Smith (Rapp, Smith, 1992) dimostrarono che le radiazioni luminose con lunghezza d'onda corta provocassero un danno molto più consistente (50-80 volte maggiore) rispetto a quelli provocati dalla luce verde. In un esperimento su ratti, 30 minuti di esposizione di luce blu a bassa intensità (403 nm, 33 mW/cm²) risultava nella produzione di vescicole nei segmenti esterni dei fotorecettori mentre 10 minuti della stessa luce con maggiore intensità produceva una seria degenerazione della retina. Lo stesso esperimento fu eseguito con la luce

verde (550 nm) che però non mostrò nessun tipo di nocività alla retina, anche ad un livello di energia pari a 47 mW/cm². Grimm et al. (Grimm et al., 2000a) spiegarono che questa dipendenza dalla lunghezza d'onda è implicita nel meccanismo di fotodegradazione della rodopsina. Quando una molecola di rodopsina assorbe un fotone, si scatenano una serie di reazioni chimiche che portano alla dissociazione di molecole e alla formazione dei suoi prodotti. Alcune fasi di questo ciclo sono però reversibili. Se la rodopsina necessita l'assorbimento di luce per sbiancarsi, l'assorbimento da parte di uno dei suoi prodotti invece comporta la rigenerazione della rodopsina senza attuare il processo di sbiancamento. Dato che le molecole pre-lumirodopsina, lumirodopsina e metarodopsina contengono il cromoforo tutto-trans, un assorbimento di fotoni provocherebbe la re-isomerizzazione da trans a cis, evitando il meccanismo della fototrasduzione (Hubbard, Kropf, 1958). Il periodo in cui questa reversibilità è attuabile è circa 1 ms, ovvero il tempo necessario dall'eccitazione della rodopsina per la formazione della metarodopsina II (Hagins, 1955). Se un fascio di luce di durata inferiore ad 1 ms colpisce la rodopsina, essa non viene sbiancata bensì si rigenera una molecola di rodopsina. Questo meccanismo è detto fotoinversione della rodopsina (Williams, 1964). Come la rodopsina, anche i suoi prodotti hanno il picco di assorbimento coincidente con la banda della luce blu. Per questo motivo la luce verde non genera danni. Le radiazioni con lunghezza d'onda maggiore sbiancano completamente le molecole di rodopsina per cui non sono più presenti cromofori in grado di generare fototossicità. Le radiazioni blu invece possono provocare la rigenerazione della rodopsina, aumentando il numero di fotoni assorbiti e di conseguenza il livello di danno.

In realtà i danni causati dalla luce ai fotorecettori non sono attuati direttamente dalla rodopsina, bensì da un suo prodotto, ovvero il tutto-trans retinale, il quale è uno dei più abbondanti fotosensibilizzatori nella retina (Delmelle, 1978). Il suo accumulo nel segmento esterno dei fotorecettori li pone a grande rischio di danni fotochimici da luce blu. Infatti, la fotoeccitazione da parte delle radiazioni con lunghezza d'onda corta (anche luce UV) provoca il meccanismo di incrocio intersistema attraverso il quale il retinale viene trasferito ad uno stato tripletto. L'energia dello stato tripletto è sufficientemente alta da essere trasferita all'ossigeno molecolare (O₂) eccitandolo a ossigeno singoletto. Inoltre, la fotoeccitazione del retinale genera ROS come gli anioni superossido (O₂⁻) (Dillon et al., 1996). Entrambi questi prodotti sono in

grado di produrre danni ossidativi alle cellule (Foote, 1981). L'ossigeno singoletto attacca i PUFA contenuti nei fotorecettori formando idroperossidi ($-O_2H$) dei lipidi e provocando l'ossidazione degli amminoacidi. A loro volta, gli idroperossidi possono agire come ossidanti iniziando reazioni a catena di perossidazione lipidica (Bielski, Cabelli, Arudi, 1985). Gli anioni superossido invece vengono ridotti a perossido di idrogeno (H_2O_2) il quale può provocare l'ossidazione di ioni metalli come il ferro o il rame, generando radicali idrossile ($\cdot OH$) e ioni idrossile (OH^-) attraverso la reazione di Fenton. I radicali idrossile sono molecole estremamente instabili che tendono a reagire con quasi tutte le molecole ma soprattutto con i lipidi polinsaturi provocando reazioni a catena di perossidazione.

Hao et al. (Hao et al., 2002) evidenziarono come la luce fosse in grado di portare alla degenerazione dei bastoncelli attraverso due meccanismi differenti di apoptosi, i quali dipendono dall'intensità luminosa. La prima via è quella precedentemente citata in questo paragrafo, e consiste nell'aumento dell'attività del fattore di trascrizione AP-1 successiva all'esposizione ad una luce con elevata intensità. Questa proteina attivatrice regola le espressioni geniche in risposta a vari stimoli (citochine, fattori di crescita, stress, ecc.) e controlla i processi cellulari di differenziazione, proliferazione e apoptosi. Questa via non è direttamente collegata al meccanismo d'azione della trasduzione luminosa bensì ai danni che essa provoca. Il consistente stress ossidativo generato dalla luce induce l'attivazione di questa proteina provocando l'apoptosi dei fotorecettori (Ameyar, Wisniewska, Weitzman, 2003). La seconda tipologia di apoptosi invece è transducina-dipendente ed è causata da una bassa luminosità. È stato dimostrato infatti come l'assenza di questa proteina necessaria nella trasduzione sopprimesse il meccanismo di apoptosi: in sua assenza la retina esposta alla luce manteneva un'ottima morfologia mentre in sua presenza veniva causata una severa degenerazione dei fotorecettori (Hao et al. 2002). Ciò è causato dal fatto che la prolungata attivazione della rodopsina comporta un'eccessiva fototrasduzione, e di conseguenza i prodotti intermedi della rodopsina si possono accumulare e, agendo da fotosensibilizzatori, causare danni cellulari.

A differenza dei bastoncelli, i coni sembrano essere in grado di sopravvivere per un prolungato periodo di esposizione alla luce (Cicerone, 1976). La loro morte infatti è secondaria alla degenerazione dei bastoncelli. Le tossine rilasciate dalla perdita dei bastoncelli (Mohand-Said et al., 1998), la mancanza di un supporto meccanico

(Leveillard et al., 2004) e l'esposizione ad elevati livelli di ossigeno (Stone et al., 1999), aumentato dall'assenza dei bastoncelli, sono implicati della morte dei coni. Un esperimento (Geiger et al., 2015) eseguito su topi aventi la retina formata solamente da coni ha confermato questa ipotesi. I coni infatti sono molto più resistenti alla luce blu rispetto ai bastoncelli. La degenerazione dei coni era accompagnata alla comparsa di cellule della microglia, cellule della difesa immunitaria, nell'area danneggiata, alla formazione di edema ed inoltre ad una severa e localizzata risposta infiammatoria. Inoltre, la fagocitosi da parte dell'EPR dei coni risultava molto meno tossica e nociva rispetto a quella dei bastoncelli, dimostrando come la maggior parte dei danni retinici causati dalla luce fosse provocata dai bastoncelli.

2.4 Danni provocati dalla lipofuscina e invecchiamento cellulare

La lipofuscina, denominata anche pigmento dell'invecchiamento, consiste in un accumulo di granuli di materiale non degradabile attraverso i meccanismi di lisi endogeni. Essa si accumula nelle cellule dell'epitelio pigmentato retinico ed è formata da lipidi e proteine provenienti dalla digestione incompleta dei segmenti esterni dei fotorecettori. La successiva ossidazione dei detriti modifica le molecole, rendendole non degradabili dall'organismo. L'accumulo di lipofuscina è associato con l'invecchiamento cellulare e la diminuzione dell'attività enzimatica sistemica. È quindi considerabile un *marker* biologico della decadenza retinica (Schütt et al., 2002). La densità di lipofuscina nella retina è maggiore nella regione della parafovea, e decresce nel centro della fovea e nella periferia retinica (Delori et al. 2001).

La lipofuscina causa numerosi danni alle funzioni cellulari. Essa contiene sostanze in grado di inibire la degradazione lisosomiale (Eldred 1998) ed è fotoreattiva; infatti genera ROS quando è colpita da raggi luminosi (Boulton et al. 1993), risultando essere fototossica anche per le cellule dell'EPR (Davies et al. 2001). È in grado inoltre di inibire l'azione dell'enzima catalasi (detossificante, azione di riduzione dei ROS) sensibilizzando le cellule ed aumentando così l'entità di danno (Wassel et al., 1999). Ciò è evitabile introducendo antiossidanti nei tessuti, a

dimostrazione del fatto che la tossicità della lipofuscina è causata dai meccanismi di fotossidazione (Shamsi, Boulton, 2001).

Lo stress ossidativo, generato dalla fotoeccitazione della lipofuscina, può giocare un ruolo fondamentale nella fototossicità dell'EPR. È stato dimostrato come la lipofuscina contribuisca alla suscettibilità delle cellule ai danni della fotossidazione data dall'invecchiamento (Rózanowska et al., 1995). L'esposizione alle radiazioni con lunghezza d'onda corta, in presenza di ossigeno, stimola la lipofuscina alla produzione di ROS come anioni superossidi, perossidi di idrogeno, idroperossidi di lipidi e ossigeno singoletto (Rózanowska et al., 1995; Boulton et al, 1993).

L'invecchiamento dell'organismo aumenta il rischio di dei danni provocato dallo stress ossidativo in quanto si accumula molta più lipofuscina durante la senilità ed inoltre aumenta anche la sua fotoreattività in ambienti aerobi. La lipofuscina presente in un donatore di 80 anni infatti è in grado di generare molti più ROS (come anioni superossido) rispetto a quella di una persona di 40 anni (Rózanowska et al., 2004). Uno studio su cellule in vitro ha dimostrato gli effetti tossici della lipofuscina nell'EPR. Sono stati aggiunti 300 granuli di lipofuscina per ogni cellula, le quali vennero successivamente esposte ad una luce con lunghezza d'onda pari a 390-550 nm oppure 550-800 nm. Soltanto le cellule esposte alle onde corte subirono significanti cambiamenti morfologici come perdita dell'integrità dei lisosomi, incremento della perossidazione dei lipidi e ridotta capacità di sopravvivenza alla luce (Davies et al., 2001). L'accumulo di lipofuscina *in vivo* può superare di molto i 300 granuli per cellula. Uno studio morfometrico ha dimostrato come in un donatore tra gli 80 e 90 anni la fluoresceina possa occupare fino al 19% del volume cellulare, corrispondente a quasi 8000 granuli per cellula (Feeney-Burns, Hilderbrand, Eldridge, 1984). Il danno che essa può attuare è quindi molto più critico rispetto ai risultati ottenuti da questo studio.

La lipofuscina contiene diversi cromofori. Il maggior retinoide che agisce da sensibilizzatore è l'A2E derivato dall'aldeide della vitamina A (11-cis retinale) e molto probabilmente originato dai danni ossidativi dei segmenti esterni dei fotorecettori (Sakai et al., 1996). L'A2E produce un modesto quantitativo di ossigeno singoletto e possiede la capacità di reagire con le molecole in prossimità della lipofuscina incapsulandole nei granuli. Margrain et al. (Margrain et al., 2004) notarono che lo spettro di azione dei danni fotochimici di tipo II all'EPR e la fotoreattività della lipofuscina erano simili, e suggerirono quindi che la lipofuscina

potesse essere responsabile per questo tipo di danno. Il cromoforo A2E infatti ha il picco di massima eccitazione nella banda della luce blu. La luce blu è in grado di eccitare le molecole di A2E contenute nelle cellule dell'EPR e indurre apoptosi (Schütt et al., 2000; Sparrow, Cai, 2001; Sparrow et al., 2000). Sembra infatti che l'irradiazione di luce con lunghezza d'onda corta sia in grado di eccitare l'A2E all'auto-produzione di ossigeno singoletto. Quest'ultimo reagisce con la molecola A2E generando epossidi, i quali possiedono un'elevata reattività. Questo meccanismo sembra essere coinvolto nel danno del DNA delle cellule dell'EPR provocato dalla luce blu (Sparrow, Zhou, Cai, 2003). Inoltre, Boulton et al. (Boulton et al., 1993) dimostrarono come granuli di lipofuscina esposti alla luce fossero in grado di generare significative quantità di ioni superossido e perossidi di idrogeno, in funzione all'intensità di luce. La produzione di questi ROS è maggiore quando la lipofuscina viene eccitata da radiazioni con lunghezza d'onda corta (Rózanowska et al., 1995).

