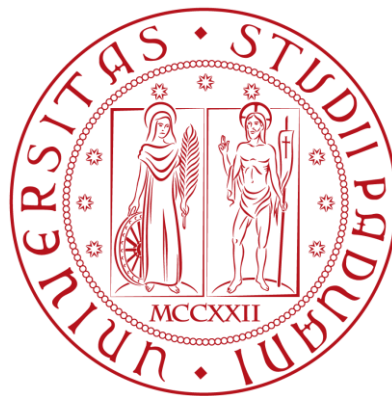


**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**  
**DIPARTIMENTO DI FISICA E ASTRONOMIA**

Corso di Laurea Triennale in  
**OTTICA E OPTOMETRIA**



**TESI DI LAUREA**

**CLD CONTACT LENS DISCOMFORT: LA NUOVA  
FRONTIERA DEI LUBRIFICANTI FISIOLGICI  
PER AUMENTARE LA BAGNABILITÀ DELLE  
LENTI A CONTATTO.**

**RELATORE: Prof. Pietro Gheller**

**LAUREANDA: Giorgia Gaborin**

**MATRICOLA: 1119803**

ANNO ACCADEMICO 2017-2018



*“Ho passato la vita a guardare negli occhi della gente,  
è l'unico luogo del corpo dove forse esiste ancora un'anima.”*

*(José Saramago)*



## **ABSTRACT:**

Il contact lens discomfort è una condizione che affligge metà dei 135 milioni di portatori di lenti a contatto, il quale comporta ad una completa sospensione dell'utilizzo della lente o ad una riduzione delle ore di utilizzo. Quando la lente viene inserita sulla superficie oculare ci sono dei cambiamenti che interessano soprattutto la dinamica palpebrale e la composizione del film lacrimale. La presenza fisica della lente in situ divide il film lacrimale in pre e post lente definendo uno spessore ridotto dello strato lipidico che produce a sua volta un tasso di evaporazione più alto rispetto alla norma; inoltre anche la produzione di mucine viene completamente alterata. Il tutto determina un'aumentata frizione tra lente e lid wiper, la quale è strettamente correlata ad una sensazione di discomfort. Questo evidenzia dunque la forte relazione tra la bagnabilità di superficie della lente a contatto e il comfort oculare. Avere una buona bagnabilità della lente significa infatti avere un buon strato di lubrificazione e dunque un coefficiente d'attrito più basso. Cercare di soddisfare le aspettative di comfort dei portatori deriva quindi dai continui progressi della chimica superficiale, modificando chimicamente la superficie, assorbendo o legando componenti bagnanti di lunga durata sulla superficie durante lo stoccaggio o la cura, o fornendo un sistema interno di bagnatura che rilascia o migra verso la superficie durante l'usura. Molte sono le lenti commerciali che fanno uso di questo. Esse risultano essere sicuramente buone lenti perché diversi studi le definiscono molto più confortevoli rispetto ad altre prive di agenti bagnanti. Tuttavia, non sono lenti eccellenti, vista la continua ricerca scientifica ed industriale nel cercare molecole in grado di garantire una buona performance visiva e di porto anche a fine giornata. Le ultime ricerche si stanno indirizzando sul campo dei lubrificanti fisiologici: l'acido ialuronico e il proteoglicano 4, presenti naturalmente sulla superficie oculare e aventi proprietà molto simili alla mucina. Il primo risulta essere già una realtà consolidata grazie a lacrime artificiali per soggetti con dry eye, soluzioni multiuso e lenti a contatto con questa biomolecola già presenti commercialmente. Studi hanno evidenziato la

capacità di lenti idratate o legate all'HA, di eluirla per molte ore dopo l'inserimento garantendo una bagnabilità duratura. Anche il coefficiente d'attrito è inferiore per le lenti trattate; ciò non è però valido per le lenti idrogel che con HA cross-linkato mostrano un CoF superiore dovuto ad un aumento di rugosità riscontrabile in AFM. Il proteoglicano 4 risulta essere invece una scoperta più attuale. Un recente studio ha dimostrato come sia un buon lubrificante oculare in 40 soggetti affetti da una moderata DED. Per quanto riguarda il campo contattologico altri studi hanno constatato la capacità di PRG4 di aumentare la bagnabilità e ridurre il coefficiente d'attrito delle lenti sia adsorbendo che legando su superfici particolarmente idrofobe. Questo si pensa sia dato dalla natura anfipatica della molecola, la quale infatti riesce a legare anche con lenti idrofile, senza però riuscire a svolgere un'azione di lubrificazione. Si è infine osservato una sinergia tra le due biomolecole, le quali riescono a ridurre ulteriormente il coefficiente d'attrito nelle lenti in silicone idrogel. Questa tesi vuole dunque offrire una panoramica della recente letteratura riguardante i trattamenti che implementano il comfort nel portatore di lenti a contatto. Per un contattologo è infatti fondamentale conoscere i materiali e i trattamenti di cui le lenti sono caratterizzate, per offrire la soluzione più confortevole possibile per ogni singolo soggetto.

# INDICE

|  |    |
|--|----|
| Indice.....  | 1  |
| Introduzione.....  | 5  |
| 1. Concetti introduttivi.....                                      | 7  |
| 1.1. Anatomia superficie oculare .....                             | 7  |
| 1.1.1. Il film lacrimale.....                                      | 8  |
| 1.1.2. Le palpebre e l'ammiccamento.....                           | 12 |
| 1.2. I materiali delle lenti a contatto e la loro evoluzione ..... | 14 |
| 1.2.1. Lenti a contatto idrofile.....                              | 16 |
| 1.2.2. Lenti a contatto SiHy .....                                 | 18 |
| 2. CLD: contact lens discomfort .....                              | 20 |
| 2.1. Valutazione del CLD.....                                      | 20 |
| 2.2. Interazione con la superficie oculare .....                   | 22 |
| 2.2.1. Interazione della lente con il film lacrimale.....          | 22 |
| 2.2.2. Interazione della lente con le palpebre .....               | 24 |
| 2.3. L'influenza dell'attrito nel CLD .....                        | 25 |
| 3. Proprietà della superficie delle lenti .....                    | 27 |
| 3.1. Coefficiente d'attrito e lubrificazione .....                 | 27 |
| 3.1.1. Misurare il CoF .....                                       | 29 |
| 3.2. Bagnabilità e tensione superficiale .....                     | 31 |
| 3.1.2. Misurazione della bagnabilità .....                         | 32 |
| 4. Trattamenti lenti a contatto .....                              | 35 |
| 4.1. Tecnologia al plasma .....                                    | 35 |

|        |  |    |
|--------|--|----|
| 4.2.   | Soluzioni con agenti bagnanti.....                                 | 39 |
| 4.2.1. | HPMC.....  | 39 |
| 4.3    | Legame tra matrice polimerica e agenti umettanti/lubrificanti..... | 41 |
| 4.3.1. | PVP.....   | 41 |
| 4.3.2. | PEG.....   | 43 |
| 4.4.   | Polimerizzazione e rilascio di agenti umettanti/lubrificanti.....  | 47 |
| 4.4.1. | PVA.....   | 47 |
| 5.     | I lubrificanti fisiologici.....                                    | 50 |
| 5.1.   | HA- l'acido ialuronico.....  | 50 |
| 5.1.1. | HA in oftamologia.....   | 51 |
| 5.2.   | HA in contattologia.....   | 52 |
| 5.2.1. | Soluzioni con HA.....  | 53 |
| 5.2.2. | Legame matrice polimerica e HA.....                                | 56 |
| 5.3.   | PRG4.....  | 61 |
| 5.3.1. | PRG4 in oftalmologia.....  | 62 |
| 5.4.   | PRG4 in contattologia.....   | 63 |
| 5.4.1. | Soluzioni con PRG4.....  | 64 |
| 5.4.2. | Legame matrice polimerica e PRG4.....                              | 67 |
| 5.5.   | Sinergia tra HA e PRG4.....  | 69 |
|        | Conclusioni.....   | 73 |
|        | BIBLIOGRAFIA.....  | 75 |



# INTRODUZIONE

Un'applicazione professionale da parte di un contattologo competente presuppone una completa conoscenza delle caratteristiche anatomico-fisiologiche dell'occhio umano, abbinata ad una notevole competenza sui materiali costituenti le lenti a contatto. Ciò è valido soprattutto oggi, date le crescenti esigenze dei portatori, sempre più attenti alle innovazioni ed interessati ai giovamenti che possono portare. I soggetti richiedono sempre più spesso di "indossare" le lenti a contatto dalla mattina alla sera, per lo studio, per il lavoro ed il tempo libero senza avvertire fastidio. I materiali e le caratteristiche chimico-fisiche giocano un ruolo cruciale per un porto duraturo e confortevole. In questa tesi dopo una panoramica introduttiva sulla anatomia-fisiologia della superficie oculare e dell'evoluzione delle lenti a contatto, viene descritto il CLD, il discomfort indotto da lenti a contatto. L'intolleranza dell'uso delle lenti a contatto ha come conseguenza il drop out per il 25% dei portatori, mentre il 25% tende a ridurre la frequenza e la durata d'uso. Recenti studi hanno correlato il discomfort ad un elevato coefficiente d'attrito della lente. Per cui una buona lubrificazione e bagnatura della superficie della lente permette di avere coefficienti d'attrito bassi e questo può essere raggiunto solamente se sulla superficie ci sono spazzole polimeriche idrofile ben formate, in grado di simulare la naturale superficie oculare. Da anni si sono adottate diverse tecniche: dai primi trattamenti al plasma, all'aggiunta in soluzione o nella matrice polimerica di agenti bagnanti e lubrificanti, tutti con l'obiettivo di far sì che la lente risultasse il più confortevole possibile. Negli ultimi anni però si sta aprendo una nuova frontiera per cercare di marginare il problema del discomfort: l'utilizzo di lubrificanti fisiologici come l'acido ialuronico e il proteoglicano 4, presenti naturalmente sulla superficie oculare. Nell'ultimo capitolo si offre dunque una visione dei primi ed attuali studi che incorporando queste biomolecole in soluzione o direttamente nella lente, cercano di

comprendere come esse interagiscono con i diversi materiali per garantire una buona bagnabilità e comfort.

# 1. CONCETTI INTRODUTTIVI

## 1.1. Anatomia superficie oculare

L'occhio umano è il principale organo di senso per la ricezione degli stimoli luminosi, che vengono trasmessi ai centri nervosi dando origine alle sensazioni visive (Treccani, 2010). Esso è in grado quindi di acquisire la luce dall'ambiente circostante, regolarne la sua intensità, focalizzarla e convertire il tutto in segnali ben organizzati che giungono alla corteccia visiva del cervello attraverso il nervo ottico. Tutto questo processo, essenziale per la visione dell'uomo, è reso possibile da tessuti e strutture particolarmente specializzate.

Quando si parla di superficie oculare ci si riferisce alla parte anteriore dell'occhio, rappresentante l'interfaccia tra occhio e ambiente esterno. Venne descritta per la prima volta da Thorft nel 1978, il quale definì la superficie oculare come un'unità integrata comprendente la cornea, la congiuntiva, la ghiandola lacrimale e le palpebre (Thorft 1978). Successivamente nel 2007 Gipson estese tale descrizione includendo le ghiandole lacrimali accessorie, le ghiandole di Meibomio, le ciglia con le loro ghiandole associate di Moll e Zeiss e le componenti del sistema di drenaggio lacrimale (Gipson, 2007). Nel 2013 durante il workshop internazionale dell'organizzazione TFOS (Tear Film Ocular Surface), la superficie oculare è stata definita come la superficie mucosa continua, che inizia centralmente con la cornea e si estende attraverso il limbus, alla congiuntiva bulbare, alla congiuntiva dei fornici, fino ad arrivare alla congiuntiva tarsale delle palpebre (Efron, 2013).

La cornea costituisce la parte anteriore della tunica esterna dell'occhio continuandosi a livello del limbus sclero-corneale con la porzione posteriore chiamata sclera. La cornea è la struttura con il più alto potere refrattivo dell'occhio, è trasparente, avascolare e particolarmente ricca di terminazioni nervose. Anatomicamente è caratterizzata dalla presenza di 5 strati. Quello più

esterno chiamato epitelio, è una stratificazione di cellule squamose non cheratinizzate legate attraverso strette giunzioni. Presenta superficialmente delle micropliche, estroflessioni che ne vanno ad aumentare la superficie e che garantiscono una buona interazione con il film lacrimale. Inoltre, le membrane apicali di queste cellule esprimono il glicocalice, che composto da mucine transmembrana, conferisce umettabilità e lubrificazione alla superficie oculare. La cornea proprio per la presenza di questo strato che non risulta essere liscio ed omogeneo presenta un coefficiente di attrito con la palpebra di circa 0,011 (Dati Aston Biomaterials Research Unit; Zeri, 2009). La successiva membrana di Bowman separa l'epitelio dallo stroma. Con uno spessore di ben 500 micron, all'interno dello stroma si distinguono le lamelle e i cheratociti stromali. Le lamelle, ossia fibre collagene, immerse in una matrice di proteoglicani, sono disposte parallelamente alla superficie garantendo trasparenza alla cornea. La membrana di Descemet separa invece lo stroma dall'endotelio. Quest'ultimo costituito da uno solo strato di cellule poligonali, ha una funzione molto importante ossia la regolazione dello stato idrico corneale a livello stromale attraverso la pompa sodio/potassio, che conferendo uno stato di parziale deturgescenza, preserva la trasparenza corneale (Sampalmieri, 1993).