Roberts e colleghi osservarono che una coltura di cellule in presenza di una bassa concentrazione di A2E era significativamente protetta e non subiva danni quando veniva esposta alla luce, diversamente da quelle in cui la sostanza non era presente (Roberts et al., 2002). Tuttavia, in alte concentrazioni, l'A2E è in grado di mediare effetti deleteri nelle cellule dopo essere stato fotoeccitato con luce blu. Esso media la rottura dei legami nella membrana dell'enzima ATPasi, fondamentale nella produzione dell'ATP, il quale mantiene l'acidità lisosomiale pompando protoni all'interno di questo organello (Sparrow et al., 2000). L'aumento del pH all'interno dei lisosomi dell'EPR è in grado di inibire l'azione dell'enzima idrolasi (Bergmann et al., 2004) lisosomiale impedendo la degradazione delle sostanze fagocitate, come i lipidi polinsaturi contenuti nei segmenti esterni dei fotorecettori. Nelle colture di cellule dell'epitelio pigmentato retinico, è stato notato che A2E inibisce il catabolismo delle proteine endogene, ma non attacca la degradazione di quelle contenute nei segmenti esterni. Ciò contribuisce alla formazione e all'accumulo di lipofuscina. Inoltre, l'A2E aumenta la permeabilità delle membrane, inibisce il complesso citocromo-c ossidasi e riduce l'attività mitocondriale (Shahan, Gazzotti, Richter, 2001) ed infine inducendo il rilascio di proteine pro-apoptiche dai mitocondri, provoca apoptosi (Suter et al., 2000).

2.5 Danni provocati dagli strumenti oftalmici

La presenza di ostacoli come la dimensione della pupilla e la trasparenza dei mezzi (specialmente del cristallino), che si pongono tra gli strumenti oftalmici e la retina, rende difficoltoso l'utilizzo di questi dispositivi diagnostici. Infatti, il riflesso involontario all'esposizione della luce comporta la contrazione della pupilla; inoltre, più i pazienti sono anziani, più piccola diventa la dimensione della pupilla (Salvi, Akhtar, Currie, 2006). Per evitare questo fenomeno, solitamente nelle visite oftalmologiche vengono instillati farmaci cicloplegici, i quali dilatano la pupilla e bloccano il riflesso pupillare. In questo modo però molta più luce è in grado di entrare nell'occhio, esponendo la retina ad un rischio maggiore di danni. In più, spesso per facilitare l'esame c'è la tendenza ad aumentare l'intensità luminosa dello strumento aumentando la quantità di energia che arriva alle strutture retiniche.

Esperimenti effettuati sui primati alcune decine di anni fa, dimostrarono che l'esposizione della retina alla luce degli oftalmoscopi per più di 15 minuti produceva lesione ai fotorecettori e danni all'epitelio pigmentato retinico (Friedman, Kuwabara, 1968). Ricerche più recenti sostengono questi risultati. Considerando i valori di soglia limite adottati dall'*American Conference of Governmental Industrial Hygienists* sembra che l'utilizzo dell'oftalmoscopio con una lente "bianca" (senza alcun trattamento) non debba superare i 2,5 minuti. Invece, l'utilizzo di una lente gialla in grado di filtrare la luce blu è in grado di aumentare il periodo dell'operazione fino a 20 volte (Bradnam et al., 1995). È consigliato quindi l'utilizzo di lenti ambrate o di filtri quando, nella pratica clinica, è necessario attuare un esame prolungato o ripetuto in quanto c'è la possibilità di provocare l'accumulo di danni da luce blu (stesso documento citato sopra).

La lampada a fessura espone le strutture oculari ad almeno tre volte la quantità di luce irradiata dall'oftalmoscopio indiretto e per questo motivo merita particolare attenzione. Essa infatti convoglia le radiazioni luminose in un'area ristretta, spesso ad alta intensità, aumentando il rischio di danno. Kirkness stima che il periodo di esposizione non dovrebbe superare gli 8 secondi utilizzando la massima intensità possibile per evitare completamente il rischio di danni retinici (Kirkness, 1986).

Diversi studi hanno inoltre dimostrato come la luce emessa dai microscopi chirurgici utilizzati nelle operazioni di cataratta possano danneggiare la retina (Parver, Auken, Fine, 1983; Irvine, Wood, Morris, 1984; Michael, Wegener, 2004).

La trasmissione delle onde UV non presenta un problema in quanto, come precedentemente affermato, la maggior parte di esse sono filtrate e bloccate dai mezzi del segmento anteriore dell'occhio. L'eliminazione delle radiazioni con lunghezza d'onda corta invece è di difficile esecuzione. Infatti, la mancanza di queste onde risulta in un cambiamento di colore delle strutture illuminate, e ciò modifica l'apparenza della retina. I clinici devono perciò essere in grado di reinterpretare i segni per effettuare una corretta diagnosi. Per questo motivo l'utilizzo di filtri per la rimozione della luce blu viene utilizzato raramente, esponendo la retina al rischio di fototossicità.

Capitolo 3

Meccanismi di protezione

Lo stress ossidativo è un fenomeno comune nei sistemi viventi. Esso consiste in un errato equilibrio tra la produzione dei ROS e la loro eliminazione da parte degli antiossidanti. Come è già stato analizzato in precedenza, i disordini legati alle reazioni redox che normalmente avvengono nelle cellule possono provocare una forte tossicità grazie alla produzione di prodotti dannosi, come i perossidi, e radicali liberi, i quali sono in grado di provocare danni a tutti i componenti cellulari inclusi proteine, lipidi e DNA.

L'antiossidante è una molecola in grado di inibire l'attività ossidante di altre sostanze. Il meccanismo di ossidazione avviene attraverso delle reazioni nelle quali si instaurano dei trasferimenti di elettroni o ioni idrogeno da una sostanza ad un agente ossidante. Perdendo l'elettrone, la molecola "donatrice" perde la sua stabilità chimica e diventa reattiva, acquisendo così la possibilità di attaccare altre molecole e generando quindi delle reazioni a catena. Gli antiossidanti terminano questo circolo vizioso rimuovendo i prodotti intermedi dei radicali liberi o inibendo le reazioni di ossidazione. La loro attività si basa sulla capacità chimica di ossidarsi, ovvero donano elettroni ai radicali liberi in modo da trasformarli nella loro struttura chimica stabile. Gli antiossidanti sono quindi spesso agenti riducenti, come tioli, acido ascorbico (vitamina C) e polifenoli.

3.1 Pigmenti maculari

I carotenoidi sono delle sostanze colorate, dalle tonalità del giallo a quelle del violetto, solubili nei grassi e diffuse nei vegetali e negli animali. Essi sono dei terpenoidi costituiti da una lunga catena idrocarburica in cui gli atomi di carbonio sono collegati da vari doppi legami coniugati, i quali costituiscono il sistema cromoforo responsabile della colorazione della molecola (Treccani). I carotenoidi possono essere suddivisi in due macro classi, a seconda della loro polarità: i caroteni, molecole non polari contenenti soltanto atomi di carbonio ed idrogeno, e le xantofille, ovvero molecole polari le quali contengono almeno un atomo di

ossigeno al loro interno (Bone et al., 1993). Inoltre, le xantofille vengono ulteriormente suddivise in idrossicarotenoidi, i quali contengono uno o due gruppi idrossili, e in chetocarotenoidi, i quali contengono gruppi chetonici.

I mammiferi non sono in grado sintetizzare queste sostanze e sono quindi obbligati ad ottenerle attraverso la dieta. Di oltre 600 carotenoidi presenti in natura, ne assumiamo soltanto dai 30 ai 50 dalla dieta giornaliera e di questi, 10-15 sono presenti nel circolo sanguigno. Nella retina umana, invece, sono rintracciabili soltanto la *luteina* (L), la *zeaxantina* (Z) e i loro metaboliti (Bernstein, 2014), i quali insieme compongono i pigmenti maculari. Essi sono dei carotenoidi appartenenti al gruppo delle xantofille, derivati dai vegetali a foglia verde, frutta gialla o arancione e dalle verdure.

Nella retina, tali xantofille si trovano soprattutto nella regione foveolare detta macula lutea, alla quale donano il caratteristico colore giallo e sono per questo denominati pigmenti maculari. La loro concentrazione massima si ha nello strato delle fibre di Henle, ovvero negli assoni dei fotorecettori della fovea, ed è di circa 1mM. La zeaxantina è maggiore nella regione centrale della retina, mentre la luteina è dominante nella periferia (Bone et al., 1997). Appena 1-2 mm fuori dal centro della fovea la concentrazione dei pigmenti maculari decresce fino a 100 volte e il rapporto tra la luteina e la zeaxantina diventa di 3:1 (Landrum, Bone, 2001).

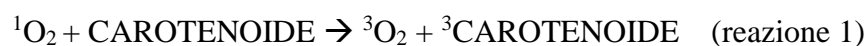
La protezione attuata da parte della luteina e della zeaxantina dai danni fotochimici provocate dalle radiazioni con lunghezza d'onda corta sono divisibili in due meccanismi. Il primo meccanismo consiste nella capacità di queste molecole di assorbire la luce e agire da filtri. Il secondo meccanismo invece, è il risultato dell'attività antiossidante dei carotenoidi.

Lo spettro di assorbimento dei pigmenti maculari possiede il suo picco a 460 nm, corrispondente alla banda della luce blu, e per questo motivo essi agiscono come un filtro selettivo per queste onde. Siccome questi carotenoidi sono presenti nella neuroretina, essi agiscono come un filtro, eliminando le radiazioni prima di raggiungere i fotorecettori e l'ERP, e riducendo così i danni fotochimici provocati dalle radiazioni con elevata energia (Bone et al., 1993). Inoltre, essi sono presenti sia all'interno dei coni, sia dei bastoncelli e la loro particolare disposizione risulta in un efficiente sistema di filtraggio delle onde corte. Infatti, oltre all'orientamento uniforme dei pigmenti maculari (Handelman, 1991), i fotorecettori agiscono da schermo grazie al decorso laterale degli assoni, proteggendosi uno con l'altro

(Snodderly, Auran, Delori, 1984). Alcuni studi avanzati per quantificare la filtrazione attuata da questi carotenoidi appurarono che essi sono in grado di bloccare fino al 80% delle radiazioni con lunghezza d'onda di 460 nm che raggiungono la retina. Tuttavia, alcuni soggetti possiedono livelli più bassi di pigmenti rispetto ad altri, riuscendo a filtrare solo il 10% di queste onde (Hammond, Wooten, Celentano, 2001).

La luteina e la zeaxantina presenti nel segmento esterno dei fotorecettori sono direttamente coinvolti nell'azione di protezione dai prodotti della fotodegradazione. La loro lunga catena idrocarburica formata da molti doppi legami coniugati li rende suscettibili all'ossidazione. Tuttavia, nelle membrane biologiche, i carotenoidi fanno parte dei meccanismi che regolano la quantità dei ROS. Esistono due diversi meccanismi attraverso i quali i carotenoidi sono in grado di eliminare questi prodotti ossidativi: "spegnendo" le molecole di ossigeno singoletto oppure reagendo con i radicali liberi.

Quando la luce viene assorbita da un fotosensibilizzatore, esso viene eccitato ad uno stato di terzetto il quale, attraverso le reazioni fotochimiche di tipo II, è in grado di generare molecole di ossigeno singoletto ($^1\text{O}_2$). Il meccanismo con il quale i pigmenti maculari proteggono l'organismo da questi ROS consiste in una prima azione fisica ed una successiva reazione chimica. La reazione fisica coinvolge il trasferimento dell'energia di eccitazione dall'ossigeno singoletto al carotenoide, il cui risultato è la formazione dello stato tripletto del carotenoide (reazione 1). La successiva reazione chimica consiste nella dissipazione dell'energia di eccitazione appartenente ora al carotenoide attraverso interazione rotazionali e vibrazionali tra il carotenoide e il solvente (reazione 2). Quest'ultima reazione permette la rigenerazione della molecola iniziale del carotenoide, il quale è ora pronto per attuare un nuovo ciclo antiossidante (Krinsky, 1989).



In questo modo, i pigmenti maculari agiscono da catalizzatori nella neutralizzazione delle molecole dannose di ossigeno singoletto ed inoltre da antiossidanti, prevenendo le reazioni a catena di ossidazione.

Il secondo metodo con il quale i carotenoidi eliminano i prodotti delle reazioni ossidative, è l'azione antiossidante contro i radicali liberi. Diversamente da altri antiossidanti i quali agiscono donando un atomo di idrogeno, i carotenoidi legano i radicali perossile (ROO·) alla propria catena (reazione 3). L'aggiunta di un secondo radicale perossile alla catena centrale del carotenoide produce prodotti polari non-radicali (reazione 4). I pigmenti maculari, in questo modo, agiscono da "trappola" per due radicali utilizzando solamente una molecola di carotenoide (Jørgensen, Skibsted, 1993).



La modesta reattività dei carotenoidi e la relativa stabilità della molecola che si forma sono fattori importanti per la capacità antiossidante dei pigmenti maculari. Infatti, a basse concentrazioni di ossigeno, i radicali predominano sulla catena del carotenoide, con la conseguente riduzione della quantità e della capacità ossidante dei radicali stessi.

Uno studio riportato da Jaffe e Wood (Jaffe, Wood, 1988) conferma l'azione protettiva attuata dai pigmenti maculari presenti sulla fovea. Essi infatti notarono che, dopo l'esposizione alla luce emessa dal microscopio operatorio, la retina presentava delle lesioni estese a tutta la sua area, eccetto ai margini della fovea dove i danni risultavano attenuati. In accordo con la letteratura, i danni erano provocati dall'azione fototossica della luce. Nella fovea però, la presenza dei pigmenti maculari ha evitato l'instaurarsi di gravi lesioni. Essi agendo non solo come filtro, ma anche come antiossidanti, hanno permesso l'eliminazione dei radicali liberi e di conseguenza la diminuzione della fotodegradazione (Jaffe, Wood, 1988).

Anche se i carotenoidi sono in grado di offrire una protezione contro i danni fototossici, essi non possono totalmente prevenirli.

3.2 Antiossidanti endogeni

All'interno della retina sono presenti diverse molecole in grado di agire come antiossidanti. Ognuna di esse possiede diverse ma specifiche capacità, le quali integrandosi tra loro operano per la prevenzione dall'accumulo dei ROS e dai conseguenti danni ossidativi (Hammond, Lien, 2013).

Si individuano quindi due classi di antiossidanti: gli antiossidanti non enzimatici, formati soprattutto dalle vitamine, e gli antiossidanti enzimatici, ovvero quelle proteine o composti proteici in grado di reagire con i prodotti tossici e diminuirne o eliminarne la reattività.

Il maggior antiossidante solubile in acqua è il glutatione (GSH). La sua forma ridotta corrisponde ad un tripeptide, il quale possiede un gruppo sulfidrilico (-SH) nel suo sito attivo. Il GSH, in risposta al cofattore *selenio*, è in grado di trasferire elettroni alle specie ossidate come radicali idrossile e carbonile, diventando a sua volta un prodotto ossidato (GSSH) (Yu, 1994). Il *selenio* infatti è presente in alcune proteine biologiche le quali catalizzano l'attività dell'enzima glutatione perossidasi. Il GSH agisce in questo composto enzimatico come donatore di elettroni per ridurre gli idroperossi formati dall'ossidazione dei PUFA, dei fosfolipidi e del colesterolo (Balin, Allen, 1986; Winkler et al., 1999). Infine, il GSSH, ovvero la forma ossidata del GSH, viene ridotto dall'enzima glutatione reduttasi.

Il glutatione è stato trovato nella retina dei mammiferi, dove è stato dimostrato come la sua attività sia fondamentale per la protezione dei PUFA contenuti nei fotorecettori dall'ossidazione, indipendentemente dalla presenza della vitamina E o di altri antiossidanti (Keys, Zimmerman, 1999).

La vitamina C è il secondo maggior antiossidante solubile in acqua dopo il glutatione. Nella retina, l'acido ascorbico raggiunge una concentrazione 100 volte maggiore rispetto a quella presente nel sangue (Rose, Bode, 1991).

La vitamina C possiede una catena con 6 atomi di carbonio chiusa ad anello. Nella maggior parte dei mammiferi essa viene sintetizzata a partire dal glucosio, ma l'essere umano, non essendo in grado di produrla, deve assimilarla attraverso la dieta. L'assenza o la diminuzione di questa vitamina provoca numerose patologie. L'acido ascorbico agisce da donatore di elettroni. Esso è in grado di donare due elettroni per molecola provenienti dal doppio legame tra il secondo ed il terzo carbonio della catena, ossidandosi. In questo modo, donando gli elettroni, previene

l'ossidazione di altre molecole come anioni superossido, ioni ossidrilici e idroperossidi di lipidi, i cui metaboliti sarebbero in grado di provocare danni alle strutture (Yu, 1994).

I prodotti dell'ossidazione dell'acido ascorbico sono a loro volta dei radicali liberi, i quali però hanno una maggiore stabilità e di conseguenza una minore reattività nell'attaccare altre molecole. Questa proprietà dimostra per quale motivo l'acido ascorbico è uno degli antiossidanti più efficienti dell'organismo (Bielsky, Richter, 1975).

Un'altra vitamina presente nella retina con azione antiossidante è la vitamina A. Il maggior precursore di questa molecola è il β -carotene, il quale è il miglior neutralizzatore di ossigeno singoletto (Cabrera, Chihuailaf, 2011). La sua proprietà antiossidante è derivata dalla sua struttura chimica. Infatti, come la maggior parte dei caroteni, esso possiede una lunga catena contenente molti doppi legami coniugati, i quali sono in grado di convertire anioni superossido e radicali perossidi in molecole meno reattive (Yu, 1994).

Il retinolo, ovvero una delle possibili forme biologiche della vitamina A, è in grado di inibire la perossidazione dei lipidi nella membrana dei fotorecettori (Livrea, Tesoriere, Freisleben, 1996). Grazie alla sua natura insatura, in quanto formato da molti doppi legami, il retinolo risulta essere molto reattivo contro i radicali perossidi. L'inibizione della perossidazione infatti è attribuita alla capacità di questa molecola di agire come una trappola per i perossidi (Samokyszyn, Marnett, 1990). La sua presenza nella retina è perciò di fondamentale importanza in quanto la concentrazione di PUFA, altamente suscettibili alla perossidazione, è elevata.

Dato che l'aldeide della vitamina A, ovvero il retinale, come è stato descritto precedentemente, è in grado di causare stress ossidativo nei fotorecettori, l'azione dell'acido ascorbico consiste in un delicato equilibrio tra l'attività antiossidante e l'attività pro-ossidante. La tensione di ossigeno, il substrato e la concentrazione di altri ossidanti sono fattori indispensabili per mantenere bilanciato questo equilibrio. Un'elevata concentrazione di retinoidi sarebbe in grado di promuovere la perossidazione dei lipidi con conseguenti effetti citotossici (Boulton, Rozanowska, Rozanowski, 2001).

L'ultima vitamina che è presente nella retina è la vitamina E, o tocoferolo. Essa possiede quattro diverse forme: α , β , γ e δ -tocoferolo. Di queste, l' α -tocoferolo è la molecola con la maggior attività antiossidante, caratteristica attribuita dalla

presenza del gruppo idrossile nella catena. Come nella vitamina C, l' α -tocoferolo è in grado di fermare la reazione a catena causata dai ROS ossidandosi. La sua ossidazione porta alla formazione del radicale α -tocoferile, il quale risulta stabile e incapace di reagire con le biomolecole. Le molecole principalmente attaccate dall' α -tocoferolo sono i radicali perossile, i quali sono in grado di provocare reazioni di perossidazione. L' α -tocoferile viene successivamente rigenerato attraverso delle reazioni mediate dalla vitamina C, dal glutatione o dall'acido lipoico (Wang, Quinn, 1999). L'azione antiossidante dell' α -tocoferolo dipende quindi dalla concentrazione di queste proteine, le quali riducono l' α -tocoferile per produrre la sua forma iniziale. È possibile che una sovrapproduzione di ROS causi una considerevole diminuzione della concentrazione della vitamina E disponibile nel tessuto retinico (Cabrera, Chihuailaf, 2011).

Un esperimento attuato da Wrona, Rózanowska e Sarna ha dimostrato come la zeaxantina e l' α -tocoferolo siano in grado di agire in modo sinergico per prevenire i danni cellulari. L'azione antiossidante della zeaxantina, usata in basse concentrazioni, è potenziata dalla vitamina E. La vitamina E infatti, è in grado di prevenire la formazione dei radicali provocata dalla degradazione della zeaxantina oppure riparare la sua forma ossidata (Wrona, Rózanowska, Sarna, 2004).

Per quanto riguarda gli antiossidanti enzimatici, i due complessi proteici principali, esclusa la glutatione perossidasi, sono la superossido dismutasi (SOD) e la catalasi (CAT).

La SOD presenta tre forme, le quali possiedono differenti localizzazioni cellulari e richiedono diversi cofattori. Le forme Cu-SOD e Zn-SOD risiedono nel citosol e nei fluidi extracellulari e i cofattori necessari per il loro funzionamento sono rispettivamente il *rame* e lo *zinco*. L'Mn-SOD invece è presente nella matrice mitocondriale e il suo cofattore è il *manganese*. Tutte e tre queste isoforme sono state identificate nel segmento esterno dei fotorecettori e nell'ERP (Frank, Amin, Punklin, 1999). Questo enzima è in grado di catalizzare la reazione di trasformazione dell'anione superossido in perossido di idrogeno e ossigeno molecolare (Figura 8).

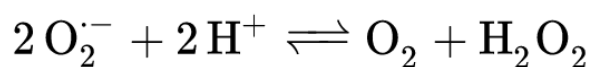


Figura 8: Reazione catalizzata dall'enzima superossido dismutasi (SOD). (Elaborazione dell'autore)

La catalasi invece è un'emoproteina contenente quattro gruppi eme e necessita quindi la presenza del *ferro*, ovvero il suo cofattore. Questo enzima è presente nei perossisomi dei mitocondri e nel citoplasma cellulare. Esso catalizza la conversione del perossido di idrogeno in acqua ed ossigeno molecolare (Figura 9) (Alfonso-Prieto et al., 2009).

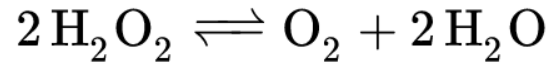


Figura 9: Reazione catalizzata dall'enzima catalasi (CAT). (Elaborazione dell'autore)

Tate e colleghi osservarono che la concentrazione della catalasi nell'ERP aumentava fino a due volte rispetto alla normale concentrazione di questo enzima quando aumentava la quantità di H₂O₂ generata dai segmenti esterni dei fotorecettori. Ciò è a conferma del fatto che la fagocitosi dei segmenti esterni da parte dell'epitelio pigmentato retinico è un processo che genera stress ossidativo e, in particolar modo, perossido di idrogeno. Questi ROS sarebbero quindi un segnale intracellulare in grado di indurre un aumento dell'attività ossidante di alcuni enzimi come appunto la catalasi (Tate, Miceli, Newsome, 1995).

Capitolo 4

Dispositivi oftalmici per la prevenzione dei danni

Nell'ultimo decennio sono stati attuati diversi cambiamenti nell'utilizzo e nella tipologia delle sorgenti di luce, sia per quelle domestiche che per quelle commerciali. Le lampade a incandescenza infatti, sono state pian piano sostituite con le lampade a fluorescenza (CFL) o con diodi ad emissioni di luce ad alta intensità.

In aggiunta, i LED ad emissione di luce bianca, la tipologia più comune di queste sorgenti, è ampiamente utilizzata negli schermi degli *smartphone*, *tablet*, computer e televisioni. Nonostante la luce che questi emanano sia bianca, uno studio attuato da O'Hagan dimostra come tali LED siano in grado di irradiare un elevato quantitativo di luce blu. Il suo spettro di emissione, infatti, risulta avere un picco alle lunghezze d'onda corrispondenti a quelle dannose della luce blu (O'Hagan, Khazova, Price, 2016).

È stato dimostrato come una coltura di cellule dell'EPR esposta ad una quantità di luce pari a quella emessa dal *display* di uno *smartphone* fosse in grado di aumentare la produzione di radicali liberi e ridurre la vitalità delle cellule (Moon, Yun, Yoon, 2017).

Oltre al rischio fototossico causato dall'esposizione a queste radiazioni, la luce blu emanata da tali dispositivi è in grado di provocare altri effetti indesiderati come affaticamento degli occhi (Wilkins, Wilkinson, 1991) oppure disfunzioni del ritmo circadiano, ovvero l'orologio biologico che regola il ciclo sonno-veglia (Ostrin, Abbott, Queener, 2017).

4.1 Lenti oftalmiche

Data l'elevata diffusione di luci artificiali quali LED o CFL, le grandi aziende produttrici di lenti oftalmiche hanno introdotto nel commercio un nuovo dispositivo in grado di ridurre la quantità di radiazioni con lunghezza d'onda corta che raggiungono la retina.

Queste lenti possono essere di due tipologie: lenti oftalmiche che presentano dei cromofori all'interno del materiale in grado di filtrare la luce blu assorbendola, oppure lenti oftalmiche ricoperte da un rivestimento antiriflettente di colore blu, in grado appunto di riflettere parte di queste onde.

Le normali lenti oftalmiche offrono generalmente una buona protezione contro i raggi UV ($\lambda \leq 380$ nm), dipendentemente dal materiale con cui sono state costruite. Infatti, i materiali organici con indice di rifrazione pari o superiore a 1.60 offrono un'eccellente protezione contro queste radiazioni. I policarbonati invece, offrono un'ottima protezione fino a $\lambda = 390$ nm mentre la resina NXT assorbe i raggi UV fino a 400 nm (Reverdy, 2010).

L'aggiunta di un cromoforo all'interno della sostanza che le costituisce è in grado di ridurre e attenuare la trasmissione della luce blu. In alternativa, lo strato di antiriflesso può essere applicato sia nella superficie anteriore, sia in quella posteriore della lente, offrendo una selettiva diminuzione dello spettro di trasmittanza per queste radiazioni e mantenendo allo stesso tempo la lente trasparente alle altre lunghezze d'onda.

Uno studio attuato da Leung e colleghi ha valutato lo spettro di trasmittanza di cinque tra le diverse lenti oftalmiche *blue-blocker* disponibili in commercio (Leung, Li, Kee, 2017). I dati raccolti sono stati riassunti nella Tabella 1 e nella Figura 10.