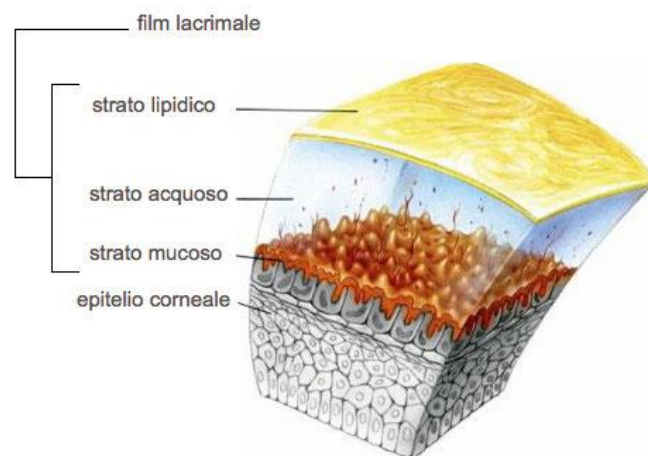
La congiuntiva, invece, è una mucosa trasparente che ricopre la superficie interna delle palpebre, per poi riflettersi sulla superficie oculare, congiungendo palpebre con globo oculare. Istologicamente la congiuntiva è composta da uno strato epiteliale e stromale. L'epitelio risulta essere fondamentale per il film lacrimale perché all'interno contiene le cellule caliciformi (globet cell), strutture ghiandolari mucose unicellulari di circa 25 micron di diametro, capaci di secernere le molte mucine che si trovano nella lacrima (Bonini, 1993).

### **1.1.1. Il film lacrimale**

Il film lacrimale è un fluido complesso caratterizzato dalla presenza di acqua, mucine, proteine, lipidi e sali, secreti dalle ghiandole lacrimali principale ed

accessorie, dalle ghiandole di Meibomio e dall'epitelio corneale e congiuntivale. Il film lacrimale, come parte del sistema di superficie oculare, ha diversi ruoli che includono la fornitura di una superficie refrattiva liscia, la protezione della superficie oculare con le sue funzioni antibatteriche e immunitarie, la fornitura di ossigeno, la rimozione di metaboliti e la lubrificazione (Tiffany 2008).

L'idea di come fosse strutturato il film lacrimale venne proposto da Wolf che nel 1949 parla di un film multistrato dove a partire dall'esterno troviamo lo strato lipidico, acquoso e mucoso. È proprio quest'ultimo strato che già nel 1973 venne da Holly enfatizzato per il suo ruolo preponderante, tanto che il nuovo concetto di film lacrimale è uno strato lipidico più esterno e una successiva fase acquosa attraversata da differenti concentrazioni di mucina (Herranz, 2012).



*Figura 1.1 -Il film lacrimale e i suoi strati. Da corriere della sera- dizionario della salute- lacrima.*

Nonostante il fatto che questi strati siano dunque poco distinguibili, possono essere analizzati separatamente.

Lo strato lipidico, prodotto dalle ghiandole di Meibomio, è lo strato più esterno e con uno spessore di  $0,1 \mu\text{m}$  ha una triplice azione:

- a. Evitare l'evaporazione del film sottostante;
- b. Abbassare la tensione superficiale delle lacrime poiché lo strato lipidico ad ogni ammiccamento viene ricostruito;

c. Prevenire la contaminazione tra lacrime e lipidi della pelle, altamente polari, che destabilizzerebbero il film lacrimale; ciò è reso possibile dalla natura di questo strato che consiste in una parte esterna di lipidi neutri e una parte interna di lipidi polari anfipatici (Linsen e Missotten 1990).

Lo strato intermedio è invece lo strato acquoso che costituisce circa il 98% dell'intero spessore del film lacrimale (7-10  $\mu\text{m}$ ). Viene secreto dalle ghiandole accessorie di Kraus e di Wolfring e dalla secrezione riflessa della ghiandola lacrimale principale. All'interno oltre all'acqua, si trovano:

- elettroliti come sodio, potassio, cloro, calcio ecc., che contribuiscono al mantenimento della normale pressione osmotica che ad occhio aperto risulta essere di circa 305 mOsm/L;
- sostanze organiche a basso ed alto peso molecolare come proteine quali lisozima, lattoferrina e immunoglobuline As che hanno una fondamentale azione batteriolitica;
- carbonati e bicarbonati che con l'effetto tampone sono essenziali per regolare il pH lacrimale che varia da 6,5 a 7,7.

Le funzioni principali che svolge la fase acquosa sono:

- a. Separare fisicamente il bulbo dalle palpebre riducendo gli attriti;
- b. Veicolare l'ossigeno atmosferico per il sostentamento del metabolismo corneale;
- c. Idratare la cornea;
- d. Favorire la rimozione di cellule morte e corpi estranei. (N.Pescosolido, 1993)

Lo strato mucoso, ossia lo strato più profondo del film lacrimale si presenta con uno spessore di 0,02-0,05  $\mu\text{m}$ . La mucina è una sostanza ricca di glicoproteine, un composto ad alto peso molecolare a carica negativa formata da proteine e carboidrati che si distendono sui microvilli e le micropliche dell'epitelio corneale e congiuntivale; l'adesione è permessa dal glicocalice, un mucopolisaccaride

complesso a struttura filamentosa. A livello oculare, queste glicoproteine si suddividono in due differenti gruppi:

- mucine transmembrana;
- mucine secretorie.

Al primo gruppo appartengono le mucine MUC1, MUC4 e MUC16. Queste, a partire dalla membrana cellulare, si estendono per parecchi nanometri all'interno dello strato muco-acquoso del film lacrimale, consentendo alla lacrima uno stabile ancoraggio.

Al secondo gruppo appartiene la MUC5AC, una mucina con proprietà gel-forming che viene prodotta dalle goblet cell (cellule caliciformi), localizzate all'interno dell'epitelio congiuntivale. La MUC5AC contribuisce a rendere il film lacrimale un liquido non newtoniano, dotato di particolari proprietà reologiche quali la viscoelasticità di tipo pseudoplastico, ovvero la capacità di diventare meno viscoso con l'aumentare della forza applicata (movimento delle palpebre) riducendo in tal modo l'attrito tra superficie oculare e palpebrale (Mantelli e Argueso, 2008). I valori di viscosità delle normali lacrime umane sono stati riportati nell'intervallo di  $1 \text{ mPa} \cdot \text{s}$  ad alta velocità di taglio ( $\sim 120 \text{ mm/s}$ ) fino a  $10 \text{ mPa} \cdot \text{s}$  alla velocità di taglio più bassa ( $\sim 0 \text{ mm/s}$ ) (Craig, 2013).

Il liquido lacrimale, una volta prodotto viene distribuito sulla cornea e sulla congiuntiva attraverso l'ammiccamento palpebrale, ma il 75-90% del volume totale va poi a depositarsi sui menischi lacimali ai bordi delle palpebre (Mishima et al., 1966). Infatti, lo spessore del film lacrimale è di circa 30-50  $\mu\text{m}$  subito dopo l'ammiccamento, fino al suo spessore minimo di 4  $\mu\text{m}$ . Mishima et al., hanno misurato che il volume totale di lacrime è di circa  $7,0 \pm 2 \mu\text{l}$  il quale tende progressivamente a diminuire con l'aumentare dell'età. La velocità di flusso è di circa  $1 \mu\text{l}/\text{min}$  mentre secondo le misurazioni eseguite da Maurice, la produzione di lacrime è di  $1,2 \mu\text{m}/\text{l}$  in condizioni basali e fino a  $4,4 \mu\text{m}/\text{l}$  nel caso di irritazione (Severini, 2003). Il film lacrimale drena attraverso i puntini lacimali e passando per i canalicoli e il sacco lacrimale, giunge al dotto naso lacrimale; circa un 0,085

$\mu\text{l}/\text{min}$  viene invece perso attraverso evaporazione e parte anche attraverso la congiuntiva per effetto della pompa sodio potassio (Pescosolido, 1993).

### **1.1.2. Le palpebre e l'ammiccamento**

Le palpebre sono due pieghe mucoso-cutanee, una superiore ed una inferiore, unite a livello del canto esterno ed interno, dove in quest'ultimo troviamo la presenza del puntino lacrimale. Le palpebre sono caratterizzate da un margine esterno con la presenza delle ciglia, dove sono localizzati i follicoli delle ghiandole di Moll e di Zeiss e un margine interno denominato anche giunzione muco-cutanea dove è possibile osservare gli orifizi delle ghiandole di Meibomio. Le palpebre sono costituite da quattro strati che dall'esterno verso l'interno sono:

- Strato cutaneo: sottile, mobile ed elastico;
- Strato muscolare: formato dal muscolo orbicolare della palpebrale e dal muscolo elevatore della palpebra. Il primo caratterizzato da fasci di fibre concentriche, è innervato dal VII nervo cranico; si suddivide a sua volta in muscolo di Riolo (porzione corrispondente al bordo palpebrale) e muscolo di Horner (circonda il sacco e i puntini lacrimali). Il muscolo elevatore della palpebra invece è presente solamente nella palpebra superiore; innervato dal III nervo cranico fa parte dei muscoli oculo motori. In realtà però questo muscolo ha una parte più profonda caratterizzata da fibre muscolari lisce con innervazione dunque simpatica, chiamato muscolo di Muller.
- Strato fibroso: è costituito dal setto orbitario e dal tarso che rappresenta la struttura di sostegno della palpebra.
- Strato congiuntivale: è formato dalla congiuntiva palpebrale tarsale.



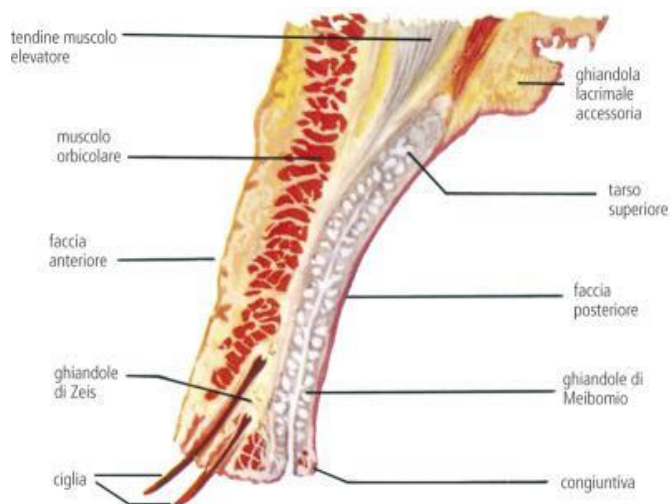


Figura 1.2-Sezione anatomica della palpebra e le sue componenti.  
Da corriere della sera-dizionario della salute-palpebra.

Una caratteristica fondamentale della palpebra è il margine palpebrale, noto anche come lid wiper. Esso rappresenta il punto di transizione tra l'epitelio cheratinizzato della pelle e l'epitelio non cheratinizzato della congiuntiva palpebrale. Durante il battito delle ciglia, chiamato ammiccamento, il lid wiper rappresenta il punto di contatto con la cornea, risultando essere il principale responsabile della forza pressoria esercitata. All'interno contiene anche cellule caliciformi che producendo muco, riducono l'attrito con la cornea (Efron, 2013).

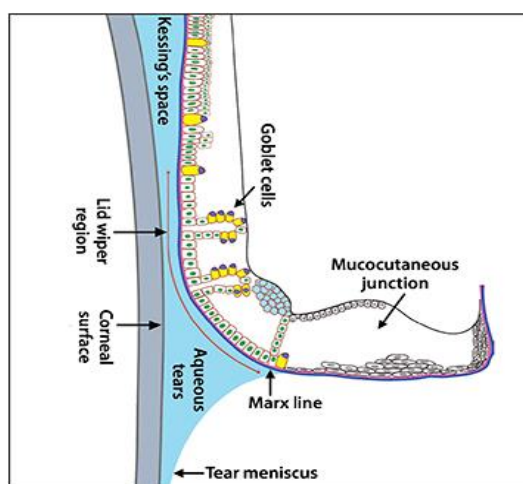


Figura 1.5- Lid wiper. Da Jalaiah Varikooty - What Is Lid Wiper Epitheliopathy? - Contact lens spectrum, 2015.

Le palpebre insieme alle ciglia svolgono principalmente un'azione di protezione del bulbo oculare da possibili lesioni, agenti esterni o luce. Inoltre, grazie a questa chiusura ritmica, contribuiscono alla distribuzione del film lacrimale ma permettono anche quella che è una rigenerazione dello strato lipidico, con la spremitura delle ghiandole di Meibomio. Durante la chiusura sia la palpebra superiore che quella inferiore tendono ad avere anche un movimento orizzontale interno e questo permette un drenaggio della lacrima nel puntino lacrimale. L'ammicciamento è reso possibile dallo strato muscolare palpebrale dove la chiusura è garantita dal muscolo orbicolare, mentre la successiva apertura dalla contrazione dell'elevatore. L'ammicciamento può essere volontario, riflesso come espressione di una reazione di difesa (stimolo fisico, stimolo luminoso) o spontaneo ossia non forzato. Quest'ultimo si presenta con un intervallo di 2-3 secondi ma tale frequenza può essere influenzata da diversi fattori (Ducoli, 1993). Se a riposo infatti abbiamo circa 17 ammiccamenti al minuto, durante la conversazione possiamo avere fino a 26 ammiccamenti al minuto con un incremento del +99,70%, mentre durante la lettura possiamo avere solamente 4,5 ammiccamenti al minuto con un decremento del -55,08% (Bentivoglio, 2004). Monitorando diversi soggetti si è constatato che la durata dell'ammicciamento è di circa 100-300 msec, ma risulta essere di soli alcuni millisecondi in persone che si trovano in uno stato di allerta. La pressione creata dalla palpebra durante l'ammicciamento è invece stata stimata da Shaw et al a 1-5 kPa e la velocità del movimento della palpebra durante un battito di ciglia varia tra i soggetti, con una velocità media segnalata tra 170 mm/s e 280 mm/s (Pult, 2015).