Tabella 1: sintesi dei dati riguardanti le cinque lenti analizzate. (Elaborazione dell'autore sulla base di Leung, Li, Kee, 2017)

Nome commerciale	Produttore	Antiriflesso (AR) blu	Potere (D)	Trasmissione della luce blu (%)	Riflessione della luce blu (%)
BlueControl	Hoya	Sì	0,00	81,3	14,5
BlueProtect	Zeiss	Sì	0,00	90,3	9,7
Crizal	Essilor	Sì	0,00	74,9	19,5
Previncia					
StressFree	Swiss Lens	Sì	0,00	82,2	8,1
Noflex	Swiss Lens	No	0,00	77,5	1,6

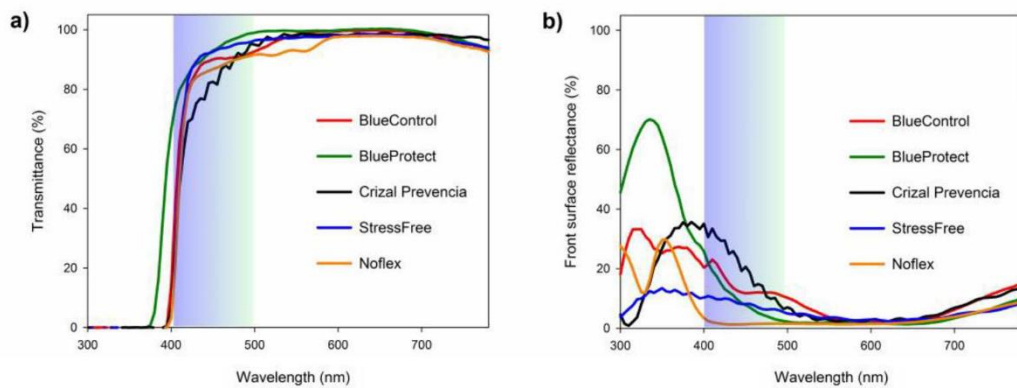


Figura 10: A) Grafico che analizza lo spettro di trasmittanza delle lenti considerate. B) Grafico che analizza la riflettanza attuata dalla superficie frontale delle lenti considerate. (Leung, Li, Kee, 2017)

Tutte le lenti considerate bloccano efficacemente la luce UV ($\lambda \leq 400$ nm) con una trasmittanza massima di 0,12%. Parte della luce blu, soprattutto vicino alla luce UV, viene filtrata dal 9,7% (BlueProtect) al 25,1% (Crizal Prevencia), mentre risulta una buona trasmissione del restante spettro visibile con una trasmittanza dal 86,1% al 93,2%. L'efficacia protettiva di tali lenti è stata calcolata: esse dovrebbero essere in grado di ridurre la fototossicità dal 10,6% al 23,6%. Tuttavia, la riduzione della trasmissione di luce causa una riduzione del 2,4-7,5% della sensibilità scotopica e una diminuzione dal 5,8% al 15% dell'efficienza contro la soppressione della melatonina, ormone regolatore del ciclo sonno-veglia.

Le lenti StressFree e Noflex sono poi state confrontate con una lente controllo avente un antiriflesso *standard*. Le analisi statistiche hanno dimostrato che le due lenti *blue-blocker* non avevano un significativo impatto negativo sulla sensibilità al contrasto o sulla percezione dei colori. Inoltre, queste lenti non provocavano una significativa differenza sulla qualità del sonno dei partecipanti rispetto alla lente controllo.

Questa tipologia di lenti è stata progettata per quegli individui che, per varie cause, devono utilizzare per molte ore al giorno *device* elettronici come computer. In questo modo, tali lenti offrono una modesta riduzione delle onde corte riducendo l'impatto biologico della fototossicità.

Per la protezione *outdoor*, ovvero negli spazi aperti, gli occhiali da sole sono in grado di offrire complessivamente una buona protezione sia dai raggi UV, sia dalla luce blu. Giannos e colleghi hanno verificato l'efficacia di alcune lenti da sole

presenti in commercio attraverso l'analisi dello spettro di trasmissione e hanno successivamente suddiviso i risultati in diversi gruppi, a seconda del prezzo di vendita (Giannos et al., 2019). I grafici ottenuti sono raffigurati nelle Figure 11, 12, 13.

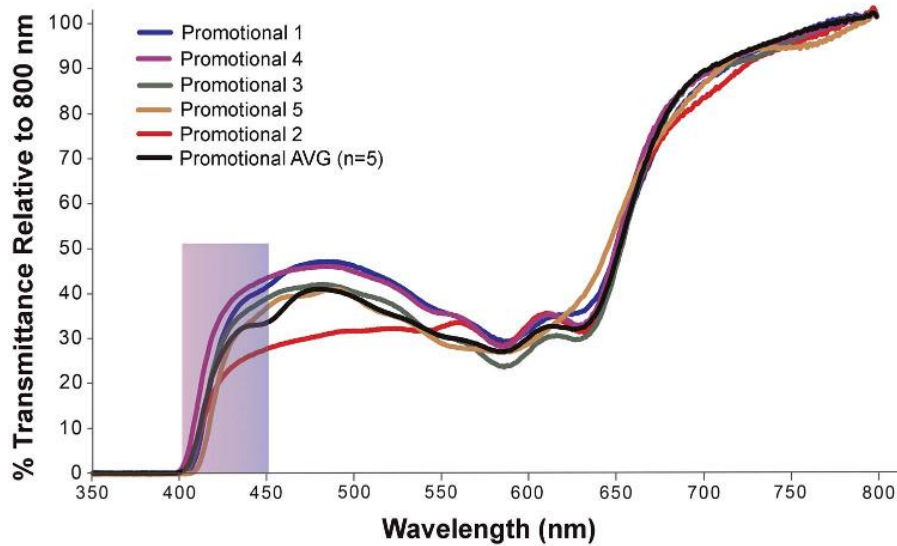


Figura 11: Grafico dello spettro di trasmittanza delle cinque lenti appartenenti al gruppo 1 (lenti promozionali o di fascia bassa). La trasmittanza media di queste lenti è raffigurata in nero. (Giannos et al., 2019)

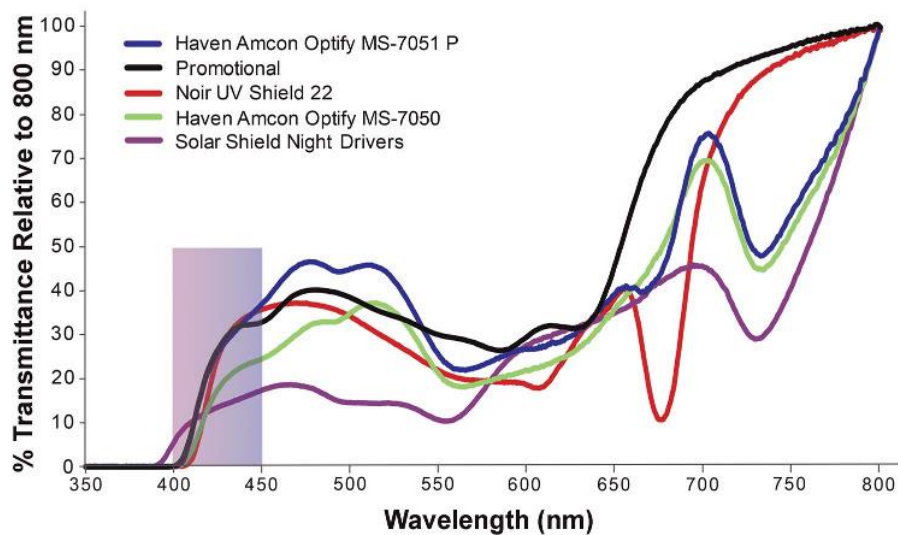


Figura 12: Grafico dello spettro di trasmittanza delle cinque lenti appartenenti al gruppo 2 (lenti di fascia media). La trasmittanza media delle lenti del gruppo 1 è raffigurata in nero come confronto. (Giannos et al., 2019)

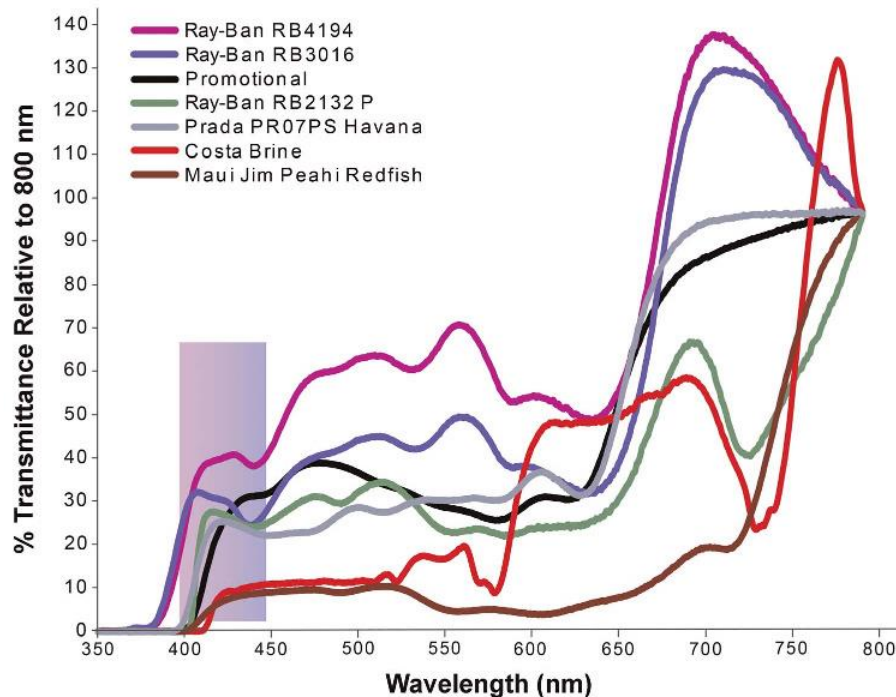


Figura 13: Grafico dello spettro di trasmittanza delle cinque lenti appartenenti al gruppo 3 (lenti di fascia alta). La trasmittanza media delle lenti del gruppo 1 è raffigurata in nero come confronto. (Giannos et al., 2019)

Essi hanno verificato che non sempre la qualità corrisponde ai prodotti di prezzo elevato. Infatti, alcune delle lenti di medio ed alto prezzo (gruppo 2 e 3) non filtrano parte dello spettro UV, mentre le lenti economiche (gruppo 1) o addirittura gratis (*gadget*) sono in grado di bloccare completamente le radiazioni con lunghezza d'onda inferiore a 400 nm.

Tuttavia, per quanto riguarda la luce blu, le lenti del gruppo 1 sono in grado di bloccare mediamente il 70% circa delle radiazioni a 426 nm e il 67% a 450 nm, mentre le lenti del gruppo 2 e 3 sono molto più efficienti nel filtraggio. Tra le lenti del gruppo 2 spicca infatti la lente Shield Night Drivers, la quale provvede ad un filtraggio di 94,4% a 400 nm e 86,2% a 426 nm, fino ad arrivare ad una trasmissione del 17,5% a 450 nm. Tra le lenti del gruppo 3 la migliore in efficienza di filtraggio è la Maui Jim Peahi Redfish con un filtraggio fino al 94% dei raggi con lunghezza d'onda di 418 nm e appena sopra il 90% a 426 nm. È necessario però notare che la trasmissione del restante spettro visibile è notevolmente alterata, provocando così una modifica dei colori percepiti.

Diversi fattori incidono sulla capacità di filtraggio di una lente, come ad esempio il colore della lente, la trasmissione della luce lateralmente, la variazione dello

spessore e la distanza della lente dall'occhio. Dato che il restringimento della pupilla è un'azione riflessa in risposta alla luce, una lente scura ma con uno scarso filtraggio pone ad un elevato rischio l'occhio. In questi casi infatti, la riduzione dell'intensità della luce provoca la dilatazione della pupilla e una maggior quantità di radiazioni è in grado di raggiungere la retina. Tali radiazioni sono provenienti sia tangenzialmente, in quanto la lente non è in grado di bloccarli, sia lateralmente (Sliney, 2001).

Ad oggi, non esistono studi sperimentali che dimostrino l'efficacia di tali dispositivi contro la luce blu, tuttavia diversi studi hanno dimostrato che la riduzione della luce blu abbia degli effetti protettivi sulla retina (Vicente-Tejedor et al., 2018; Narimatsu et al., 2014).

4.2 Lenti a contatto

Come è stato precedentemente affermato, parte dei raggi UV sono in grado di penetrare i mezzi oculari e raggiungere la retina. Anche se la quantità di tali radiazioni, che sono in grado di passare gli strati del segmento anteriore, è minima (~ 1%; Sliney, 2002), esse trasportano un'elevata quantità di energia e sono in grado di provocare danni alla retina (Chalam et al., 2011).

In aggiunta, la frequente esposizione dell'occhio a queste onde può causare sia danni temporanei, sia danni permanenti. I disturbi a breve termine comprendono lievi irritazioni come eccessivo ammiccamento, gonfiore o lieve fotofobia. Inoltre, se la quantità di luce UV è maggiore, potrebbe presentarsi una fotocheratopatia acuta, come la cecità causata dalla luce riflessa dalla neve oppure dagli strumenti utilizzati dai saldatori (Taylor, 1989).

L'esposizione cronica a queste radiazioni invece, può causare danni più seri agli occhi, come l'aumento dell'incidenza della cataratta (West et al., 1998) e la formazione dello pterigio (Coroneo, 1993).