## **1.2. I materiali delle lenti a contatto e la loro evoluzione**

I padri della contattologia che capirono come l'ametropia poteva essere corretta utilizzando le lenti a contatto furono Fick, Kalt e Muller, verso la fine dell'ottocento (Gheller, 2003). La lente da loro utilizzata era in vetro e il limite era un porto

estremamente ridotto dato dalla scarsa biocompatibilità con la superficie oculare. Nel 1937 due americani Dallos e Fleinbloom diedero il via alla costruzione di lenti a contatto in materiale plastico con l'MMA. L'MMA venne ripreso da Tuohy nel 1948 il quale realizzò la prima lente a contatto corneale rigida che per capillarità riuscì a stare adesa alla superficie anteriore dell'occhio. Il problema dell'MMA, che portò alla formazione di edema corneale in molti soggetti, era l'assenza di permeabilità all'ossigeno, che venne superato attraverso l'utilizzo di copolimeri silossano con Gaylord nel 1974. Ecco che nacque dunque la prima lente a contatto rigida gas-permeabile (RGP). Negli anni 90', la forte idrofobicità del silicone spinse la Boston Tech. Corp., ad utilizzare fluoro-monomeri nella miscelazione dei materiali, in sostituzione al silicone; pur però avendo un'ottima permeabilità all'ossigeno, se surriscaldato troppo, la defluorazione influenza gravemente la bagnabilità, rilevando un'affinità ai depositi mucosi e proteici (Gheller, 2003). In contemporanea allo sviluppo delle lenti rigide e RGP, Otto Wichterle nel 1952 sintetizza il primo materiale morbido per lenti a contatto; questo materiale, chiamato l'HEMA (2-idrossietilmetacrilato), era in grado di assorbire circa il 40% di acqua, era trasparente e aveva buone capacità meccaniche. Dopo un perfezionamento nella produzione, la Bausch & Lomb ne acquisì la licenza nel 1966, ma solamente nel 1971 l'FDA approvò la conformità di questo tipo di lenti. Negli anni successivi altri produttori di lenti a contatto utilizzarono l'HEMA associandolo ad altri monomeri che permisero di avere lenti con un contenuto d'acqua dal 35% all'85% (Nicolson, 2001). L'ultimo grande successo della contattologia morbida sono le lenti in silicone idrogel. Le basi chimiche dei vari materiali che si sono evoluti per avere prestazioni di comfort sempre maggiori, si sono sviluppati utilizzando diverse percentuali e vari tipi di monomeri; piccole differenze possono infatti portare a differenze molte elevate dei materiali.

### **1.2.1. Lenti a contatto idrofile**

Le lenti a contatto morbide idrogel vengono scelte da ben il 22% della popolazione, con punte dell'86% se si aggiungono anche le morbide silicone-idrogel (Liz, 2018). Queste lenti oltre ad essere molto facili da applicare, vantano un ottimo comfort iniziale con un tempo di adattamento estremamente ridotto. Questo è dato dalla flessibilità e dal contenuto idrico, ma anche da particolari condizioni quali un diametro maggiore e un bordo più sottile rispetto alla lente rigida, che ne riducono il movimento. Se da un lato abbiamo il vantaggio del comfort, bisogna però tenere in considerazione che lo scambio di film lacrimale durante il porto di queste lenti risulta essere minore rispetto alle rigide. L'ossigeno, fondamentale per il metabolismo della cornea, tessuto avascolare, nelle lenti morbide viene trasportato dall'acqua. Il contenuto idrico della lente e la bagnabilità, strettamente correlati negli idrogel devono essere quindi sufficientemente elevati, per garantire all'ossigeno di solubilizzarsi in acqua e diffondere attraverso il materiale (Ehrmann, 2018). L'HEMA che risulta essere alla base della sintesi delle lenti a contatto morbide, ha una capacità di assorbimento idrico del 38%. La formazione però di edema corneale dovuto ad ipossia ha indirizzato lo sviluppo di nuove lenti che incorporassero all'interno particolari monomeri come l'acido metacrilico (MAA) o l'nvinilpirollidone (NVP), capaci con la loro elevata elettronegatività di legare la molecola d'acqua ed opporsi dunque all'evaporazione. Si riteneva che un contenuto idrico più elevato avrebbe portato ad una lente più bagnabile e confortevole (e con una maggiore trasmissibilità dell'ossigeno). Tuttavia, divenne presto evidente che anche le lenti ad alto contenuto di acqua, e in alcuni casi ancora di più, il comfort rimane un problema per molti soggetti. L'FDA ha eseguito una classificazione di questi polimeri proprio in base al contenuto idrico e alla carica ionica (Gheller, 2003).

Tabella I- Classificazione FDA lenti idrogel

| GRUPPO | CARATTERISTICHE GRUPPO  | DESCRIZIONE  | ESEMPI DI NOMI MATERIALE IDROGEL E RELATIVO CONTENUTO IDRICO   |
|--------|---|--|--|
| I      | <ul style="list-style-type: none"> <li>Bassa idrofilia</li> <li>Non ionici</li> </ul> <p><i>(Materiali che contengono meno del 50% di acqua e che contengono meno dello 0,2% di acido metacrilico o monomeri ionici).</i></p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Presentano pochi siti OH quindi la capacità di opporsi alla disidratazione è bassa.</li> <li>Non si ha la formazione di molti depositi proteici vista la bassa ionicità.</li> <li>Sono le lenti più stabili.</li> <li>DK = 20</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>acofilcon B (49%)</li> <li>hefilcon A &amp; B (45%)</li> <li>isofilcon (36%)</li> <li>mafilcon (33%)</li> <li>polymacon (38%)</li> <li>tefilcon (38%)</li> <li>tetrafilcon A (43%)</li> </ul> |
| II     | <ul style="list-style-type: none"> <li>Alta idrofilia</li> <li>Non ionici</li> </ul> <p><i>(Materiali che contengono meno del 50% di acqua e che contengono meno dello 0,2% di acido metacrilico o monomeri ionici).</i></p>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Dotati di un maggior spazio molecolare garantisce un maggior contenuto idrico.</li> <li>il DK può raggiungere valori di 35-40.</li> <li>L'evaporazione a cui può essere sottoposta può portare ad una perdita di stabilità dimensionale.</li> <li>Nell'arco di 8h può perdere fino al 40% di contenuto idrico.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>nelfilcon A (69%)</li> <li>omafilcon A (59%)</li> <li>acofilcon A (58%)</li> </ul>  |
|        | <ul style="list-style-type: none"> <li>Bassa idrofilia</li> <li>Ionici</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Essendo ionico presenta una elevata carica elettrostatica garantita dal gruppo acido che in acqua</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>butilcon A (45%)</li> <li>deltafilcon A (43%)</li> <li>ocufilcon A (44%)</li> </ul>   |

|            |  |   |  |
|------------|--|---|--|
| <b>III</b> | <i>(Materiali che contengono meno del 50% di acqua e che contengono meno dello 0,2% di acido metacrilico o monomeri ionici).</i>   | dissociandosi offre l'ossigeno alla molecola d'acqua che si lega.<br><br>• DK = 20.   | • phenfilcon A (38%)   |
| <b>IV</b>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Alta idrofilia</li> <li>• Ionici</li> </ul><br><i>(Materiali che contengono meno del 50% di acqua e che contengono meno dello 0,2% di acido metacrilico o monomeri ionici).</i> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sono le lenti più reattive.</li> <li>• Mostrano il più alto livello di depositi proteici con carica positiva, come il lisozima.</li> <li>• Presentano una quantità di depositi che è dieci volte tanto quella del Gruppo I.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• bufilcon A (55%)</li> <li>• epsifilcon A (60%)</li> <li>• etafilcon A (58%)</li> <li>• tetrafilcon B (58%)</li> <li>• vifilcon A (55%)</li> <li>• phemfilcon A (55%)</li> </ul> |

### 1.2.2. Lenti a contatto SiHy

Nel 1999 venne sviluppato un nuovo tipo di materiale: le lenti silicone idrogel. Il monomero idrofilico HEMA, venne sintetizzato insieme ai polimeri silossano, normalmente nella variabile TRIS [(trimethylsilyloxy)silyl] propyl methacrylate. Questa è una lente che combina gli effetti positivi delle lenti morbide con l'eccellente permeabilità dell'ossigeno del silicone, raggiungendo valori di Dk molto alti, fino a 175 barrer/mm. Il limite principale che presenta questo tipo di lente è l'elevata idrofobicità della superficie che risulta essere scarsamente bagnabile e lubrificabile. Ciò causa discomfort oculare, destabilizzazione del film lacrimale e formazione di depositi (Foulks, 2006). L'FDA tutt'oggi inserisce questo tipo di lenti all'interno di un quinto gruppo nella classificazione delle lenti morbide.

Tabella II- Lenti SiHy

| Nome materiale lente <u>SiHy</u> | Contenuto d'acqua (%) | DK/T ( $\times 10^{-9}$ ) |
|----------------------------------|-----------------------|---------------------------|
| balafilcon A (36%)               | 36                    | 110                       |
| comfilcon A (48%)                | 48                    | 160                       |
| galyfilcon A (47%)               | 47                    | 86                        |
| lotrafilcon A (24%)              | 24                    | 175                       |
| lotrafilcon B (33%)              | 33                    | 138                       |
| narafilcon B (48%)               | 48                    | 118                       |
| senofilcon A (37%)               | 37                    | 147                       |

## **2. CLD: CONTACT LENS DISCOMFORT**

La gestione del CLD, ossia il discomfort indotto dal porto di lenti a contatto rimane una sfida nella pratica clinica contattologica. Secondo recenti studi (Samsom, 2015) su 135 milioni di persone portatori di lenti a contatto, il 50% si lamenta di secchezza oculare a fine giornata. I motivi principali dell'intolleranza alla lente a contatto quali irritazione e secchezza ha portato il 25% degli utilizzatori a sospendere l'uso e il 25% a ridurre la frequenza. Il TFOS, ha definito il CLD come una condizione caratterizzata da un'avversa reazione oculare persistente o occasionale durante il porto di lenti a contatto, dovuta ad una incompatibilità tra la lente e la superficie oculare, e che può condurre ad una riduzione o ad una completa sospensione dell'uso delle lenti (Dumbleton, 2013).

### **2.1. Valutazione del CLD**

L'interazione fisica della lente con la superficie oculare, causa nel portatore una stimolazione dei nocicettori e un effetto di stress sui tessuti oculari. La lente a contatto interagisce con una delle aree più innervate del corpo, come la cornea, il margine palpebrale e in misura minore anche la congiuntiva. Per cui non sorprende il fatto che l'applicazione delle lenti venga percepita dai soggetti e in alcuni casi suscita anche una reazione dolorosa. I nervi sensoriali corneali afferenti sono nervi che reagiscono a stimoli del dolore e nello specifico troviamo i recettori polimodali, i recettori meccanici e i recettori termici. I primi sono in grado di rispondere a stimoli meccanici, termici e a mediatori infiammatori, i secondi solamente a forze di tipo meccanico; infine gli ultimi reagiscono a cali di temperatura dati dall'evaporazione delle lacrime e soluzioni iperosmolarità. La percezione dei sintomi di disagio risulta essere molto complessa e probabilmente deriva proprio dall'interazione di più canali psicofisici di questi nocicettori (Stapleton, 2013). Il discomfort dovuto alla lente a contatto è una condizione che



si presenta dopo un iniziale periodo di “adattamento” che ogni neofita solitamente incontra. Il CLD viene descritto dalla maggior parte dei soggetti sintomatici con sensazioni di secchezza oculare, irritabilità e forte lacrimazione i quali si verificano con maggiore intensità a fine giornata. In rari casi viene riportata visione offuscata, sensibilità alla luce e dolore agli occhi (Dumbleton, 2013). Tuttavia, è importante sottolineare che il CLD è una condizione che si verifica mentre si indossa una lente a contatto e che la rimozione della stessa, allevia le sensazioni oculari avverse. Statisticamente si può notare come ben il 50% dei soggetti lamenti secchezza; questo tipo di sintomo che maggiormente viene riscontrato, non deve indurre a utilizzare il termine “occhio secco da lente a contatto”. Questo termine dovrebbe essere utilizzato solamente per chi è affetto da una condizione di occhio secco preesistente, la quale può o meno peggiorare con l’ utilizzo di lenti a contatto (Dumbleton, 2013). Tra i test clinici utili per la diagnosi del CLD c’è la valutazione delle ghiandole di Meibomio, dell’iperemia bulbare e limbare, il test del TBUT, e la colorazione corneale e congiuntivale. Tuttavia, nella diagnosi del CLD ancora non vi è una stretta correlazione tra soggetti sintomatici e segni clinici evidenti. Molti contattologi per valutare l’intensità e la frequenza con cui i sintomi vengono riportati, utilizzano dei questionari. McMonnies ha realizzato un primo questionario per soggetti con discomfort oculare che indossavano o meno le lenti a contatto. Successivamente venne elaborato un questionario specifico per portatori di lenti a contatto che lamentano discomfort; il CLDEQ-8 sembra avere un’efficienza predittiva con una sensibilità dell’83% e una specificità del 67%. I punteggi del CLDEQ hanno infatti mostrato di essere in stretta correlazione con il CLD, mostrando cambiamenti nei punteggi, con un cambiamento nel materiale della lente (Chalmers, 2012). Altri due indicatori che mi permettono di comprendere il discomfort dei soggetti sono il questionario OSDI (Ocular Surface Disease Index) e la Visual Analogue Scale (VAS).

## **2.2. Interazione con la superficie oculare**

L'utilizzo delle lenti porta ad alterazioni tissutali oculari, e molte di esse possono portare all'insorgere di un dolore persistente (per esempio quello associato alla cheratite microbica); in questo caso se il dolore persiste anche dopo la rimozione della lente, come detto in precedenza, non rientra tra le alterazioni legate al CLD (Efron, 2013).

La cornea come descritto nel capitolo 2.1 risulta essere molto significativa per la neurobiologia del CLD, grazie alla sua innervazione. Quando però una lente viene indossata, comporta nei tessuti corneali anche cambiamenti morfologici e apoptotici come nello stroma con densità dei cheratociti, opacità, infiltrati e neo vascolarizzazione e nell'endotelio o limbus con rossore o carenza di cellule staminali. Tuttavia, non è stata riscontrata nessuna associazione tra questi segni clinici e CLD. Anche l'ipossia che è associata al materiale o alla geometria della lente, non viene messa in relazione diretta con il CLD (Efron, 2013).

La congiuntiva invece, è uno dei tessuti più strettamente connessi allo sviluppo del CLD. Alcuni studi hanno infatti dimostrato una relazione tra lo staining della congiuntiva bulbare e il CLD. D'altro canto però, sia l'iperemia bulbare che i cambiamenti citologici a livello della congiuntiva bulbare non hanno riscontrato un'associazione significativa con il CLD (Efron, 2013).