Le lenti a contatto (LAC) morbide, dato il loro diametro, sono in grado di coprire interamente la cornea, il limbus e parte della sclera, offrendo così una complessiva protezione del segmento anteriore dai raggi UV. La FDA, ovvero *l'U.S. Food and Drug Administration*, ha creato due classi differenti di LAC in base alla loro

capacità di protezione. Il criterio di suddivisione si basa sugli *standard* emanati dall'*American National Standards Institute* (ANSI) (ANSI Z80.20).

Le LAC di Classe 1 devono rispettare un filtraggio di almeno il 90% dei raggi UVA e il 99% degli UVB, mentre quelle di Classe 2 devono bloccare almeno il 70% delle radiazioni UVA e il 95% delle UVB (Chandler, 2011).

Svariati studi hanno analizzato l'efficacia di diverse lenti a contatto disponibili in commercio attraverso l'analisi dei loro spettri di trasmissione (Rahmani et al., 2014; Moore, Ferreira, 2006). I risultati ottenuti sono stati riportati nella Tabella 2.

Tabella 2: sintesi dei dati riguardanti le undici lenti a contatto analizzate. (Elaborazione dell'autore sulla base di Rahmani et al., 2014; e Moore, Ferreira, 2006)

Nome commerciale	Materiale	Potere (D)	Spessore al centro (mm)	UVA Trasmessi (%)	UVB Trasmessi (%)
ACUVUE Moist	Etafilcon A	-3.00	0,08	32,88	1,22
ACUVUE ADVANCE	Galyfilcon A	-3.00	0,07	21,07	0,16
ACUVUE OASYS	Senofilcon A	-3.00	0,02-0,05	18,35	0,03
CONTACT Day 30	Airfilcon A	-3.00	0,09	43,09	10,69
Pretty Eyes AC	Metafilcon A	-3.00	N/A	34,47	0,65
Sauflon 56 UV	Hema-copolimero	-3.00	0,07	48,18	5,78
NIGHT & DAY	Lotrafilcon A	-3.00	0,08	85,16	68,64
O2 Optix	Lotrafilcon B	-3.00	0,08	80,71	62,89
Purevision	Balafilcon A	-3.00	0,09	69,90	35,97
Focus DAILIES	Nelfilcon A	-3.00	0,10	84,43	61,39
SofLens 1-day	Hilafilcon A	-3.00	0,17	86,57	70,54

È da notare che alcune delle lenti considerate vengono promosse come *UV-blocker*, ovvero contenenti dei particolari monomeri in grado di filtrare le radiazioni UV. Nella Tabella 3 ne vengono specificati i dettagli commerciali.

Tabella 3: dettagli commerciali delle lenti considerate. (Elaborazione dell'autore sulla base di Rahmani et al., 2014; e Moore, Ferreira, 2006)

Nome commerciale	Produttore	UV-blocker
Acuvue Moist	Johnson & Johnson	Sì
ACUVUE ADVANCE	Johnson & Johnson	Sì
ACUVUE OASYS	Johnson & Johnson	Sì
CONTACT Day 30	Zeiss	Sì
Pretty Eyes AC	Marshall Intergroup Srl	Sì
Sauflon 56 UV	Sauflon	Sì
NIGHT & DAY	CIBA Vision	No
O2 Optix	CIBA Vision	No
Purevision	Bausch & Lomb	No
Fosuc DAILIES	CIBA Vision	No
SofLens 1-day	Bausch & Lomb	No

Come si può notare dai dati ottenuti, i materiali con cui sono formate le lenti a contatto sono da soli in grado di schermare gran parte delle radiazioni UVB. Per quanto riguarda invece le radiazioni UVA, la mancanza di un trattamento in grado di bloccarle espone ad un elevato rischio i portatori di LAC. La Purevision infatti è la lente a contatto che riesce a bloccare il più efficacemente possibile gli UVA tra quelle in cui non è presente il trattamento *UV-blocker*, con un assorbimento di circa il 30%. Tutte le altre lenti permettono una maggior trasmissione di queste onde, fino all'86% circa delle SofLens 1-day. Queste lenti non rientrano quindi nelle classi dell'FDA e non sono considerate dispositivi di protezione contro i raggi UV. Considerando invece le LAC *UV-blocker*, esse sono in grado di bloccare molto più efficacemente le radiazioni UV. Tra queste, la più efficiente sembra essere l'ACUVUE OASYS la quale trasmette solo il 18% dei raggi UVA e lo 0,03% di UVB. Tutte e tre le LAC marchiate ACUVUE filtrano la maggior parte delle onde UV ma presentano una lieve trasmittanza dei raggi UVC (figura 11 e 12). Ciò non è allarmante né significativo per l'analisi, in quanto queste radiazioni solari vengono bloccate prima di raggiungere il suolo.

Entrambi gli studi hanno valutato la capacità di filtraggio dell'ACUVUE Moist e i risultati ottenuti coincidono: è presente una differenza di 1,9% UVA e 0,97% UVB. I grafici della trasmittanza delle varie lenti sono rappresentati nelle Figure 14, 15, 16.

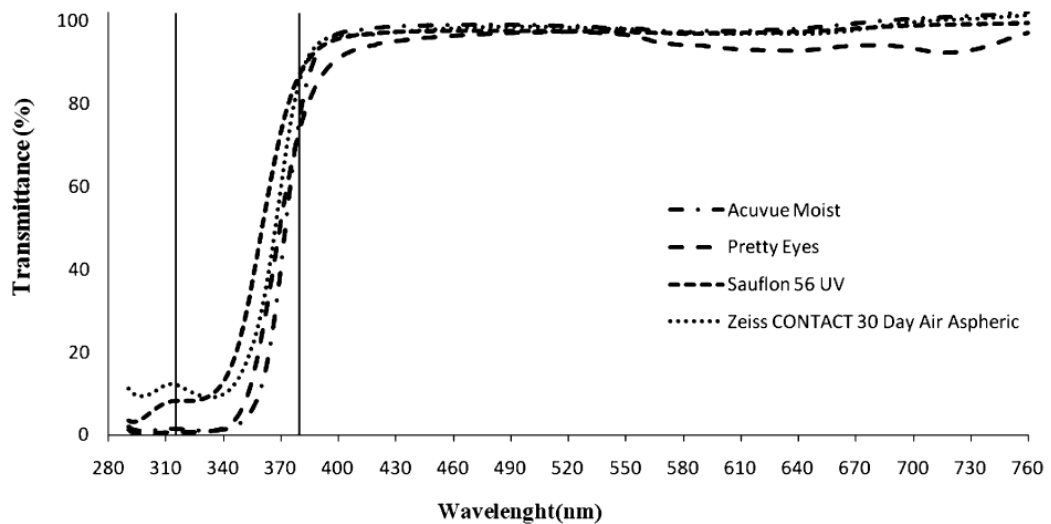


Figura 14: Curva dello spettro di trasmittanza di quattro delle lenti considerate. (Rahmani et al., 2014)

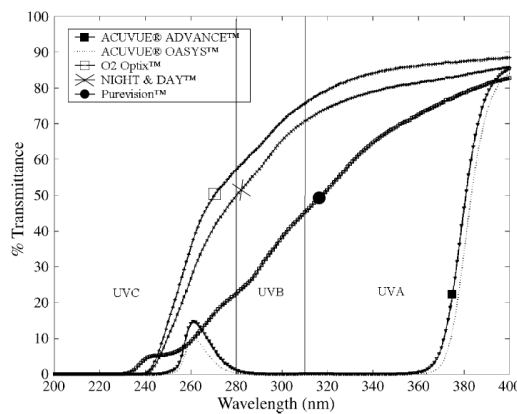


Figura 15: Spettro di trasmissione delle radiazioni UV attraverso le lenti a contatto silicone idrogel considerate. (Elaborazione dell'autore sulla base di Moore, Ferreira, 2006)

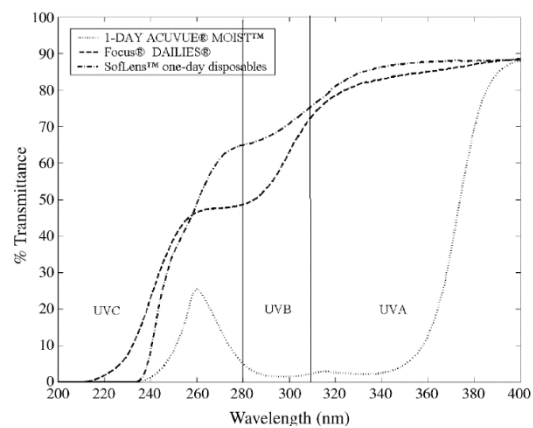


Figura 16: Spettro di trasmissione delle radiazioni UV attraverso le lenti a contatto idrogel considerate. (Moore, Ferreira, 2006)

La protezione attuata dalle lenti a contatto è stata ampiamente dimostrata dalla letteratura.

Kwok et al. hanno dimostrato una significativa diminuzione dell'intensità della luce UV incidente nella periferia anteriore del bulbo oculare, soprattutto nella parte nasale del limbus, data dal porto delle lenti a contatto *UV-blocker*. In tal modo, riducendo la quantità di luce UV, essi dimostrarono che anche il rischio di sviluppare disturbi oculari, come lo pterigio e la cataratta corticale, era ridotto (Kwok et al., 2004; Walsh et al., 2001).

In aggiunta, la LAC morbida è in grado di coprire e proteggere il limbus dalle radiazioni dannose. Ciò consente di salvaguardare la vitalità delle cellule staminali

incidono tangenzialmente, sia da quelli che incidono temporalmente e che gli occhiali non sono in grado di bloccare (Chandler, 2011).

Infine, in due studi è stato indicato come, nelle cornee dei topi, l'esposizione alle radiazioni UV fosse in grado di provocare edema all'endotelio e allo stroma. Inoltre, la cornea di questi animali presentava irregolarità superficiali, perdita delle cellule epiteliali, formazione di vacuoli e perdita di organelli delle cellule dell'endotelio successivamente all'esposizione. L'utilizzo di lenti a contatto con protezione da radiazioni UV non solo era in grado di prevenire la deturgenza della cornea bensì anche la degenerazione e la frammentazione dell'epitelio e dell'endotelio corneale (Bergmanson, Pitts, Chu, 1987, 1988).

Promuovendo le lenti a contatto morbide come una forma di protezione oculare dai raggi UV, i professionisti dovrebbero considerare che la lente dovrebbe essere applicata correttamente in modo da prevenire danni corneali indotti dal porto, i quali potrebbero successivamente portare ad un aumento della suscettibilità di questi tessuti dalla fototossicità provocata dalla luce UV.

È inoltre importante notare che le LAC proteggono efficacemente la superficie corneale ed il limbus, mentre lasciano scoperte gran parte della congiuntiva e le palpebre. Quindi la prescrizione di queste lenti come *device UV-blocker* dovrebbe essere associata all'utilizzo di occhiali da sole quando la luce solare è particolarmente intensa, come ad esempio nelle aree montuose (Blumthaler et al., 1994).

4.3 Lenti intraoculari

Come è stato precedentemente affermato, con l'avanzare degli anni il cristallino perde la sua tipica trasparenza e la fotossidazione delle sue proteine provoca la formazione di cromofori. Il risultato di questo evento è l'opacizzazione e l'ingiallimento di questo mezzo, con la conseguente formazione della *cataratta*. Ciò da una parte è negativo, in quanto la cataratta risulta essere un forte impedimento per l'acuità visiva, la quale risulta essere ridotta fino al 60% in alcuni individui (Leinonen, Laatikainen, 1999). Dall'altra, la trasmissione della luce blu diminuisce, aumentando la protezione naturale da queste radiazioni ad alta energia (van Norren D, van de Kraats, 2007).

L'estrazione del cristallino opacizzato rimuove questo filtro naturale, esponendo i pazienti operati ad un elevato quantitativo di radiazioni nocive. Per questo motivo dal 1980 le aziende produttrici di lenti intraoculari (IOL) hanno progettato dei filtri *UV-blocker* per ristabilire la protezione della retina contro le radiazioni con lunghezza d'onda compresa tra i 200 ed i 400 nm dopo l'operazione di cataratta (Lindstrom, Doddi, 1986). Queste lenti tuttavia, non erano in grado di filtrare la luce blu con lunghezza d'onda tra i 400 ed i 500 nm. Per questo motivo, dopo la comparsa di diversi studi che dimostravano la tossicità di queste onde, a tali lenti venne incorporato un filtro che, oltre a bloccare le radiazioni UV, era in grado di filtrare anche la luce blu. Questi dispositivi hanno il presupposto di replicare lo spettro di assorbimento del cristallino umano attraverso l'introduzione di cromofori di colore giallo, in grado di filtrare la luce blu.

Uno studio recente (Brockmann, Schulz, Laube, 2008) ha analizzato gli spettri di assorbimento di alcune lenti presenti in commercio (Tabella 4) e la loro rispettiva efficacia. I grafici dello spettro di trasmissione sono stati riportati nella Figura 17.