### **2.2.1. Interazione della lente con il film lacrimale**

La lente a contatto poggia sulla superficie oculare immersa nel fluido lacrimale che separa in due: il film lacrimale pre lente (PLTF, pre lens tear film) che si interfaccia con l'ambiente esterno, e il film lacrimale post lente (POLTF, post lens tear film) che separa la lente dall'epitelio corneale. Il PLTF forma una superficie liscia sulla lente e deve evitare l'evaporazione dello strato acquoso oltre che a garantire un buon strato di lubrificazione per lo scivolamento palpebrale durante l'ammicciamento (Samson, 2017). Dopo l'inserimento della lente, si presenta con uno spessore di 6  $\mu\text{m}$  in conseguenza alla lacrimazione riflessa, per poi, dopo un

periodo transitorio, ridursi a 1  $\mu\text{m}$ . Il POLTF invece è fondamentale per la trasmissione dell'ossigeno, per la nutrizione della cornea e il movimento della lente con uno spessore di 1-3  $\mu\text{m}$  (Craig, 2013). Quando la lente a contatto viene inserita nonostante la sua biocompatibilità c'è una destabilizzazione biofisica e biochimica del film lacrimale che risulta essere maggiormente compromessa in portatori sintomatici.

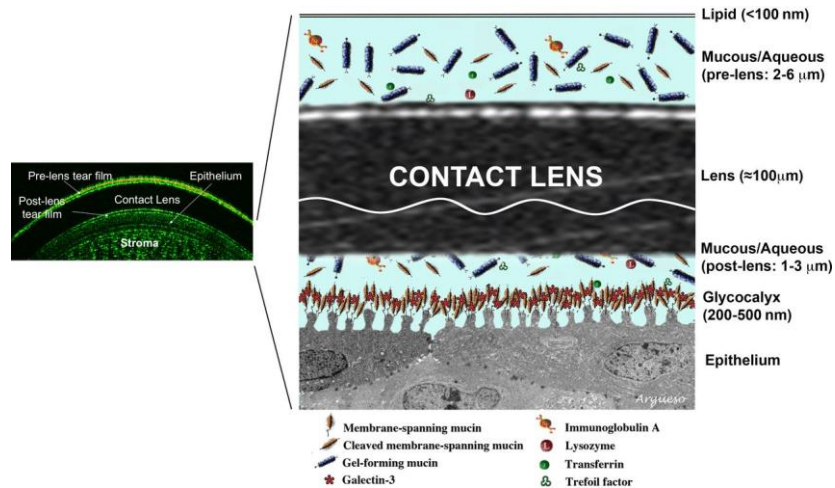


Figura 2.2.1 - Interazione lente film lacrimale. Da Jennifer P. Craig-Report of the Contact Lens Interactions With the Tear Film- Investigative Ophthalmology & Visual Science October 2013, Vol.54.

I cambiamenti qualitativi dello strato lipidico, si manifestano clinicamente come un'alterazione del film lacrimale pre-lente. Un assottigliamento dello strato lipidico è frequente nei portatori di lenti a contatto sintomatici e ciò causa una rapida rottura lacrimale, la quale è valutabile attraverso il Tear Break Up Time (TBUT). Il TBUT descrive l'intervallo di tempo che intercorre tra l'ultimo ammiccamento completo e la prima zona di dry spot. Se i valori normali si aggirano intorno ai 10 secondi, in un portatore di RGP sintomatico si osserva una rottura entro i 2-3 secondi, mentre in un portatore di CL morbide sintomatico si verifica con valori intorno ai 5-6 secondi (Craig, 2013). Questi tempi di rottura drasticamente ridotti portano ad un'evaporazione dello strato acquoso sottostante, impedendo alla lente di non essere più immersa in una fase acquosa ma di esporsi all'aria.



Figura 2.2.2- Rottura dello strato lipidico con conseguente evaporazione dello strato acquoso. Da Cristine W. Sindt, 2016.

La lente rimanendo scoperta crea dunque microambienti asciutti dove si stabilizzano entità idrofobiche del polimero con la conseguente diminuzione della qualità ottica, diminuzione della bagnabilità superficiale e prestazioni di lubrificazioni scadenti. Anche le lenti a contatto idrofile ad alto contenuto d'acqua possono perdere la bagnabilità quando la disidratazione attira componenti idrofobici nell'interfaccia della lente a contatto. Per quanto riguarda lo strato mucoso, studi recenti hanno evidenziato come nei portatori di lenti a contatto ci sia una produzione significativamente inferiore di mucine (M1 / MUC5AC). Utilizzando anche l'acido sialico come marcatore della mucina si è verificato una diminuzione del muco nei campioni lacrimali dei portatori di lenti a contatto (Samsom, 2017); l'uso delle lenti è associato comunemente anche a danni al glicocalice. Ciò impedisce dunque una buona adesione dell'acqua e delle mucine alla superficie oculare idrofoba oltre che ad una perdita di viscoelasticità della lacrima. Inoltre Berry et al. hanno proposto che mucine insufficienti o una composizione alterata delle mucine residenti sulla superficie oculare, porta ad un aumento dell'attrito palpebrale (Craig, 2013).

### 2.2.2. Interazione della lente con le palpebre

L'ammiccamento palpebrale è fondamentale per una stabilità lacrimale. Nei soggetti portatori di lenti a contatto, studi hanno dimostrato che per cercare di

mantenere una buona integrità del film lacrimale l'ammiccamento ha una frequenza di 20,3 battiti al minuto (Efron, 2013). D'altra parte, però, aumentano notevolmente anche gli ammiccamenti incompleti, contribuendo alla formazione di aree di secchezza in superficie. L'ammiccamento palpebrale esercita una pressione sulla cornea che con la lente raggiunge 12.3-17.6 kPa (Samson, 2017).

### **2.3. L'influenza dell'attrito nel CLD**

L'ambiente oculare è complesso e può facilmente essere destabilizzato. Una lente all'interno dell'ambiente oculare può avere un profondo effetto sulla stabilità della superficie oculare e sul comfort del paziente. La diminuzione di spessore del film lacrimale porta la lente ad interagire con due interfacce: un'interazione della superficie anteriore della lente con la forza del movimento delle palpebre, e il conseguente trasferimento di questa forza, che induce un movimento della lente sulla superficie corneale.

Il recente report della Tear Film and Ocular Surface sull'impatto dei materiali sul discomfort delle lenti a contatto, ha riportato come l'attrito è attualmente l'unica variabile che ben si correla con i punteggi del comfort in vivo. Recenti studi hanno dimostrato relazioni staticamente significative tra il coefficiente d'attrito e il comfort della lente; Brennan ha confrontato il coefficiente di valori di attrito di Ross et al. con valori di comfort di fine giornata di lenti indossate per un mese, dimostrando una correlazione significativa ( $r^2 = 0,79$   $p < 0,01$ ). La stessa analisi è stata condotta con una diversa fonte di dati di coefficiente di attrito (Roba et al.) e ha mostrato un'associazione significativa tra il coefficiente di attrito e il comfort di fine giornata ( $r^2 = 0,77$   $p < 0,01$ ) (Lyndon, 2013).

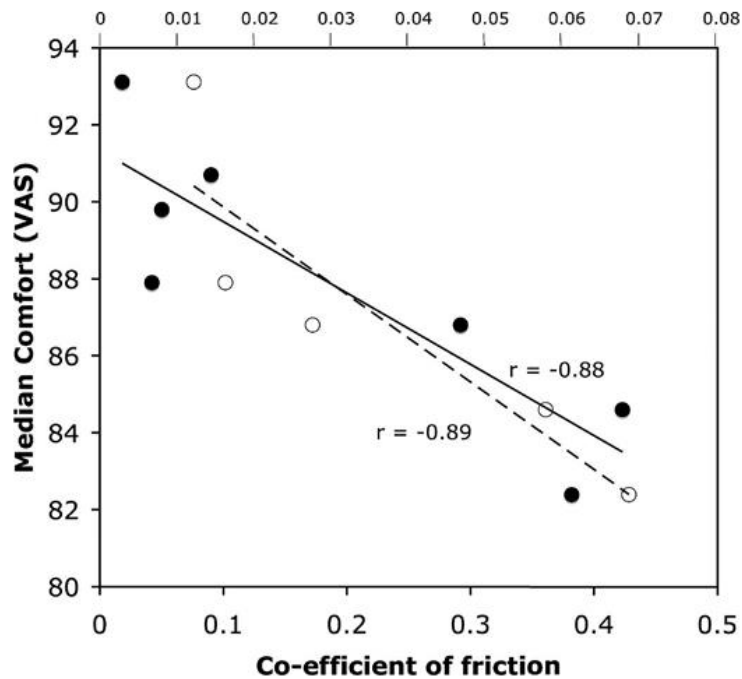


Figura 2.3- comfort o di fine giornata di Brennan e Coles rispetto al coefficiente di attrito riportato da Ross (cerchi aperti, linea tratteggiata, scala sopra l'area del grafico) e Roba

Da Lyndon, 2013.

La rilevanza clinica dell'attrito superficiale è ulteriormente supportata dal 74% degli utilizzatori sintomatici che presentano una condizione denominata "epiteliopatia del margine palpebrale" (LWE), caratterizzata da "segni di attrito" sul margine palpebrale superiori osservabili in biomicroscopia (Jaya, 2018) contro il 12% dei pazienti che non riportavano sintomi di secchezza oculare (Epstein, 2010).

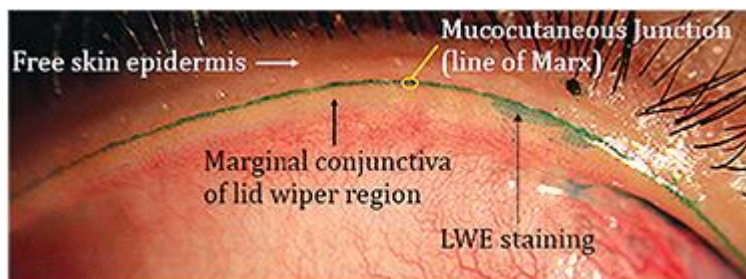


Figura 2.4 -LWE staining. Da Jalaiah Varikooty - What Is Lid Wiper Epitheliopathy? - Contact lens spectrum, 2015.

## 3. PROPRIETÀ DELLA SUPERFICIE DELLE LENTI

### 3.1. Coefficiente d'attrito e lubrificazione

Quando si parla di coefficiente d'attrito e di lubrificazione parliamo di due facce della stessa medaglia. Infatti il coefficiente d'attrito (CoF) si riferisce alla lubrificazione della superficie della lente a contatto. La curva di Stribeck mette in relazione il coefficiente d'attrito ad una serie di fattori come il carico (N), la velocità di movimento (v) e la viscosità del fluido ( $\eta$ ) che separa due partner. Questi tre fattori sono messi in relazione matematicamente attraverso il numero di Sommerfeld:  $S = \eta v / NL$ , dove L definisce la superficie di contatto (Mann, 2010). In questo modello tribologico sono stati identificati tre diversi regimi: la lubrificazione limite, dominata dallo stretto contatto delle superfici solide; il regime misto, in cui si verifica un contatto occasionale tra le superfici solide; e il regime idrodinamico, in cui è presente un film lubrificante pieno tra le due superfici che si muovono a velocità elevate l'una rispetto all'altra. Nel regime di lubrificazione limite, la qualità della superficie del materiale influenza principalmente l'attrito, mentre in quello idrodinamico dove entrambe le superfici sono completamente separate, l'attrito dipende dalla viscosità dei fluidi tra le superfici (Koller, 2014). Un sistema tribologico si basa sempre su due partner che si muovono l'uno rispetto all'altro. Nell'uso delle lenti a contatto, i partner sono le palpebre, la superficie anteriore della lente a contatto, la superficie posteriore della lente a contatto e la cornea e nelle lenti a contatto morbide, in parte anche la congiuntiva bulbare. Il film lacrimale e in particolar modo le mucine giocano un ruolo essenziale, perché in un film lacrimale sano formano una "spazzola" idrofila sull'epitelio corneale e sul margine palpebrale, generando una repulsione sterica elettrostatica. In un portatore di lenti a contatto, la superficie della lente per non indurre discomfort deve dunque imitare al meglio quella della superficie oculare.

Per cui in soggetti che hanno un film lacrimale stabile e lenti con una buona superficie idrofila, la forma classica della curva di Stribeck non può essere applicata (curva verde) poiché l'elevato coefficiente di attrito previsto nel regime limite a bassa velocità, non si verifica a causa della presenza proprio di queste spazzole idrofile. In soggetti che presentano un'instabilità del film lacrimale, abbiamo invece un maggiore coefficiente di attrito a basse velocità di scorrimento. Se poi la lente risulta avere una superficie idrofila insufficiente questo si tradurrà con un ulteriore incremento del coefficiente d'attrito. Inoltre, l'aumento della viscosità del film lacrimale anomalo porterà anche ad un aumento significativo della pressione idrodinamica ad alta velocità. Pertanto, la curva teorica tratta da questa ipotesi, si avvicina alla classica curva di Stribeck (curva rossa) (Heiko, 2015). Il grafico sottostante descrive molto bene le 4 situazioni che possono instaurarsi in un soggetto portatore di lenti a contatto:

**CURVA VERDE:** coefficiente di attrito più basso a bassa velocità in presenza di un film lacrimale normale e con lenti a basso coefficiente d'attrito. Forze di taglio basse a velocità maggiore a causa della bassa viscosità e delle proprietà non newtoniane del film lacrimale.

**CURVA GIALLA:** aumento del coefficiente di attrito a bassa velocità per la presenza di un film lacrimale normale e con lenti a contatto ad elevato coefficiente d'attrito. Forze di taglio basse a velocità maggiore a causa della bassa viscosità e delle proprietà non newtoniane del film lacrimale.

**CURVA ARANCIONE:** aumento del coefficiente di attrito a bassa velocità in un soggetto con film lacrimale instabile e con lenti a contatto a basso coefficiente d'attrito. Forze di taglio elevate a velocità maggiore a causa dell'aumento della viscosità del film lacrimale.

**CURVA ROSSA:** il più alto coefficiente di attrito a bassa velocità in un soggetto con film lacrimale instabile e con lenti a contatto ad elevato coefficiente. Forze di taglio elevate osservate a velocità maggiore a causa dell'aumento della viscosità del film lacrimale.