Tabella 4: sintesi dei dati riguardanti le otto lenti intraoculari analizzate. (Elaborazione dell'autore sulla base di Brockmann, Schulz, Laube, 2008)

Nome commerciale	Produttore	Materiale
AcrySof SN60WF	Alcon Laboratories, Inc.	Acrilico, idrofobico
AcrySof SN60AT	Alcon Laboratories, Inc	Acrilico, idrofobico
AcrySof MN60AC	Alcon Laboratories, Inc	Acrilico, idrofobico
AF-1(UY) YA-60BB	Hoya	Acrilico, idrofobico
MS612 Yellow	Dr. Schmidt	Silicone
PC 440Y Orange Series	Ophtec	Elastomero di polisilossano
Type 46G	Morcher	Acrilico, idrofobico
Yellow Flex	PhysIOL	Acrilico, idrofobico

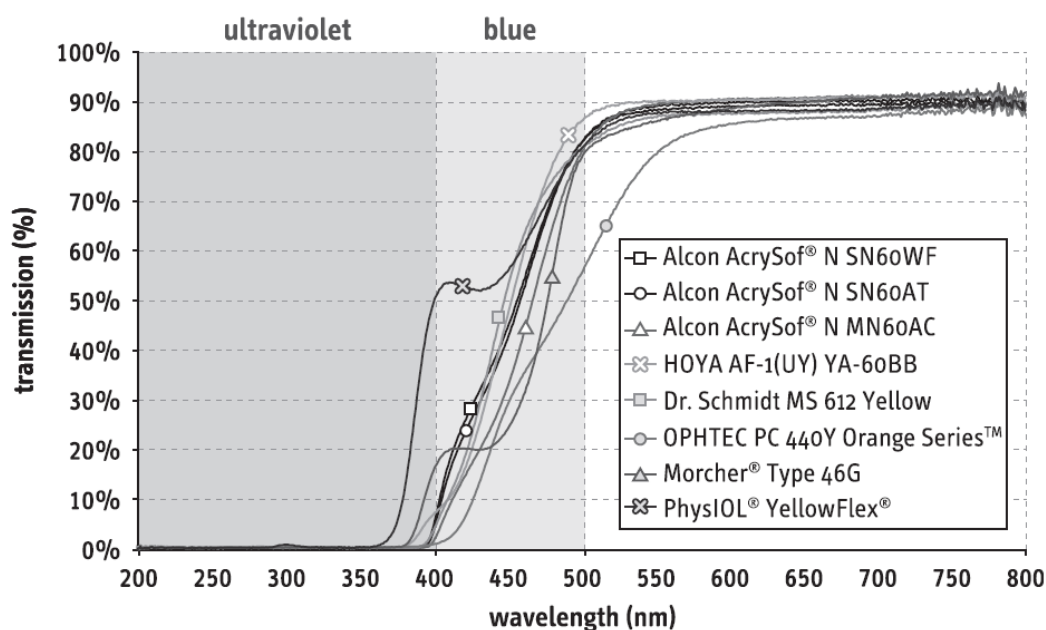


Figura 17: Grafico dello spettro di trasmissione delle otto lenti intraoculari analizzate. (Brockmann, Schulz, Laube, 2008)

Di ogni lente, sono stati analizzati tre campioni differenti, i quali mostravano tra loro uno spettro simile.

Come si può notare dal grafico, la maggior parte delle lenti intraoculari considerate garantisce un'efficacia protettiva contro i raggi UVA, trasmettendo meno del 10% di queste radiazioni. Solamente due tra le lenti analizzate non raggiungono un'adeguata protezione dei raggi UV: la Yellow Flex trasmette circa il 30% dei raggi con lunghezza d'onda di 380 nm e raggiunge una trasmissione del 49,4% a 400 nm, e la Type 46G la quale trasmette più del 10% a partire da lunghezze d'onda di 390 nm fino a raggiungere il 15,5% dei raggi trasmessi a 400 nm.

La trasmissione di tutte le lenti incrementa sempre di più nello spettro della luce blu ($400 \leq \lambda < 500$ nm) fino a raggiungere l'80% circa a 500 nm. La Type 46G mostra un andamento costante nello spettro compreso tra i 400 e i 440 nm con una trasmissione di circa il 20%, mentre la Yellow Flex mostra una trasmissione del 53% nell'intervallo tra i 400 e i 440 nm, riducendo di molto la sua efficacia rispetto alle altre lenti in questa regione dello spettro. La prestazione più efficiente nello spettro della luce blu sembra quella attuata dalla Orange Series, la quale a differenza delle altre presenta un cromoforo di colore arancione. Essa raggiunge il 10% di trasmissione dei raggi attorno ai 427 nm fino ad arrivare al 50% a 500 nm.

Un esperimento ha confrontato l'azione protettiva di alcune IOL *UV-blocker* con la lente *blue-blocker* AcrySof Natural SN60AT. Mentre le lenti con il solo sistema di filtraggio per i raggi UV mostrarono una protezione quasi nulla, la lente AcrySof filtrò circa il 50% della luce blu emessa, riducendo così la mortalità cellulare approssimativamente del 80% (Sparrow, Miller, Zhou, 2004).

Le IOL *blue-blocker* sono progettate in modo tale da imitare la trasmittanza del cristallino naturale di un adulto e allo stesso tempo non dovrebbero interferire con la normale visione, per esempio con la percezione dei colori, con la sensibilità al contrasto o con la visione scotopica (o visione notturna). Un potenziale problema che si potrebbe creare con tale tipologia di IOL, infatti, è la diminuzione della visione scotopica. La luce blu è responsabile solo del 7% della visione fotopica, ma del 35% della visione scotopica in un occhio afachico (Mainster, 2006).

Mainster ha dimostrato come le IOL da lui analizzate riducessero la sensibilità in un ambiente scotopico dal 14% al 21%, riducendo di conseguenza l'acuità visiva in condizioni di buio. Inoltre, con l'avanzare degli anni, la sensibilità scotopica decresce molto più velocemente rispetto alla visione fotopica, in quanto il numero di bastoncelli decresce con l'età mentre quello dei coni rimane circa lo stesso (Scheffrin et al., 1999). Tuttavia, tutte le lenti intraoculari considerate nell'esperimento eseguito da Brockmann e colleghi, e riportato in questo elaborato (Tabella 4), dimostra come le IOL posseggano una trasmittanza simile a quella del cristallino umano. Inoltre, un altro studio ha avvalorato questa caratteristica. Molte delle IOL disponibili nel mercato, analizzate nell'articolo, consentono una trasmissione maggiore rispetto al cristallino di un uomo di 75 anni (Mainster, 2005). Per quanto riguarda la percezione dei colori e la sensibilità al contrasto, diverse indagini hanno provato che le IOL *blue-blocker* non influenzano negativamente la *performance* visiva. Infatti, è stato dimostrato da Yuan e colleghi che queste lenti sono in grado di migliorare la sensibilità al contrasto a basse e medie frequenze, senza influenzare la visione dei colori. Secondo Yuan, le lenti che contengono al loro interno cromofori di colore giallo limitano la dispersione dei raggi luminosi, riducendo l'abbagliamento e incrementando la sensibilità al contrasto (Yuan, Reinach, Yuan, 2004).

Conclusioni

Nel presente elaborato sono stati analizzati i danni retinici provocati dall'esposizione oculare alle radiazioni ad alta energia. Si evince dai risultati raccolti che l'esposizione cronica possa causare una degenerazione della retina e l'aumento dei depositi di lipofusina nell'epitelio pigmentato retinico. Tuttavia, non sono presenti, in letteratura, studi scientifici in grado di relazionare in maniera certa alcuna patologia degenerativa all'esposizione costante a queste radiazioni.

Il sistema biologico di difesa dell'organismo è un apparato variegato, composto da diverse molecole le cui variazioni, sia come quantità che come attività, possono aumentare il rischio di danno. L'optometrista dovrebbe essere a conoscenza di questo pericolo e dovrebbe di conseguenza essere in grado di illustrare e consigliare nel miglior modo possibile i soggetti che si trovano ad elevato rischio di esposizione. La consapevolezza delle conseguenze e delle alterazioni fisiologiche che queste onde provocano rende, infatti, il professionista in grado di proporre accorgimenti preventivi per la protezione individuale e l'esecuzione di un monitoraggio periodico più frequente.

È auspicabile che, in un prossimo futuro, vengano effettuati maggiori studi in merito all'efficacia dei dispositivi oftalmici per la prevenzione dalla luce blu, in quanto, negli ultimi decenni, lo sviluppo di sorgenti luminose alternative alle lampade a incandescenza ha aumentato notevolmente l'esposizione a queste radiazioni dannose.

Inoltre, sarebbe adeguato promuovere campagne di sensibilizzazione inerenti tale argomento, al fine di informare l'intera popolazione sui rischi provocati da tali radiazioni, e cercando così di prevenire l'insorgenza degli effetti dannosi.

Bibliografia

Adijanto J., Seifert E., Moffat C., Maminishkis A., Philp N., *Metabolic Coupling Between the Retinal Pigment Epithelium (RPE) and Retina*, *Inv. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2013, 54(15):2649

Alfonso-Prieto M., Biarnés X., Vidossich P., Rovira C. (2009), *The Molecular Mechanism of the Catalase Reaction*, *J American Chem. Soc.*, 2009, 131(33):11751–11761

Algvere P. V., Marshall J., Seregard S., *Age-related maculopathy and the impact of blue light hazard*, *Acta Ophthalmol. Scand.*, 2006, 84(1):4–15

Ameyar M., Wisniewska M., Weitzman J. B., *A role for AP-1 in apoptosis: the case for and against*, *Biochimie*, 2003, 85(8):747-52

ANSI Z80.20, Ophthalmics - Contact Lenses - Standard Terminology, Tolerances, Measurements And Physicochemical Properties, American National Standard Institute, 2016

Balin A. K., Allen R. G., *Mechanisms of biologic aging*, *Dermatol. Clin.*, 1986, 4:347–58

Barja G., *Endogenous oxidative stress: relationship to aging, longevity and caloric restriction*, *Ageing Res. Rev.*, 2002, 1(3):397-411

Bergmann M., Schütt F., Holz F. G., Kopitz J., *Inhibition of the ATP-driven proton pump in RPE lysosomes by the major lipofuscin fluorophore A2-E may contribute to the pathogenesis of age-related macular degeneration*, *FASEB J*, 2004, 18(3):562-4

Bergmanson J. P., Pitts D. G., Chu L. W., *Protection from harmful UV radiation by contact lenses*, *J Am. Optom. Assoc.*, 1988;59:178–182

Bergmanson J. P., Pitts D. G., Chu L. W., *The efficacy of a UV-blocking soft contact lens in protecting cornea against UV radiation*, *Acta. Ophthalmol.*, 1987, 65:279–286

Bernstein P. S., *The role of lutein and zeaxanthin in protection against age-related macular degeneration*, Acta Horti, 2015, 1106:153-160

Bhutto I., Luttj G., *Understanding age-related macular degeneration (AMD): relationships between the photoreceptor/retinal pigment epithelium/Bruch's membrane/ choriocapillaris complex*, Mol. Aspect. Med. 33 (4), 2016, 295–317

Bielski B. H. J., Cabelli D. E., Arudi R. L., *Reactivity of HO₂/O⁻² Radicals in Aqueous Solution*, J Phys. Chem. Ref. Data, 1985, 14:1041–1100

Blumthaler M., Webb A. R., Seckmeyer G., Bais A. F., Huber M., Mayer B., *Simultaneous spectroradiometry: a study of solar UV irradiance at two altitudes*, Geophys Res. Lett., 1994, 21(25):2805–2808

Boettner E. A., Wolter J. R., *Transmission of the Ocular Media*, Inv. Ophthalm. Vis. Sci., 1962, 1(6):776-83

Bone R. A., Landrum J. T., Friedes L. M., Gomez C. M., Kilburn M. D., Menendez E., Vidal I., Wang W., *Distribution of lutein and zeaxanthin stereoisomers in the human retina*, Exp. Eye Res. 1997, 64:211–218

Bone R. A., Landrum J. T., Hime G. W., Cains A., Zamor J., *Stereochemistry of the human macular carotenoids*, Invest. Ophthalm. Vis. Sci, 1993, 34, 2033–2040

Boulton M., Dontsov A., Jarvis-Evans J., Ostrovsky M., Svistunenko D., *Lipofuscin is a photoinducible free radical generator*, J Photochem. Photobiol. B, 1993, 19(3):201-4

Boulton M., Dontsov A., Jarvisevans J., Ostrovsky M., Svistunenko D. *Lipofuscin is a photoinducible free-radical generator*, J Photochem. Photobiol. B, 1993, 19: 201–204

Boulton M., Rozanowska M., Rozanowski B., *Retinal photodamage*, J Photochem. Photobiol. B., 2001, 64(2-3):144-61

Bradnam M. S., Montgomery D. M., Moseley H., Dutton G. N., *Quantitative assessment of the blue-light hazard during indirect ophthalmoscopy and the increase in the “safe” operating period achieved using a yellow lens*. Ophthalmology, 1995, 102:799–804