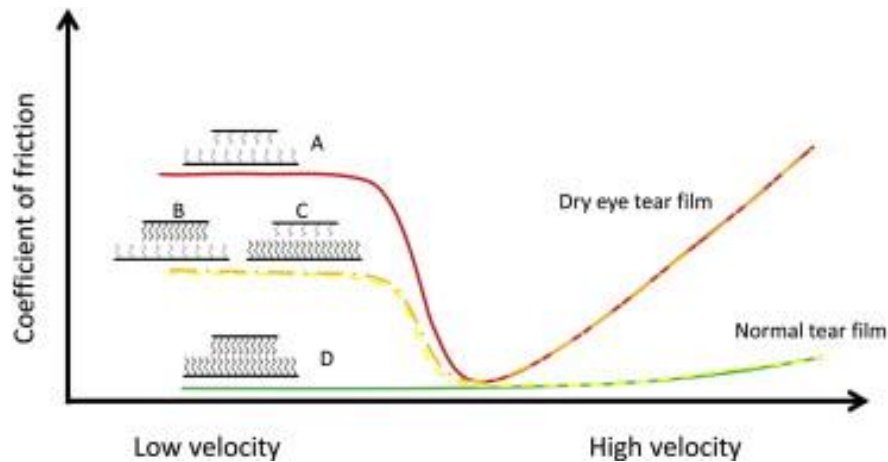


Figura 3.8 Andamento della curva di Stribeck in un soggetto portatore di lenti a contatto in relazione alla sua stabilità lacrimale. Da Heiko, 2015.

Si comprende quindi che in soggetti che lamentano discomfort, la possibile destabilizzazione del film lacrimale per la presenza fisica della lente, potrebbe portare ad un generale aumento di attrito. Per contrastare questo effetto negativo, è necessario una lente che abbia in superficie una spazzola polimerica idrofila densamente presente in grado di resistere a pressioni di contatto più elevate. Attualmente, questo può essere ottenuto usando spazzole di superficie idrosolubili comunemente definite come agenti bagnanti. L'uso di tali materiali idrofili spiegherebbe quindi perché diversi studi riportano anche la bagnabilità delle lenti a contatto morbide correlata al disagio delle lenti a contatto (Heiko, 2015).

### 3.1.1. Misurare il CoF

Misurare le proprietà di attrito delle lenti morbide ha acquisito una notevole attenzione negli ultimi anni, e i ricercatori hanno impiegato una serie di metodi diversi. Il metodo più comune è l'uso di uno strumento chiamato "microtribometro" mentre alcuni hanno usato un metodo basato sulla

microscopia a forza atomica (AFM). Il CoF è una "proprietà di sistema" che dipende da molti fattori del sistema di misurazione che sono (Lakshman, 2016):

- *Scelta del substrato*: La scelta del substrato rispetto al quale viene spostata la lente a contatto si applica a tutti i metodi di misurazione dell'attrito. Idealmente, il substrato utilizzato per misurare il CoF dovrebbe imitare la chimica, la ruvidità della superficie e la morbidezza dei tessuti oculari.
- *Tipo di superficie di appoggio del substrato e movimento*.
- *Forza di pressione normale*: La pressione di contatto utilizzata in un microtribometro tenta di imitare la forza applicata dalla palpebra sulla superficie oculare.
- *Velocità di scorrimento*: Questo parametro è rappresentativo dei movimenti oculari inclusa la velocità con cui la palpebra scivola sulla superficie della lente a contatto. Per massimizzare la differenza tra i materiali, è generalmente preferibile testare a basse velocità per garantire la presenza di lubrificazione limite; a velocità più elevate, può verificarsi una "lubrificazione idrodinamica" e le proprietà superficiali individuali diventano molto meno importanti nella determinazione del CoF della lente.
- *Fluido interfacciale o lubrificante*: Il CoF è una proprietà interfacciale e i valori di CoF misurati possono variare notevolmente a seconda del fluido interfacciale tra il substrato e la lente a contatto da testare.

Pur essendo una tecnica eseguita in vitro, attualmente non è presente un protocollo standard di riferimento; questo impedisce di poter eseguire una comparazione tra i diversi studi (Lakshman, 2016).

## 3.2 Bagnabilità e tensione superficiale

La bagnabilità della superficie è fondamentale per il comfort delle lenti a contatto. Abbiamo bisogno di una buona superficie di bagnatura per evitare cambiamenti alla superficie del margine palpebrale mentre si ammicca con le lenti a contatto. Le lenti a contatto infatti che possono sostenere una bagnatura completa consentono una copertura spessa del film lacrimale, un recupero regolare dello strato lacrimale dopo la chiusura degli occhi e una buona acuità visiva (Lyndon, 2010). Il grado di bagnatura è determinato da un equilibrio tra forze adesive e coesive che agiscono sulla superficie della lente.

- L'adesione liquido-solido è una forza di attrazione che si crea tra molecole di tipo differente e che permette ad una goccia di liquido di ricoprire la superficie della lente. Questa forza adesiva è dovuta alla tensione interfacciale tra la fase liquida e lo stato solido.
- La coesione liquido-liquido e solido-solido è una forza di attrazione che si crea tra le molecole della stessa sostanza, opponendosi allo stesso tempo a forze esterne che tendono a separarle. È ciò che permette ad una goccia di liquido di evitare il contatto con una superficie. Il fenomeno di coesione è reso possibile da un particolare tipo di tensione che viene chiamata tensione superficiale. Espressa in forza per unità di lunghezza, la tensione superficiale nei liquidi è la forza coesiva delle molecole di superficie del liquido che si attraggono l'una verso l'altra per occupare la minima superficie possibile. In termini ancora più semplici, misura quanta forza ci vuole per tenere insieme un liquido nel formare una goccia.

Nella fisica dei solidi prende il nome di energia di superficie riferendosi invece all'energia in eccesso che si ha sulla superficie di un solido rispetto alla massa (Basiricò, 2011). Si definiscono due tipi di superfici per i solidi:

- Superfici ad alta energia: I legami che tengono insieme gli atomi sono di tipo chimico (covalenti, ionici o metallici) e sono molto forti. La maggior parte

dei liquidi polari riesce a bagnare completamente una superficie ad alta energia.

- Superfici a bassa energia: Le molecole sono tenute insieme da forze di tipo fisico (legami di van der Waals e legami idrogeno); è possibile rompere tali legami con energie basse. Tali superfici possono permettere una bagnabilità completa o parziale a seconda del tipo di liquido.

La bagnabilità della superficie della lente a contatto dipende dunque dalle caratteristiche chimico-fisiche del liquido e del solido e in particolar modo dalla tensione superficiale del liquido. Si avrà una bassa bagnabilità quando abbiamo un'alta tensione superficiale della goccia e una più bassa energia superficiale del solido. Invece una bassa tensione superficiale ed un'energia della superficie solida molto alta, mi porterà ad avere una bagnabilità della superficie ottima. La tensione interfacciale solido-liquido è alta su una superficie idrofila e quindi ben bagnabile e bassa su una superficie idrofoba, poco bagnabile (Lyndon, 2010).

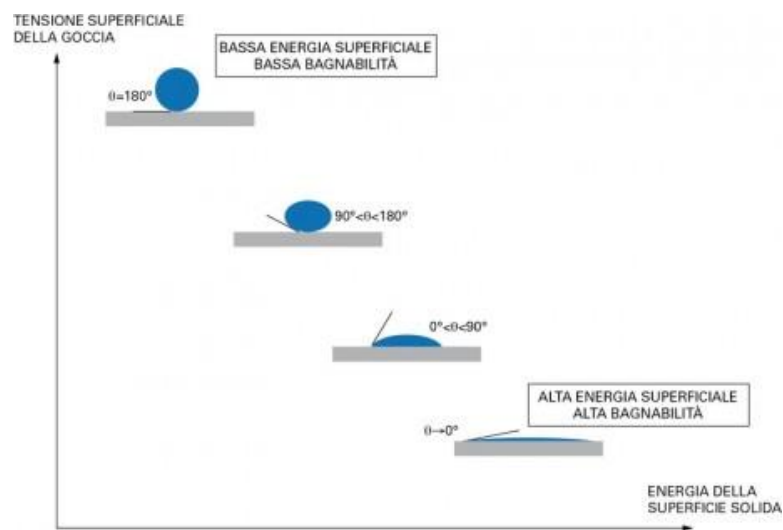


Figura 3.6 - Bagnabilità di una superficie. Da tecnologia farmaceutica, [dctf.uniroma1.it](http://dctf.uniroma1.it)

### 3.1.2. Misurazione della bagnabilità

La misurazione della bagnabilità di una lente avviene attraverso il cosiddetto angolo di contatto. Per definizione l'angolo di contatto è espresso come l'angolo

formato dall'intersezione dell'interfaccia liquido-solido e l'interfaccia liquido-vapore (acquisita geometricamente applicando una tangente linea dal punto di contatto lungo l'interfaccia liquido-vapore nel profilo a goccia) (Yuan, 2010). Il primo a descrivere teoricamente l'angolo di contatto è nel 1805 Thomas Young, attraverso la seguente equazione:

Essa descrive l'equilibrio meccanico della goccia sotto l'azione delle tre tensioni interfacciali dove:

- $\gamma_{lv}$  = tensione interfaccia liquido-vapore (tensione superficiale);
- $\gamma_{sv}$  = tensione interfaccia solido-vapore;
- $\gamma_{sl}$  = tensione interfaccia solido-liquido;
- $\vartheta\gamma$  = angolo di contatto.

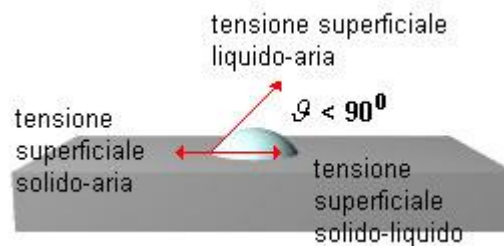


Figura 3.7 - Angolo di contatto- Da tecnologia farmaceutica, [dctf.uniroma1.it](http://dctf.uniroma1.it)

Con questa misura quantitativa dell'angolo di contatto, si può definire se la superficie della lente risulta essere:

- Idrofilica se  $0 < \vartheta\gamma < 90^\circ$
- Idrofobica se  $90^\circ < \vartheta\gamma < 150^\circ$
- Super-idrofobica se  $\vartheta\gamma > 150^\circ$

Esistono due diversi angoli di contatto che possono essere misurati per le lenti a contatto: l'angolo di avanzamento e l'angolo di regressione. Il primo viene misurato quando il liquido viene fatto diffondere sulla superficie del solido secco al primo contatto, mentre il secondo quando la goccia viene prelevata dalla superficie. Le migliori tecniche per la misurazione dell'angolo di bagnabilità sono tre (Lydon 2010):

- RSCA (relative sessile contact angle): consiste nel posizionare una goccia di salina su una superficie completamente asciutta; è possibile misurare sia l'angolo di avanzamento che quello di regressione. È un metodo molto usato che presenta però dei limiti dati dall'evaporazione e dalla disidratazione della superficie solida.
- RCCA (relative captive contact angle): in questo caso l'angolo viene dato da una bolla d'aria a contatto con la lente immersa in una soluzione salina. Questa tecnica elimina il problema della superficie solida che disidrata, però può far apparire la superficie della lente più bagnabile di quanto sia effettivamente nell'ambiente naturale.
- Piatto di Wilhelmy.

Questo tipo di misurazioni hanno il limite di una valutazione eseguita in vitro e nel tentativo di rendere più pertinenti le misurazioni della bagnabilità gli scienziati hanno optato per un'analisi dell'angolo di contatto ex vivo. Nel 2011 con Woods è stata avanzata anche l'idea di una valutazione in vivo della bagnabilità in portatori di lenti a contatto attraverso una scala di immagini, accompagnata da una misurazione dinamica del film lacrimale attraverso il test non invasivo del TBUT (Mazzarella, 2011). Sfortunatamente però, non esiste attualmente alcuna misurazione fisica (in vitro, ex vivo o in vivo) che possa quantificare completamente la bagnabilità dei materiali delle lenti. Come tale, non esiste alcun collegamento diretto tra le misure di bagnabilità e il comfort delle lenti a contatto; tuttavia, queste misurazioni possono essere correlate o indicative alla lubrificazione (del film fluido) delle lenti durante il porto (Tannin, 2014).

## 4. TRATTAMENTI LENTI A CONTATTO

Poiché la superficie della lente a contatto è diversa dalla superficie oculare, una domanda diventa cruciale: come è possibile modificare la superficie della lente a contatto e la sua interazione con la palpebra per rendere le lenti più confortevoli durante l'intera giornata? Oltre agli effetti fisici della rigidità della lente e dei bordi derivanti dalle proprietà del materiale e dal design, i cambiamenti nella superficie della lente sono dunque fondamentali per migliorare il comfort di tutti i giorni delle lenti.

### 4.1. Tecnologia al plasma

Il plasma è una miscela gassosa costituita da elettroni liberi, ricchi di energia, ioni e particelle neutre. È descritto come il 4 ° stato aggregato della materia perché il suo comportamento differisce da quello della materia solida, liquida e gassosa. Nel plasma gli atomi o le molecole, gli ioni e gli elettroni si muovono liberamente e interagiscono tra loro. Esistono due tipi di plasma: ad alta e a bassa temperatura. Solitamente per avere una modifica superficiale più efficiente, nelle lenti a contatto si utilizzano plasmi a basse temperature, i quali possono essere creati a pressione atmosferica o a basse pressioni. Quando una lente a contatto subisce un trattamento al plasma solamente la superficie viene modificata, lasciando inalterate le proprietà fisico-chimiche della base (Roland, 2010). I processi plasmatici sono diversi e hanno anche finalità diverse, essi sono:

- Pulizia al plasma: Le impurità delle particelle organiche vengono rimosse fisicamente attraverso l'ossidazione, se si utilizza l'ossigeno. Dopo questa procedura i prodotti sono completamente sgrassati e puliti. In questo caso il trattamento al plasma è inteso come un processo di "comfort iniziale", rendendo più bagnabili le lenti fino a quando le lacrime del corpo e i processi

naturali di rivestimento del biofilm prendono il sopravvento. L'effetto del plasma si logorerà nel tempo man mano che la manipolazione quotidiana e le sostanze ambientali (ad esempio oli per la pelle, trucco per gli occhi) contaminano le superfici della lente.