- Brinkmann R., Huttman G., Rogener J., Roider J., Birngruber G., Lin C. P.,** *Origin of retinal pigment epithelium cell damage by pulsed laser irradiance in the nanosecond to microsecond time regimen*, *Laser Surg. Med.*, 2000, 27:451–464
- Bucci M. G.,** *Oftalmologia*, Società Editrice Universo, Roma, 1999, pp. 268-9
- Cabrera M. P., Chihuailaf R. H.,** *Antioxidants and the Integrity of Ocular Tissues*. *Vet. Med. Intern.*, 2011, 1–8
- Calisi D.,** *Luce ed ombra nella rappresentazione. Rilettura storica e sperimentazioni eidomatiche*, Aracne editrice int.le S.r.l., 2015
- Chalam K. V., Khetpal V., Rusovici R., Balaiya S.,** *A review: role of ultraviolet radiation in age-related macular degeneration*, *Eye Contact Lens*, 2011, 37(4):225-32
- Chandler H.,** *Ultraviolet Absorption by Contact Lenses and the Significance*
- Cicerone C. M.,** *Cones survive rods in the light-damaged eye of the albino rat*, *Science*, 1976, 194: 1183–1185
- Coroneo M. T.,** *Pterygium as an early indicator of ultraviolet insolation: a hypothesis*, *Br. J Ophthalmol.*, 1993, 77:734–739
- Cruz-Guilloty F., Saeed A. M., Echegaray J. J., Duffort S., Ballmick A., Tan Y., Betancourt M., Viteri E., Ramkhellawan G. C., Ewald E., Feuer W., Huang D., Wen R., Hong L., Wang H., Laird J. M., Sene A., Apte R. S., Salomon R. G., Hollyfield J. G., Perez V. L.,** *Infiltration of proinflammatory m1 macrophages into the outer retina precedes damage in a mouse model of age-related macular degeneration*, *Int. J. Inflamm.*, 2013, 2013:503725
- Davies S., Elliott M. H., Floor E.,** *Photocytotoxicity of lipofuscin in human retinal pigment epithelial cells*, *Free Radic. Biol. Med.*, 2001, 31: 256–265
- Delmelle M.,** *Retinal sensitized photodynamic damage to liposomes*, *Photochem. Photobiol.*, 1978, 28(3):357-60
- Delori F. C., Goger D. G., Dorey C. K.,** *Age-related accumulation and spatial distribution of lipofuscin in RPE of normal subjects*, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2001, 42: 1855–1866

- Dillon J., Gaillard E. R., Bilski P., Chignell C. F., Reszka K. J.**, *The photochemistry of the retinoids as studied by steady-state and pulsed methods*, Photochem. Photobiol., 1996, 63(5):680-5
- Dorey C. K., Khouri G. G., Syniuta L. A., Curran S. A., Weiter J. J.**, *Superoxide production by porcine retinal pigment epithelium in vitro*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1989, 30:1047–1054
- Eldred G. E.** (1998): *Lipofuscin and other lysosomal storage deposits in the retinal pigment epithelium* in “The Retinal Pigment Epithelium: Function and Disease”, Marmor M. F., Wolfensberger T. J. (eds), New York: Oxford University Press, 1998, 651–668
- Esterbauer H., Schaur R. J., Zollner H.**, *Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes*, Free Radic. Biol. Med. 11, 1991, 81–128
- Feeney-Burns L., Hilderbrand E. S., Eldridge S.**, *Aging human RPE: morphometric analysis of macular, equatorial, and peripheral cells*, Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1984, 25(2):195-200
- Foote C. S.**, *Photooxidation of biological model compounds* in “Oxygen and Oxy-Radicals in Chemistry and Biology” Rodgers M. A. J., E.L. Powers (Eds.), Academic Press, New York, 1981, pp. 425–439
- Forrester J.V., Xu H.**, *Good news-bad news: the Yin and Yang of immune privilege in the eye*, Front. Immunol. 3, 2012, 338
- Frank R. N., Amin R. H., Puklin J. E.**, *Antioxidant enzymes in the macular retinal pigment epithelium of eyes with neovascular age-related macular degeneration*, A J Ophthalmol., 1999, 127(6):694–709
- Friedman E., Kuwabara T.**, *The retinal pigment epithelium. IV. The damaging effects of radiant energy*. Arch. Ophthalmol., 1968, 80:265–79
- Gaillard E.R., Merriam J., Zheng L., Dillon J.**, *Transmission of light to the young primate retina: possible implications for the formation of lipofuscin*, Photochem. Photobiol. 87, 2011, 18e21

Geiger P., Barben M., Grimm C., Samardzija M., *Blue light-induced retinal lesions, intraretinal vascular leakage and edema formation in the all-cone mouse retina*, Cell. Death Dis., 2015, 6:e1985

Giannos S. A., Kraft E. R., Lyons L. J., Gupta P. K., *Spectral Evaluation of Eyeglass Blocking Efficiency of Ultraviolet/High-energy Visible Blue Light for Ocular Protection*, Optom. Vis. Sci., 2019, 96(7):513-522

Girotti A. W., *Photodynamic lipid peroxidation in biological systems*. Photochem. Photobiol., 1990, 51:497–509

Girotti A. W., *Photosensitized oxidation of membrane lipids: Reaction pathways, cytotoxic effects, and cytoprotective mechanisms*, J Photochem. Photobiol. B Biol., 2001, 63:103–113

Glickman R. D., *Phototoxicity to the Retina: Mechanisms of Damage*, Int. J. Toxicol., 2002, 21(6):473-90

Grimm C., Remé C. E., Rol P. O., Williams T. P., *Blue light's effects on rhodopsin: photoreversal of bleaching in living rat eyes*, Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2000a, 41(12):3984-90

Grimm C., Wenzel A., Hafezi F., Yu S., Redmond T. M., Remé C. E., *Protection of Rpe65-deficient mice identifies rhodopsin as a mediator of light-induced retinal degeneration*, Nat. Genet., 2000b, 25(1):63-6

Grimm C., Wenzel A., Samardzija M., Remé C. E., *Molecular mechanisms of light-induced photoreceptor apoptosis and neuroprotection for retinal degeneration*, Prog. Retin. Eye Res., 2005, 24(2):275-306

Groh M.J., Michelson G., Langhans M.J., Harazny J., *Influence of age on retinal and optic nerve head blood circulation*, Ophthalmology 103 (3), 1996, 529e534

Hafezi F., Marti A., Munz K., Remé C. E., *Light-induced apoptosis: differential timing in the retina and pigment epithelium*, Exp. Eye Res., 1997, 64(6):963-70

Hafezi F., Steinbach J. P., Marti A., Munz K., Wang Z. Q., Wagner E. F., Aguzzi A., Remé C. E., *The absence of c-fos prevents light-induced apoptotic cell death of photoreceptors in retinal degeneration in vivo*, Nat. Med., 1997, 3(3):346-9

Hagins W. A., *The quantum efficiency of bleaching of rhodopsin in situ*, J. Physiol., 1955, 129(1):22-3P

Ham W. T., Ruffolo J. J., Mueller H. A., Clarke A. M., Moon M. E., *Histologic analysis of photochemical lesions produced in rhesus retina by short-wavelength light*, Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1978, 17: 1029–1035

Hammond B. R., Johnson B. A., George E. R., *Oxidative photodegradation of ocular tissues: beneficial effects of filtering and exogenous antioxidants*, Exp. Eye Res., 2014, 129:135-50

Hammond B. R., Lien E., 2013. *Dietary prevention and treatment of ocular disease*, Duane's Atlas Ophthalmol., 2013, 34 (3), 1e25

Hammond B. R., Wooten B. R., Celentano J. C., *Carotenoids in the retina and lens: possible acute and chronic effects on human visual performance*, Arch. Biochem. Biophys, 2001, 385:41–46

Handelman G. J., Snodderly D. M., Krinsky N. I., Russe M. D., Adler A. J., *Biological control of primate macular pigment. Biochemical and densitometric studies*, Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1991, 32:257–267

Hao W., Wenzel A., Obin M. S., Chen C. K., Brill E., Krasnoperova N. V., Eversole-Cire P., Kleyner Y., Taylor A., Simon M. I., Grimm C., Remé C. E., Lem J., *Evidence for two apoptotic pathways in light-induced retinal degeneration*, Nat. Genet., 2002, 32(2):254-60

Hardy P., Abran D., Li D.Y., Fernandez H., Varma D.R., Chemtob S., *Free radicals in retinal and choroidal blood flow autoregulation in the piglet: interaction with prostaglandins*, Investig. Ophthalmol. Vis. Sci. 35 (2), 1994, 580e591

Hubbard R., Kropf A., *The action of light on rhodopsin*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1958, 44(2):130–139

Hunter J.J., Morgan J.I., Merigan W.H., Sliney D.H., Sparrow J.R., Williams D.R., *The susceptibility of the retina to photochemical damage from visible light*, Prog. Retin. Eye Res. 31, 2012, 18e42

Irvine A. R., Wood I., Morris B. W., *Retinal damage from the illumination of the operating microscope. An experimental study in pseudophakic monkeys.* Arch. Ophthalmol., 1984, 102:1358–65

ISO 21348, Space environment (natural and artificial) — Process for determining solar irradiances, International Organization for Standardization, 2007

Jacques S. L., *Laser-tissue interactions. Photochemical, photothermal, and photomechanical,* Surg. Clin. N. Am., 1992, 72:531–558

Jaffe G. J., Wood I. S., *Retinal phototoxicity from the operating microscope: A protective effect by the fovea,* Arch. Ophthalmol., 1988, 106(4):445-6

Jarrett S. G., Lin H., Godley B. F., Boulton M. E., *Mitochondrial DNA damage and its potential role in retinal degeneration,* Prog. Retin. Eye Res., 2008, 27: 596–607

Jiao H., Natoli R., Valter K., Provis J. M., Rutar M., 1995. *Spatiotemporal cadence of macrophage polarisation in a model of light-induced retinal degeneration,* PLoS One, 1995, 10(12):e0143952

Jin G.F., Hurst J.S., Godley B.F., *Rod outer segments mediate mitochondrial DNA damage and apoptosis in human retinal pigment epithelium,* Curr. Eye Res. 23, 2001, 11–19

Jørgensen K., Skibsted L. H., *Carotenoid scavenging of radicals. Effect of carotenoid structure and oxygen partial pressure on antioxidative activity,* Z Lebensm. Unters. Forsch., 1993, 196(5):423-9

Kahle A. B., Weill G., Carter W. D., Ulaby F. T., Siqueira P., Nashashibi A., Sarabandi K., RADIATION (SOLAR), Proceedings of the IEEE, 2003, 63:137-147

Kandel E. R., Schwartz J. H., Jessel T. M., Siegelbaum S. A., Hudspeth A. J., *Principi di Neuroscienze,* Casa editrice Ambrosiana, 2014, pp. 582-5

Kannan K., Jain S. K., *Oxidative stress and apoptosis,* Pathophysiology, 2000, 7(3):153-163

Kerkness C. M., *Do ophthalmic instruments pose a hazard of light-induced damage to the eye?* In “Hazards of Light; Myths & Realities; Eye and Skin”, 1st

edition (Edited by J. Cronly-Dillon, E. S. Rosen and J. Marshall), Pergamon Press, Oxford, 1986, pp. 179-186

Kerr J. B., Fioletov V. E., *Surface ultraviolet radiation*, AtmosphereOcean, 2008, 46(1):159-184

Kerr J. F., Wyllie A. H., Currie A. R., *Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics*, Br. J Cancer., 1972, 26:239–257

Keys S. A., Zimmerman W. F., *Antioxidant activity of retinol, glutathione, and taurine in bovine photoreceptor cell membranes*, Exp Eye Res, 1999, 68:693–702

Khan A., Wilson T., *Reactive oxygen species as cellular messengers*, Chem. Biol., 1995, 437e445

King A., Gottlieb E., Brooks D. G., Murphy M. P., Dunaief J. L., *Mitochondria-derived reactive oxygen species mediate blue light-induced death of retinal pigment epithelial cells*, Photochem Photobiol., 2004, 79(5):470-5

Krinsky N. I. (1989). *Antioxidant functions of carotenoids*. Free Rad. Biol. Med., 1989, 7(6):617–635

Landrum J. T., Bone R. A., *Lutein, zeaxanthin, and the macular pigment*, Arch. Biochem. Biophys. 2001, 385:28–40

Leinonen J., Laatikainen L., *The decrease of visual acuity in cataract patients waiting for surgery*, Acta Ophthalm. Scand., 1999, 77(6):681-4

Leszczynski D., Pitsillides C. M., Pastila R. K., Rox Anderson R., Lin C. P., *Laser-beam-triggered microcavitation: A novel method for selective cell destruction*, Radiat. Res., 2001, 156:399–407

Leveillard T., Mohand-Said S., Lorentz O., Hicks D., Fintz A. C., Clerin E. et al. *Identification and characterization of rod-derived cone viability factor*, Nat. Genet., 2004; 36: 755–759

Liang F. Q., Godley B. F., *Oxidative stress-induced mitochondrial DNA damage in human retinal pigment epithelial cells: a possible mechanism for RPE aging and age-related macular degeneration*, Exp. Eye Res., 2003, 76: 397–403