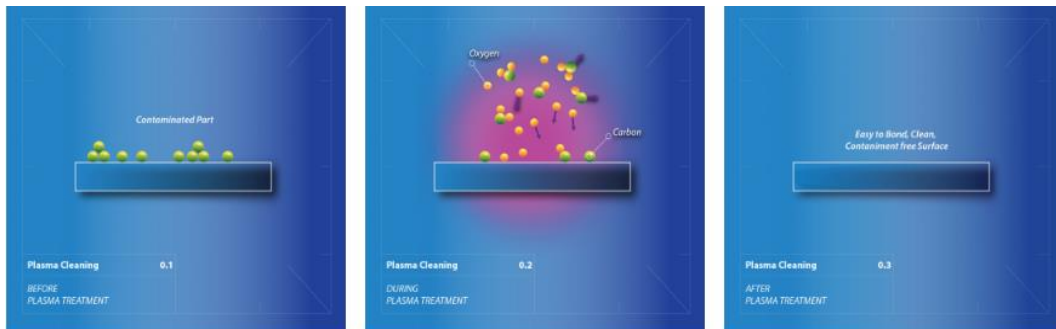


Figura 4.1-Processo di pulizia al plasma. Da [plasmamatreatment.co.uk](http://plasmamatreatment.co.uk).

- Attivazione superficiale/ossidazione al plasma: in questo caso al termine del ciclo di lavorazione la nuova lente è introdotta in una camera sotto vuoto dove è presente ossigeno puro che investito da energia ad alta frequenza si scompone in forma ionizzata, ossia “plasma”; questo procedimento determina quindi il fenomeno di ossidazione delle superfici.

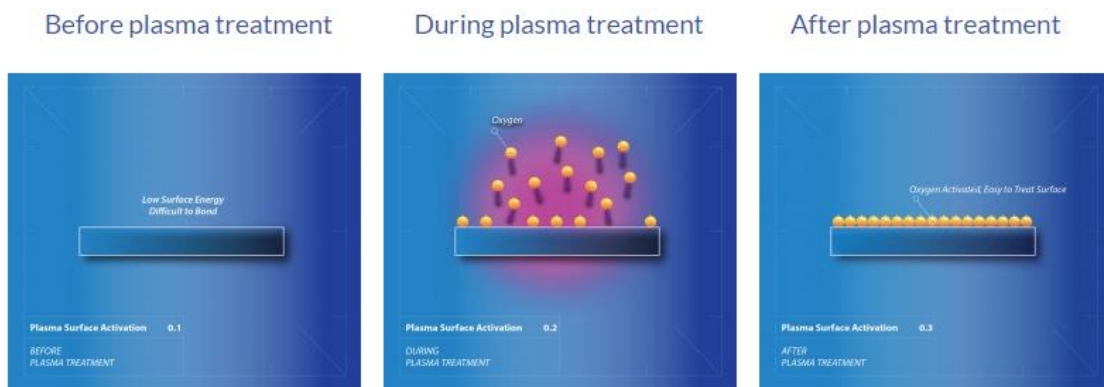


Figura 4.2- Processo di attivazione superficiale. Da [plasmamatreatment.co.uk](http://plasmamatreatment.co.uk).

- Deposizione di strati monometrici ad alta performance di bagnabilità: in questo caso viene depositato un COATING o un sottile strato di monomeri-idrofili sulla superficie delle lenti a contatto sempre sotto vuoto, grazie al plasma che crea le giuste condizioni perché ciò accada.





Figura 4.3- Processo di Coating. Da [plasmamatreatment.co.uk](http://plasmamatreatment.co.uk).

Tutti i trattamenti al plasma mirano a ridurre la forte idrofobia della superficie della lente per migliorarne la sua bagnabilità. Le Balafilcon A, facenti parte del gruppo delle SiHy sono trattate superficialmente con l'ossidazione al plasma, dove un sottile strato di silicato ( $\text{SiO}_x$ ) viene depositato. La superficie ha un aspetto granulare molto simile ad un mosaico con uno spessore di circa 10-25nm. Tuttavia, nelle Balafilcon A nel momento in cui abbiamo un'espansione della trama polimerica della lente per l'idratazione della stessa, il rivestimento di silicato risultando inestensibile, si rompe, creando isole idrofobe e non uno strato continuo idrofilo; ciò è osservabile anche nella Figura 4.4 (Lopez-Alemany, 2002).

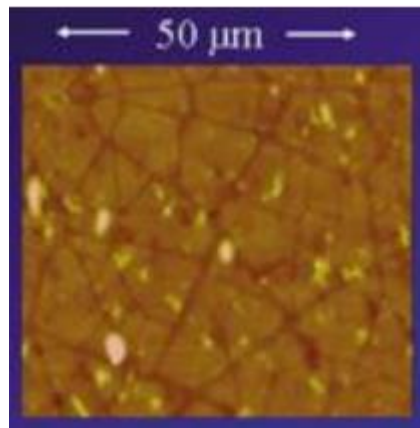
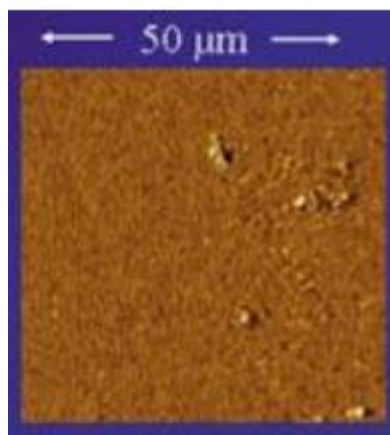


Figura 4.4- Immagine ottenuta con la AFM (Microscopia a Forza Atomica) della superficie delle balafilcon. Da Lopez-Alemany, 2002.

Le lenti Balafilcon A hanno un angolo di contatto avanzante di  $82.95^\circ \pm 15.08^\circ$  (Lin, 2010). Uno studio prospettico condotto per un anno su duecentododici persone ha comparato l'uso mensile di questo tipo di lente con un'idrogel convenzionale settimanale, non trattato superficialmente. I risultati hanno però evidenziato

come il materiale SiHy fornisce un ambiente fisiologico superiore rispetto alle idrogel, nonostante i livelli di depositi più elevati. I soggetti hanno inoltre valutato il materiale in SiHy come preferibile su scale soggettive di secchezza, comfort e manipolazione della lente; ciò suggerisce che la tecnologia al plasma sulle Balafilcon A è efficace nel fornire un utilizzo confortevole (Brennan, 2002). Uno studio più recente ha sottoposto le balafilcon A ad un processo di usura in vitro ed ha constatato un aumento significativo ( $P < 0,05$ ) del coefficiente d'attrito, da  $0,252 \pm 0,114$  a  $0,594 \pm 0,143$ . Ciò probabilmente è dovuto, proprio al rivestimento al plasma incompleto dove le isole idrofobiche creano un aumento dei depositi con un più alto grado di proteine denaturate e, di conseguenza, un CoF più alto (Sterner, 2016).

Le lenti Lotrafilcon A, del gruppo SiHy, sono state trattate invece mediante polimerizzazione al plasma di una miscela di trimetilsilano, ossigeno e metano. Con uno strato di 25nm di spessore la superficie di questa lente risulta essere molto più uniforme e nonostante alcune creste ondulate non sono presenti discontinuità (Lopez-Aleman, 2002).



*Figura 4.5-Immagine ottenuta con la AFM (Microscopia a Forza Atomica) della superficie di Lotrafilcon A, la quale risulta essere più omogenea. Da Lopez-Aleman, 2002.*

L'angolo di contatto di  $42.78^\circ \pm 4.37^\circ$  (Lin, 2010) permette di avere una migliore bagnabilità rispetto alle precedenti lenti. Le Lotrafilcon A in uno studio prospettico a doppio cieco su 20 soggetti, sono state comparate con idrogel convenzionali appartenenti al IV gruppo FDA. Dopo 7 giorni, i soggetti sono stati sottoposti ad un

questionario, che ha evidenziato come le lenti Lotrafilcon A erano più comode e portavano minor secchezza a fine giornata (Martin, 2007).

## 4.2. Soluzioni con agenti bagnanti

Utilizzare soluzioni con all'interno agenti bagnanti è un metodo particolarmente adatto per le lenti giornaliere monouso che possono essere confezionate in un blister con l'aggiunta di particolari molecole. Quando la lente è inserita nell'occhio, tali sostanze formano un cuscinetto sulla superficie della lente a contatto, facilitando la bagnabilità e dunque la lubrificazione. Questo metodo è efficace principalmente nelle prime ore di uso, poiché le sostanze vengono progressivamente diluite dalle lacrime, per effetto degli ammiccamenti. Per le lenti a ricambio frequente, ma non giornaliere, lo stesso risultato può essere ottenuto inserendo gli umettanti nei liquidi di conservazione, oppure instillando umettanti in gocce.

### 4.2.1. HPMC

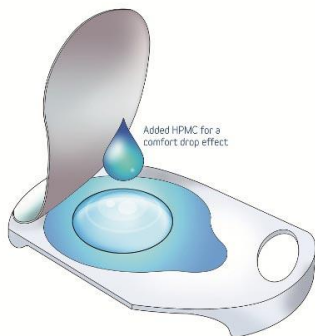


Figura 4.6- HPMC all'interno del blister. Da myalcon.com.

L'Idrossipropilmetilcellulosa (HPMC), chiamata anche Ipromellosa (INN), è un polimero viscoelastico semisintetico. È una sostanza utilizzata non solo nel campo contattologico ma anche farmaceutico ed alimentare. La sua struttura molecolare si basa su un composto di celluloidi altamente solubile in acqua. I dati attuali dimostrano che quando viene applicata una soluzione per le lenti a contatto multiuso contenente HPMC, essa determina un aumento dello spessore del film lacrimale, grazie al suo adsorbimento sulla superficie della lente. Questo si traduce con un miglioramento della lubrificazione lente – superficie oculare. Inoltre, nello studio di Thai Lee C. si è osservato che il 75% dei soggetti che indossavano lenti

trattate HPMC hanno avuto tempi di rottura del film lacrimale superiore ai 6 secondi contro il 50% dei soggetti con lenti non trattate con soluzione HPMC, che dimostravano un TBUT inferiore ai 6 secondi.

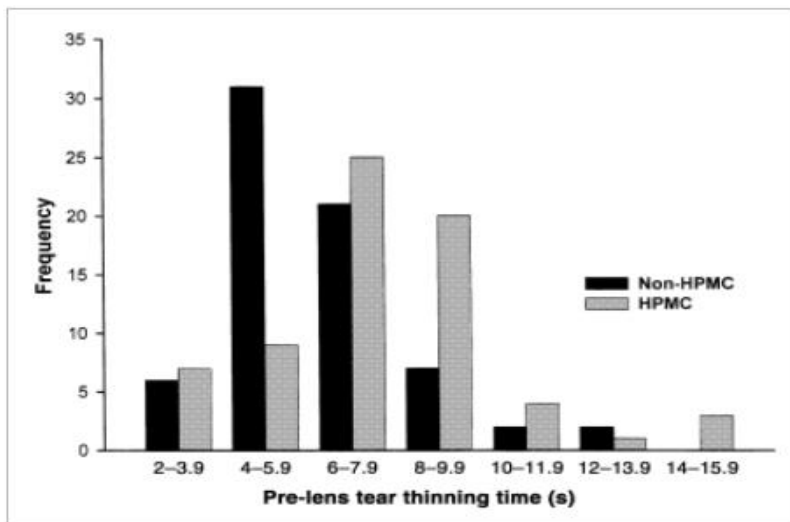


Figura 4.7- Distribuzione della frequenza del tempo di rottura del film lacrimale dove le lenti trattate con HPMC hanno tempi più elevati. Da Simmons, 2001.

D'altra parte, però la presenza di HPMC nella soluzione non è stata in grado di migliorare o ridurre il tasso di evaporazione del film lacrimale in modo significativo.

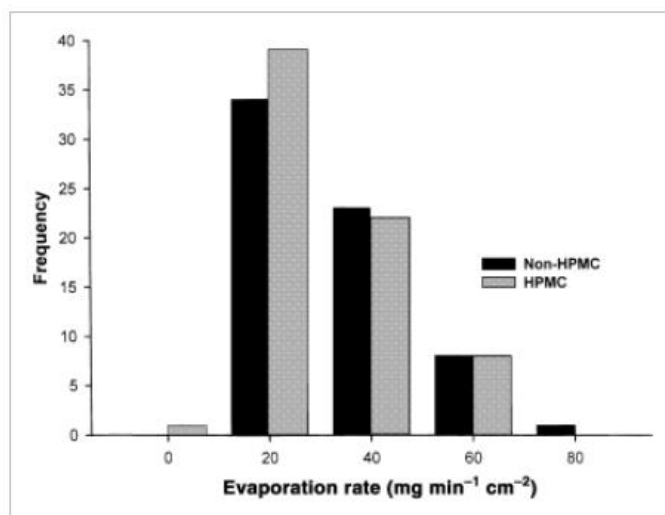


Figura 4.8-Distribuzione di frequenza dei tassi di evaporazione lacrimale pre-lente. Le soluzioni multiuso HPMC e non HPMC hanno distribuzioni simili. Da Simmons, 2001.

Ciò può essere dovuto al breve tempo di permanenza sulla superficie oculare, o più probabilmente, che qualsiasi effetto di HPMC in una soluzione per lenti a

contatto, è insufficiente a compensare il forte aumento della velocità di evaporazione lacrimale prodotta dalla presenza fisica della lente. L'elevata velocità di evaporazione del film lacrimale è però incoerente con l'aumento del tempo di rottura dello strato lipidico e la migliore struttura del film lacrimale pre-lente trovati in presenza di HPMC. Questa incongruenza può essere risolta se si accetta che l'obiettivo di HPMC in una soluzione è migliorare la superficie della lente in modo che possa sostenere uno strato più spesso di film lacrimale. Quest'ultimo più spesso, sebbene evapori relativamente veloce, richiederà più tempo, prima che ciò avvenga (Thai, 2002). Per quanto riguarda il comfort, valutato su centoquarantasette soggetti, è stato riscontrato come le lenti trattate con soluzione contenente HPMC siano più confortevoli, rispetto a quelle non trattate (Simmons, 2001).

### **4.3 Legame tra matrice polimerica e agenti umettanti/lubrificanti**

Nuove tecnologie hanno permesso di inserire l'agente lubrificante non solo nella soluzione di conservazione, ma nella miscela polimerica. In tal caso l'induzione di una tensione superficiale più bassa e la riduzione della frizione tra il margine della superficie oculare e la superficie della lente a contatto dovrebbero essere mantenuti per l'intero periodo di uso della lente a contatto.

#### **4.3.1. PVP**

Il polivinilpirrolidone (PVP), anche chiamato comunemente polividone è un polimero idrosolubile ottenuto dal monomero N-vinilpirrolidone. Il PVP oltre ad essere utilizzato in soluzioni oftalmiche, in contattologia si presenta anche come agente bagnante incorporato nella matrice delle lenti. Tra i materiali di lenti a contatto che utilizzano questo tipo di trattamento troviamo le lenti silicone idrogel senofilcon A, narafilcon A galyfilcon A, ma anche le etafilcon A, idrogel IV FDA. I

materiali incorporano una lunga catena ad alto peso molecolare, progettata per fornire uno strato idrofilo anche sulla superficie della lente. Uno studio di Roba et al. ha dimostrato come l'incorporazione di questo agente bagnante all'interno della lente rispetto all'etafilcon A senza PVP garantisca un coefficiente d'attrito minore, non solo prima dell'utilizzo ma anche dopo un processo di usura eseguito in vitro (Roba, 2011).

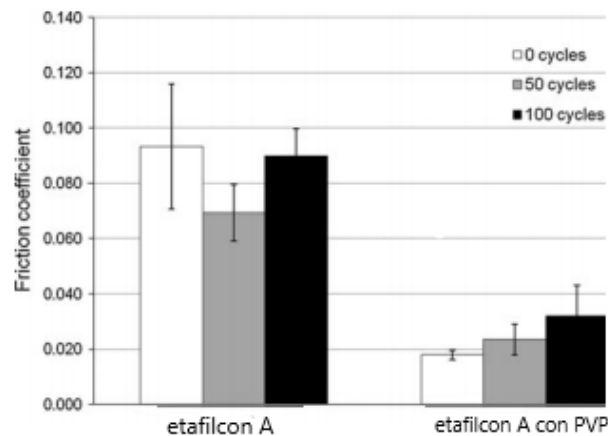


Figura 4.9-

Roba, 2011.

Uno studio più recente condotto invece su lenti senofilcon A con PVP ha evidenziato come il coefficiente d'attrito di queste lenti non aumentasse dopo un'usura simulata in vitro. Esse infatti non mostravano alcun incremento rilevante con un coefficiente d'attrito da  $0.010 \pm 0.003$  a  $0.012 \pm 0.005$  (Sterner, 2016). Un ultimo materiale in cui è stato incorporato questo agente lubrificante è il samfilcon A. Il processo di incorporazione bifasica in cui dapprima si è creata una matrice flessibile di silicone a tre polimeri e solo nella seconda fase è stato incorporato il PVP, ha dimostrato come porti ad avere concentrazioni di PVP quattro volte maggiori rispetto alle senofilcon A, definendo una maggiore bagnabilità della lente e non solo in superficie (Hoteling, 2017). Questo è stato riscontrato con un recente studio clinico dove dopo l'ammiccamento il 70,0% di samfilcon A erano

completamente bagnati rispetto al 30,0% delle lenti senofilcon A ( $p = 0,021$ ) (Schafer, 2018).

#### **4.3.2. PEG**

Il glicole polietilenico (PEG) o ossido di polietilene (PEO) o poliossietilene (POE) è un polimero preparato per polimerizzazione dell'ossido di etilene. Sebbene le sigle PEG, PEO e POE siano equivalenti in chimica (riferendosi tutte e tre al glicole polietilenico), storicamente tali sigle si utilizzano per riferirsi a miscele polimeriche di glicole polietilenico aventi pesi molecolari medi differenti:

- POE: peso molecolare medio minore di 20.000 g/mol;
- PEG: peso molecolare medio di 20.000 g/mol;
- PEO: peso molecolare medio maggiore di 20.000 g/mol.

Le proprietà fisiche del glicole polietilenico (come ad esempio la viscosità) variano in base alla lunghezza media delle macromolecole, ovvero al numero medio  $n$  di unità ripetitive, mentre le proprietà chimiche rimangono pressoché inalterate. L'assenza di tossicità del PEG ne permette l'uso in campo farmaceutico e in particolare per formulazioni oftalmiche. Il PEG è stato usato nei lubrificanti oculari per decenni ed è noto per migliorare la bagnabilità della superficie della lente, che migliora il tempo di rottura della lacrima, aumenta la lubrificazione e riduce la deposizione di proteine e lipidi (Sindt, 2015). Nel 2015 è stato brevettato un nuovo trattamento per incrementare la bagnabilità della lente e garantire una lubrificazione, chiamato hydra-PEG.

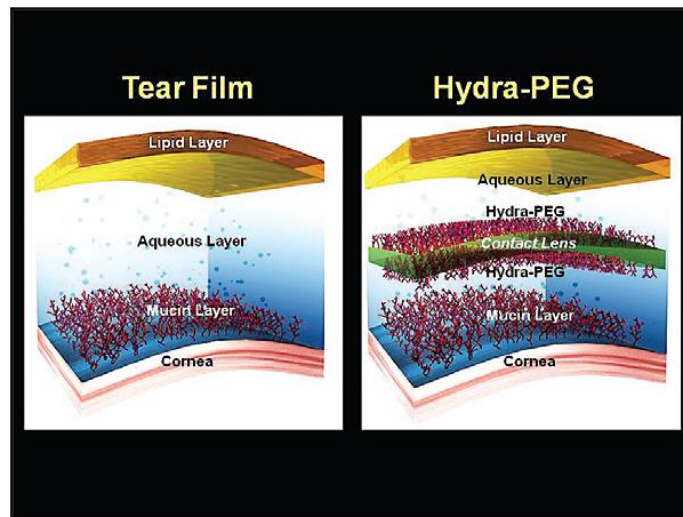


Figura 4.10-A sinistra il film lacrimale; a destra l'interazione del film lacrimale con la lente modificata hydra-PEG. Da Patrick J. Caroline, 2015.

L'Hydra-PEG (Ocular Dynamics) è un polimero di polietilenglicole (PEG) con il 90% di acqua che può essere legato in modo covalente (permanente) alle superfici di lenti sia morbide che rigide. Il rivestimento incapsula la lente a contatto con un guscio idrofilo simile alla mucina per aiutare a migliorare la bagnabilità della superficie e ridurre la formazione di depositi. Il processo di applicazione consiste in una prima fase di preparazione dove alla superficie della lente è aggiunto un attivatore funzionale alla miscela di monomeri o eseguito un breve trattamento superficiale al plasma. Successivamente la lente attivata viene immersa nei polimeri Hydra-PEG durante la fase di idratazione, oppure i polimeri Hydra-PEG vengono aggiunti al blister durante il processo nell'autoclave. In entrambi i casi, l'Hydra-PEG si lega permanentemente alla superficie della lente. Sono stati effettuati diversi studi clinici sull'efficacia di questo trattamento. Ventiquattro portatori di lenti morbide abituali sono stati selezionati per i loro sintomi auto-riferiti di secchezza e disagio della lente. I soggetti sono stati dotati di due coppie diverse della stessa lente SiHy. Una coppia è stata trattata con Hydra-PEG e l'altra non è stata trattata. Le lenti venivano indossate ogni giorno per sette giorni consecutivi e disinfettate di notte con un sistema di perossido di idrogeno. I soggetti hanno valutato il comfort delle loro lenti (1 = scarso a 10 = eccellente) a tre intervalli di tempo: dopo l'applicazione della lente del mattino, a metà giornata



e alla fine della giornata. Si può notare nel grafico come i punteggi di comfort relativi alle lenti trattate siano nettamente maggiori (Sindt, 2015).

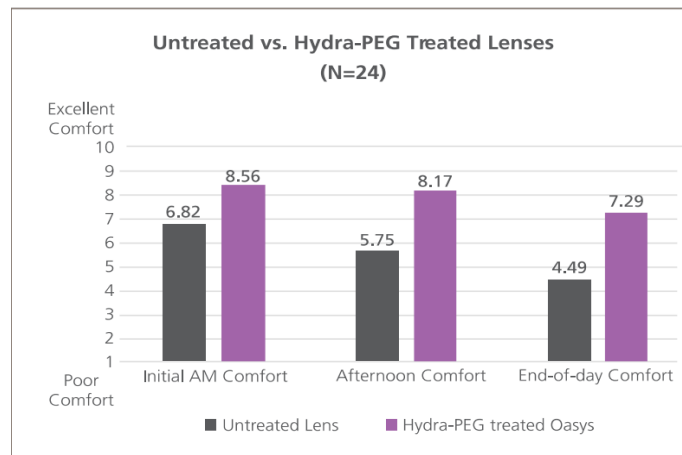


Figura 4.11- Comparazione del comfort soggettivo ad inserimento della lente, metà giornata e fine della giornata di lenti non trattate e lenti trattate Hydra-PEG. Da Da Cristine W. Sindt, 2016.

A confermare ciò c'è anche lo studio condotto da Maria Walker dove il 69% (n = 11) dei soggetti ha preferito le lenti con rivestimento di Hydra-PEG rispetto alle altre lenti, confermando un significativo miglioramento dei livelli di comfort di fine giornata con lenti rivestite (P <0,05).

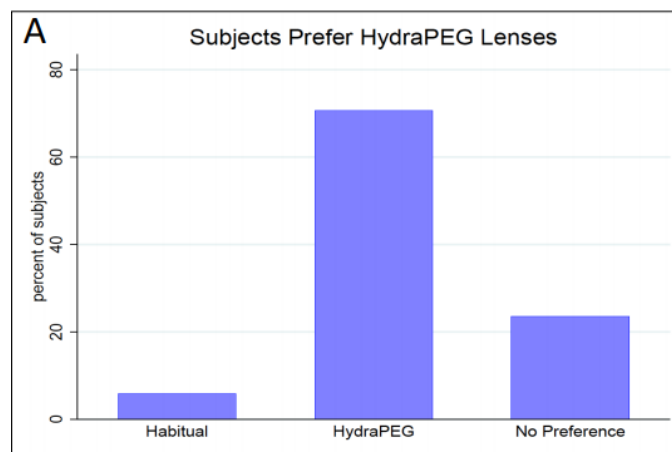


Figura 4.12- - Percentuale dei soggetti che scelgono lenti abituali, lenti trattate Hydra-PEG e quelli che non hanno preferenza. Da Walker, 2015.

Oltre ad un'analisi soggettiva è stata svolta anche un'analisi oggettiva che ha evidenziato come l'angolo di contatto nelle lenti trattate Hydra-PEG sia minore rispetto alle stesse non trattate. Questo sta ad indicare una migliore bagnabilità superficiale della lente (Sindt, 2015).

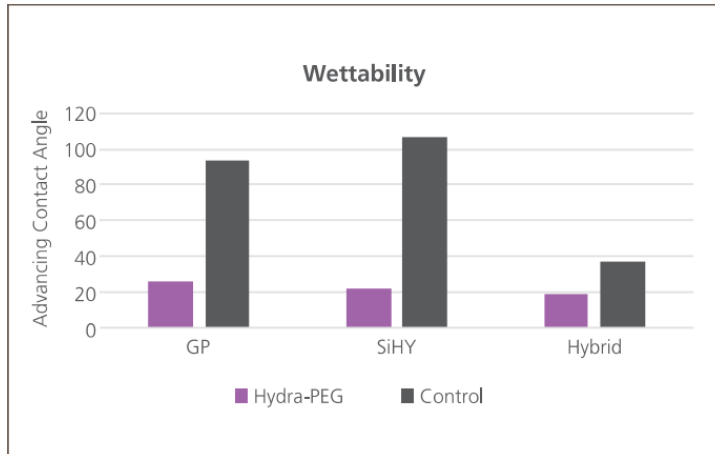


Figura 4.13- Angolo di contatto di lenti rigide, SiHy e Hybrid trattate e non trattate. Valori bassi indicano una buona bagnabilità della lente. Da Cristine W. Sindt, 2016.

Inoltre l'analisi del Tear Break up time con un topografo per visualizzare la rottura lacrimale sulla superficie delle lenti, ha evidenziato come questa avvenisse sopra i 10 secondi con lente trattata contro i 1-5 secondi con la lente non trattata (Caroline, 2015).

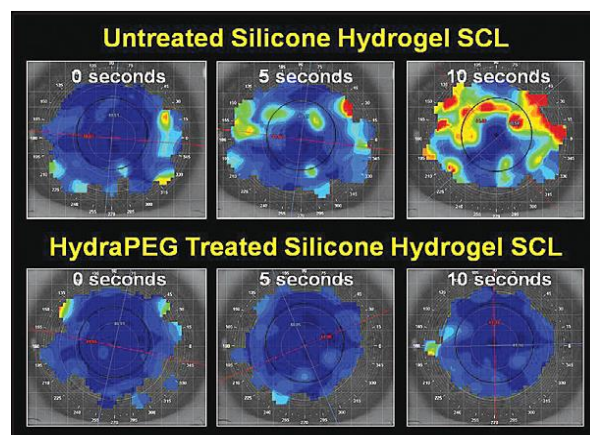


Figura 4.14- Le immagini in alto mostrano la qualità della superficie di una lente SiHy non trattata dopo otto ore di uso della lente a 0, 5 e 10 secondi dopo un battito di ciglia. Le immagini sottostanti mostrano lo stesso paziente con una lente trattata con Hydra. Da Patrick J. Caroline, 2015.

## **4.4. Polimerizzazione e rilascio di agenti umettanti/lubrificanti**

Un'ultima soluzione adottata è stata l'incorporazione di agenti umettanti/lubrificanti in modo che vengano rilasciati lentamente, nel tempo, sulla superficie della lente a contatto, al fine di ottimizzare ulteriormente il comfort.