- Lin C. P., Kelly M. W.**, *Microcavitation and cell injury in RPE following short-pulsed laser irradiation* in “Laser-tissue interaction XIII”, Proceedings of SPIE, vol. 2975, ed. S. L. Jacques, Bellingham, 1997, 174–179
- Lindstrom R. L., Doddi N.**, *Ultraviolet light absorption in intraocular lenses*, J Cataract Refract. Surg., 1986; 12:285–289
- Livrea M. A., Tesoriere L., Freisleben H.-F.**, *Vitamin A as an antioxidant*, in: E. Cadenas, L. Packer (Eds.), Handbook of Antioxidants, Marcel Dekker, New York, Basel, Hong Kong, 1996, pp. 371–405
- Mainster M. A.**, *Intraocular lenses should block UV radiation and violet but not blue light*, Arch. Ophthalmol., 2005, 123(4):550-5
- Mainster M. A.**, *Violet and blue light blocking intraocular lenses: photoprotection versus photoreception*, Br. J Ophthalm., 2006, 90(6):784–792
- Mainster M., Ham W., Delori F.**, *Potential retinal hazards. Instrument and environmental light sources*, Ophthalmology, 1983, 90:927-32
- Margrain T.H., Boulton M., Marshall J., Sliney D.H.**, *Do blue light filters confer protection against age-related macular degeneration?*, Prog. Retin. Eye Res., 2004, 23:523–531
- Michael R., Wegener A.**, *Estimation of safe exposure time from an ophthalmic operating microscope with regard to ultraviolet radiation and blue-light hazards to the eye*, J Opt. Soc. Am. A Opt. Image Sci. Vis., 2004, 21:1388–92
- Mohand-Said S., Deudon-Combe A., Hicks D., Simonutti M., Forster V., Fintz A. C., Léveillard T., Dreyfus H., Sahel J. A.**, *Normal retina releases a diffusible factor stimulating cone survival in the retinal degeneration mouse*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1998, 95: 8357–8362
- Moon J., Yun J., Yoon Y. D., Park S. I., et al.**, *Blue light effect on retinal pigment epithelial cells by display devices*, Integr. Biol. (Camb.), 2017, 9:436–443
- Moore L., Ferreira J. T.**, *Ultraviolet (UV) transmittance characteristics of daily disposable and silicone hydrogel contact lenses*, Contact Lens Ant. Eye, 2006, 29:115-22

Morgan G., *The evolving science of blue light*, TechShield, 2017. Disponibile nel sito: <https://www.techshieldblue.com/uploads/8/5/2/9/85290858/the-evolving-science-of-blue-light.pdf> [Accesso il 26/08/2019]

Nakamura M., Yako T., Kuse Y., Inoue Y., Nishinaka A., Nakamura S., Shimazawa M., Hara H., *Exposure to excessive blue LED light damages retinal pigment epithelium and photoreceptors of pigmented mice*, *Exp. Eye Res.*, 2018, 177:1-11

Narimatsu T., Ozawa Y., Miyake S., Kubota S., Yuki K., Nagai N., Tsubota K., *Biological effects of blocking blue and other visible light on the mouse retina*, *Clin. Exp. Ophthalmol.*, 2014, 42(6):555-63

Noell W. K., Walker W., Kang B., Berman S., *Retinal damage by visible light*, *Invest Ophthalmol*, 1966, 5: 450–473

O'Hagan J. B., Khazova M., Price L. L., *Low-energy light bulbs, computers, tablets and the blue light hazard*. *Eye (Lond)*, 2016; 30:230–3

on the Ocular Anterior Segment, *Eye Contact Lens*, 2011, 37(4):259-66

Ostrin L. A., Abbott K. S., Queener H. M., *Attenuation of short wavelengths alters sleep and the ipRGC pupil response*, *Ophthalmic Physiol. Opt.*, 2017, 37:440–450

Parver L. M., Auker C. R., Fine B. S., *Observations on monkey eyes exposed to light from an operating microscope*, *Ophthalmology*, 1983, 90:964–72

R.C. Rose, A.M. Bode, *Ocular ascorbate transport and metabolism*, *Comp. Biochem.*

Rabinovitch M., *Professional and non-professional phagocytes: an introduction*, *Trends Cell. Biol.*, 1995, 5 (3), 85–87

Rahmani S., Mohammadi Nia M., Akbarzadeh Baghban A., Nazari M, R., Ghassemi-Broumand M., *Spectral transmittance of UV-blocking soft contact lenses: A comparative study*, *Cont. Lens Anterior Eye*, 2014, 37(6):451-4

Rapp L. M., Smith S. C., *Evidence against melanin as the mediator of retinal phototoxicity by short-wavelength light*, *Exp. Eye Res.*, 1992, 54(1):55-62

Reading V. M., Weale R. A., *Macular pigment and chromatic aberration*, J. Opt. Soc. Am., 1974, 64:231–238

Reverdy G., *Protezione dagli uv nelle lenti oftalmiche*, Professione Ottico, Medical Evidence Edizione, 2010, Anno terzo, Numero 19

Roberts J. E., Kukielczak B. M., Hu D. N., Miller D. S., Bilski P., Sik R. H., Motten A. G., Chignell C. F., *The role of A2E in prevention or enhancement of light damage in human retinal pigment epithelial cells*, Photochem. Photobiol., 2002, 75(2):184-90

Rose R. C., Bode A. M., *Ocular ascorbate transport and metabolism*, Comp. Biochem. Physiol. A Comp. Physiol., 1991, 100:273–285

Rózanowska M., Jarvis-Evans J., Korytowski W., Boulton M. E., Burke J. M., Sarna T., *Blue light-induced reactivity of retinal age pigment. In vitro generation of oxygen-reactive species*, J Biol. Chem., 1995, 270(32):18825-30

Rózanowska M., Pawlak A., Rózanowski B., Skumatz C., Zareba M., Boulton M., Burke J. M., Sama T., Simon J. D., *Age-related changes in the photoreactivity of retinal lipofuscin granules: role of chloroform-insoluble components*, Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2004, 45(4):1052-60

Sadava D., Heller C. K., Orians G. H., Purves W. K., Hillis D. M., *Biologia.blu: dalle cellule agli organismi*, Zanichelli editore, Bologna, 2011, pp. 125-8

Sakai N., Decatur J., Nakanishi K., Eldred G. E., *Ocular Age Pigment “A2-E”: An Unprecedented Pyridinium Bisretinoid*, J. Am. Chem. Soc., 1996, 118(6):1559–1560

Salvi S. M., Akhtar S., Currie Z., *Ageing changes in the eye*, Postgrad. Med. J., 2006, 82(971): 581–587

Samokyszyn V. M., Marnett L. J., *Inhibition of liver microsomal peroxidation by 13-cis retinoic acid*, Free Radic. Biol. Med., 1990, 8:491–496.

Scheffrin B. E., Tregear S. J., Harvey L. O. Jr., et al., *Senescent changes in scotopic contrast sensitivity*, Vis. Res., 1999, 39:3728–36

- Schütt F., Bergmann M., Holz F. G., Kopitz J.**, *Isolation of intact lysosomes from human RPE cells and effects of A2E on the integrity of the lysosomal and other cellular membranes*, Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol., 2002, 240: 983–988
- Seko Y., Pang J., Tokoro T., Ichinose S., Mochizuki M.**, *Blue light-induced apoptosis in cultured retinal pigment epithelium cells of the rat*, Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol., 2001, 239(1):47-52
- Shaban H., Gazzotti P., Richter C.**, *Cytochrome c oxidase inhibition by N-retinyl-N-retinylidene ethanolamine, a compound suspected to cause age-related macula degeneration*, Arch. Biochem. Biophys., 2001, 394(1):111-6
- Shamsi F. A., Boulton M.**, *Inhibition of RPE lysosomal and antioxidant activity by the age pigment lipofuscin*, Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2001, 42(12):3041-6
- Shamsi F. A., Boulton M.**, *Inhibition of RPE lysosomal and antioxidant activity by the age pigment lipofuscin*, Invest. Ophthalmol. Visual Sci., 2001, 42(12):3041-6
- Sliney D. H.**, *How Light Reaches the Eye and Its Components*, Int. J Toxicol., 2002, 21(6):501–509.
- Sliney D. H.**, *Photoprotection of the Eye—UV Radiation and Sunglasses*, J Photoch. Photobiol. B, 2001, 64:166–75
- Snodderly D. M., Auran J. D., Delori F. C.**, *The macular pigment. II. Spatial distribution in primate retinas*, Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1984, 25:674–685.
- Sowa P., Rutkowska-Talipska J., Rutkowski K., Kosztyła-Hojna B., Rutkowski R.**, *Optical radiation in modern medicine*, Postepy. Dermatol. Alergol., 2013, 30(4):246-251
- Sparrow J. R., Cai, B.**, *Blue light-induced apoptosis of A2E-containing RPE: involvement of caspase-3 and protection by Bcl-2*, Invest. Ophthalm. Vis. Sci., 2001, 42(6):1356-62
- Sparrow J. R., Miller A. S., Zhou J.**, *Blue light-absorbing intraocular lens and retinal pigment epithelium protection in vitro*, J Cataract Refract. Surg., 2004, 30:873–878

Sparrow J. R., Nakanishi K., Parish C. A., *The lipofuscin fluorophore A2E mediates blue light-induced damage to retinal pigmented epithelial cells*, Invest. Ophthalm. Vis. Sci., 2000, 41(7):1981-9

Sparrow J. R., Zhou J., Cai B., *DNA is a target of the photodynamic effects elicited in A2E-laden RPE by blue light illumination*, Invest. Ophthalm. Vis. Sci., 2003, 44(5):2245-51

Sperling H. G., Johnson C., Harwerth R. S., *Differential spectral photic damage to primate cones*, Vision Res., 1980, 20:1117-25

Srivastava S., Chandra A., Bhatnagar A., Srivastava S. K., Ansari N. H., *Lipid peroxidation product, 4-hydroxynonenal and its conjugate with GSH are excellent substrates of bovine lens aldose reductase*, Biochem. Biophys. Res. Commun. 217, 1995, 741–746

Stone J., Maslim J., Valter-Kocsi K., Mervin K., Bowers F., Chu Y. et al. *Mechanisms of photoreceptor death and survival in mammalian retina*, Prog. Retin. Eye Res., 1999, 18: 689–735

Strauss O., *The retinal pigment epithelium in visual function*, Physiol. Rev. 85 (3), 2005, 845–881

Suter M., Remé C., Grimm C., Wenzel A., Jäätela M., Esser P., Kociok N., Leist M., Richter C., *Age-related macular degeneration. The lipofusion component N-retinyl-N-retinylidene ethanolamine detaches proapoptotic proteins from mitochondria and induces apoptosis in mammalian retinal pigment epithelial cells*, J Biol. Chem., 2000, 275(50):39625-30

Tate D. J., Miceli Jr. M. V., Newsome D. A., *Phagocytosis and H₂O₂ induce catalase and metallothionein gene expression in human retinal pigment epithelial cells*, Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1995; 36:1271–1279

Tate DJ. Jr., Miceli M. V., Newsome D. A., *Phagocytosis and H₂O₂ induce catalase and metallothionein gene expression in human retinal pigment epithelial cells*, Invest. Ophthalm. Vis. Sci., 1995, 36:1271–9

Taylor H. R., *The biological effects of UV-B on the eye*, Photochem. Photobio., 1989, 50(4):489-92

- Thomsen S.** *Pathologic analysis of photothermal and photomechanical effects of laser-tissue interactions*, Photochem. Photobiol., 1991, 53:825–835
- van Norren D., van de Kraats J.**, *Spectral transmission of intraocular lenses expressed as a virtual age*, Br, J Ophthalmol., 2007, 91(10):1374--5
- Vicente-Tejedor J., Marchena M., Ramírez L., García-Ayuso D., Gómez-Vicente V., Sánchez-Ramos C., de la Villa P., Germain F.**, *Removal of the blue component of light significantly decreases retinal damage after high intensity exposure*, PLoS One, 2018, 13(3):e0194218
- Walker J. S.**, *Dalla meccanica alla fisica moderna*, Vol 3, Linx editori, 2012
- Wang X., Quinn P. J.**, *Vitamin E and its function in membranes*, Progress. Lipid. Res., 1999; 38:309-336
- Wassell J., Davies S., Bardsley W., Boulton M.**, *Photoreactivity of the retinal age pigment lipofuscin*, J Biol. Chem., 1999, 274(34):23828-32
- West S. K., Duncan D. D., Munoz B., et al.** *Sunlight exposure and risk of lens opacities in a population based stud: The Salisbury eye evaluation project*, JAMA, 1998, 280:714–718
- Wilkins A. J., Wilkinson P.**, *A tint to reduce eye-strain from fluorescent lighting? Preliminary observations*, Ophthalmic Physiol. Opt., 1991; 11:172–5
- Williams T. P.**, *Photoreversal of Rhodopsin Bleaching*, J Gen. Physiol., 1964, 47:679-89
- Winkler B. S., Boulton M. E., Gottsch J. D., Sternberg P.**, *Oxidative damage and age-related macular degeneration*, Mol. Vis., 1999, 5:32
- Winslow F.H.**, *Photooxidation of high polymers*, Pure Appl. Chem., 1977, 49:495e502
- Young RW**, *The renewal of photoreceptor cell outer segments*, J Cell. Biol., 1967, 33:61–72
- Yu B.**, *Cellular defenses against damage from reactive oxygen species*, Physiol. Rev., 1994, 74(1):139-62

Yuan Z., Reinach P., Yuan J., *Contrast sensitivity and color vision with a yellow intraocular lens*, Am. J Ophthalmol., 2004, 138(1):138-40