### **4.4.1. PVA**

Il PVA, ossia l'alcool polivinilico, è un composto chimico ottenuto per idrolisi alcalina, di esteri polivinilici. Il PVA non è tossico, è solubile in acqua e moderatamente viscoso a concentrazioni leggermente elevate. I ricercatori ritengono che il PVA agisca diminuendo la tensione superficiale delle lacrime in modo che si diffondano più facilmente sulla superficie dell'occhio e non si rompano in punti asciutti. Inizialmente il PVA è stato utilizzato sia all'interno di lacrime artificiali, ma anche cross-linkato all'interno di idrogel per aumentarne l'idrofilia. Data la natura di questo composto con esso si è sviluppata una nuova tecnologia. Al materiale Nelficon A, Il gruppo FDA, contenente PVA funzionale, è stato aggiunto PVA non funzionale. Attraverso tecniche brevettate, questo PVA non legato, aggiunto in una dimensione e quantità molecolare attentamente selezionata, viene incorporato nella matrice polimerica del nelfilcon A e lentamente viene rilasciato dalla lente per tutto il giorno. Questo rilascio di PVA, chiamato AquaRelease, è attivato a intermittenza (Peterson, 2006). La pressione di ciascun ammiccamento schiaccia la lente, pompando quantità minime di PVA sulla superficie della lente, distribuendola sulla superficie e rilasciando piccole quantità nel film lacrimale.

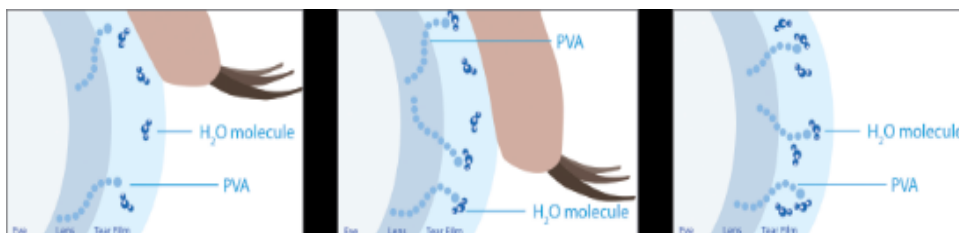


Figura 4.15- Come il PVA all'interno della lente interagisce con l'ammiccamento palpebrale. Da myalcon co.uk

A differenza del rilascio rapido che si verifica con l'instillazione di gocce, AquaRelease dunque rilascia sulla lente piccole quantità di PVA ad ogni battito d'occhio per aiutare a fornire bagnabilità e lubrificazione. La ricerca indica che agenti come il PVA interagiscono con il film lacrimale per stabilizzare le lacrime e hanno un tempo di permanenza più lungo negli occhi. Questi effetti possono aumentare il comfort e ridurre la secchezza rispetto al materiale originale nelfilcon A. Studi clinici hanno infatti evidenziato come comfort soggettivo e TBUT sono migliorati per lenti con AquaRelease rispetto agli obiettivi originali nelfilcon A ( $p < 0,05$ ) (Peterson, 2006).

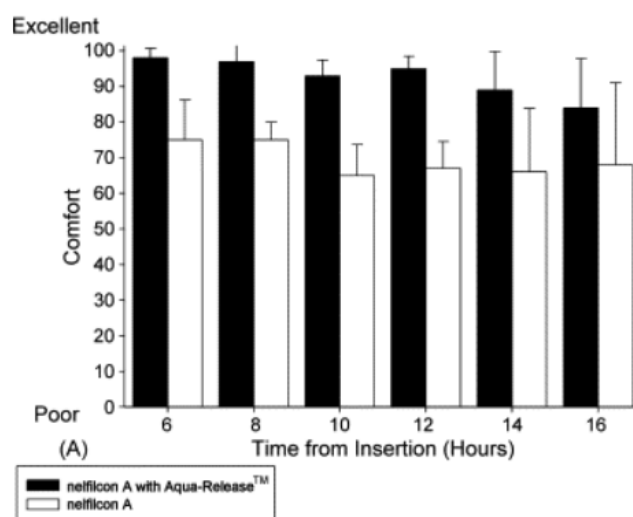


Figura 4.16- Confronto del comfort soggettivo tra lenti nelfilcon A e nelfilcon A con PVA non funzionale.  $n = 5$ . Error bars =  $\pm 1$  S.D. Da Peterson, 2006.

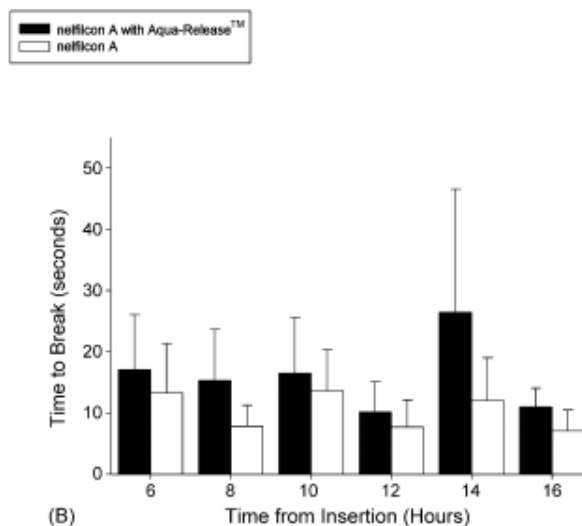


Figura 4.17- Confronto del TBUT tra lenti nelficon A e lenti nelficon A con PVA non funzionale.,  $n = 5$ . Error bars  $\pm 1$  S.D. Peterson, 2006.

Al fine di ottimizzare ulteriormente il comfort, tale lente utilizza anche una nuova miscela umettante con tripla azione. Essa infatti può essere confezionata in un blister con una soluzione di conservazione con sostanze come HPMC e PEG. Il primo favorisce il comfort iniziale, il secondo si associa al PVA, determinando un maggior rilascio di agenti umettanti che lubrificando la superficie della lente, ne riducono l'attrito. Le nelficon A contenenti PVA, poli (etilenglicole) (PEG) e idrossipropilmetilcellulosa (HPMC) come agenti bagnanti, hanno però mostrato un aumento significativo ( $P < 0,05$ ) di CoF dopo l'usura da  $0,025 \pm 0,009$  a  $0,070 \pm 0,022$ . Ciò potrebbe essere correlato ad un esaurimento di questi agenti bagnanti nel tempo, di questa particolare lente (Sterner, 2016). Infatti secondo un ulteriore studio il rilascio di PEG e HPMC dalle lenti avviene molto rapidamente; si è verificato che questo avviene entro le prime 1,5 ore ( $P < 0,05$ ), dove il rilascio di PEG è maggiore di quello di HPMC ( $P < 0,05$ ). L'attuale studio dimostra anche che il PVA rilasciabile liberamente legato a lenti in idrogel, per la maggior parte viene rilasciato entro 4,5 ore. (Phan, 2018).

## 5. I LUBRIFICANTI FISIOLGICI

Il processo di evoluzione della natura ha definito una varietà di lubrificanti fisiologici per minimizzare l'attrito tra bio - interfacce scorrevoli. A livello oculare abbiamo visto nel capitolo 1.1.1. come il film lacrimale, e in particolar modo le mucine abbiano un ruolo fondamentale nel minimizzare l'attrito palpebra- cornea. Esse infatti nascondono la membrana cellulare idrofobica, consentendo ad acqua e mucine solubili di aderire alla superficie, conferendo stabilità alla lacrima e soprattutto proprietà viscoelastiche. La nuova frontiera che si sta aprendo nella continua ricerca scientifica delle lenti a contatto, per cercare di aumentare la bagnabilità e ridurre così l'attrito della lente con la palpebra e la cornea, sono i lubrificanti fisiologici, che presenti già naturalmente sulla superficie oculare hanno un comportamento molto simile alla mucina. In questo capitolo si riporta una panoramica dei primi e recenti studi effettuati a livello contattologico con l'acido ialuronico e il proteoglicano 4.

### 5.1. HA- l'acido ialuronico

L'acido ialuronico (HA) è un polisaccaride lineare formato da unità di disaccaridi contenenti N-acetyl-d-glucosamine e acido glucuronico. Possiede una massa molecolare nell'ordine dei milioni di Dalton ed è dotato di interessanti proprietà viscoelastiche e reologiche (Tannin, 2014). L'HA è presente in numerosi fluidi e tessuti biologici, nei quali gioca un ruolo fondamentale. Nel corpo umano è sintetizzato per mezzo di enzimi chiamati Hyaluronic-Acid-Synthase (HAS); la sua sintesi è normalmente bilanciata dal contemporaneo catabolismo, pertanto la sua concentrazione nei tessuti rimane costante. L'HA appartiene ad un gruppo di sostanze conosciute come glicosaminoglicani (GAGs) e, tra queste, è il polimero strutturalmente più semplice perché è l'unico che non si presenta associato o

legato a proteine. L'HA è largamente diffuso nel corpo umano e in quello degli altri vertebrati, ma la sua maggiore presenza si riscontra nella matrice extracellulare dei tessuti connettivi lassi. Si stima che in un essere umano adulto del peso di circa 70 Kg, vi siano 15 g di HA dove la maggior concentrazione di HA si trova nel fluido sinoviale, nel cordone ombelicale e nell'umore vitreo. Nel fluido sinoviale, l'alta concentrazione di HA ad elevata massa molare provvede alla necessaria lubrificazione dell'articolazione, assorbe efficacemente gli shock meccanici, riduce la frizione tra le ossa in movimento e previene l'usura delle articolazioni (Fagnola, 2010). Esso però, ha una varietà di altre funzioni tra cui l'idratazione dei tessuti, la riparazione delle ferite e la modulazione dell'infiammazione (Scheuer, 2010).

### **5.1.1. HA in oftamologia**

L'HA oltre ad essere presente nell'umor vitreo lo è anche in molte altre strutture oculari tra cui il tessuto lacrimale, l'epitelio congiuntivale, lo stroma congiuntivale, l'epitelio corneale, l'endotelio corneale, nei cheratociti e matrice extracellulare, nonché nella maggior parte dei fluidi biologici comprese le lacrime. I numerosi vantaggi dell'HA nel film lacrimale e nella superficie corneale sono (Scheuer, 2016):

- Mantiene l'acqua
- Ispessisce il film lacrimale
- Aumenta il tempo di rottura del film lacrimale
- Stabilizza il film lacrimale
- Riduce il tasso di evaporazione lacrimale
- Mantiene la bagnabilità corneale e previene la disidratazione corneale
- Lubrifica la superficie oculare durante l'ammiccamento
- Diminuisce la frequenza degli ammiccamenti
- Allevia i sintomi dell'occhio secco
- Stabilizza la barriera epiteliale superficiale oculare
- Promuove la migrazione epiteliale corneale

- Previene il danno cellulare ossidativo mediato dai radicali liberi
- Riduce l'infiammazione oculare
- Migliora gli effetti tossici dei conservanti per soluzioni oftalmiche
- Promuove la guarigione delle ferite e la riparazione epiteliale.

Berry et al. hanno riscontrato un'ampia variazione delle concentrazioni di HA negli occhi normali, che variava da non rilevabile a 840,6 mg / L. Le concentrazioni nei portatori di lenti a contatto variavano da 1,4 a 40 mg / L. È stato anche rilevato un intervallo di concentrazioni nei campioni prelevati dai pazienti con occhio secco (da 0 a 100 mg / L) (Marjorie, 2011).

L'acido ialuronico grazie alle sue proprietà viscoelastiche è utilizzato anche in numerosi interventi chirurgici in campo oftalmologico, sia per proteggere i tessuti oculari più delicati che per procurare spazi durante la manipolazione chirurgica. Il suo maggior utilizzo consiste però nella sostituzione o nell'integrazione del corpo vitreo perso durante varie manovre chirurgiche, la più frequente delle quali è l'impianto di IOL. Le soluzioni a base di HA sono anche utilizzate come protettori viscoelastici dell'endotelio corneale durante gli interventi di trapianto corneale. (Scheuer, 2010).

## **5.2. HA in contattologia**

L'HA essendo una delle molecole più igroscopiche presenti in natura se idratato, può contenere una quantità di acqua mille volte superiore al proprio peso. Questa eccezionale capacità di ritenzione idrica viene sfruttata per migliorare l'idratazione dell'area precorneale. Un'altra rilevante caratteristica dell'HA è la muco-adesività, che permette di formare un rivestimento duraturo e di fornire una stabile protezione alla superficie corneale (Fagnola, 2010). L'HA è uno dei principi attivi più impiegati nei numerosi sostituti lacrimali in commercio e nel trattamento delle varie forme di occhio secco (da quelle più gravi a quelle marginali). In



contattologia, l'HA è stato inserito nelle formulazioni delle soluzioni per la manutenzione delle lenti a contatto, in quanto provvede a migliorare e prolungare il comfort dei portatori aumentando la bagnabilità della lente (Singh, 2015). In questi ultimi anni, sono state studiate anche lenti contenenti HA nella loro matrice polimerica; tali lenti sfruttano le ben note proprietà dell'HA per migliorare il comfort durante le ore di porto. Le fonti di approvvigionamento di HA sono generalmente vari tessuti animali, come la cresta del gallo o il globo oculare del bovino, che ne contengono a quantità molto elevate. Ovviamente poi devono essere adottate delle specifiche procedure per renderlo puro, ottenendo preparati di HA di dimensioni compresi tra alcune centinaia di migliaia di Dalton fino a circa 2,5MDa. Questa metodologia approvata dall'FDA è tutt'oggi affiancata da HA prodotto attraverso fermentazione, che viene secreto da microrganismi come lo *Streptococcus zooepidermicus* o *Bacillus subtilis* (Fagnola, 2010).

### **5.2.1. Soluzioni con HA**

Una soluzione multiuso disponibile commercialmente, incorporando HA sfrutta il comportamento non newtoniano molto simile alla mucina del film lacrimale e la notevole capacità di ritenzione idrica per creare un unico sistema progettato per migliorare la bagnabilità di superficie e l'idratazione. Vari materiali di lenti a contatto immersi per 8 ore in questa soluzione contenente HA hanno mostrato un successivo rilascio della biomolecola per ben 20 ore, garantendo dunque per tutto questo tempo un'ottima bagnabilità della superficie della lente (Scheuer, 2012).

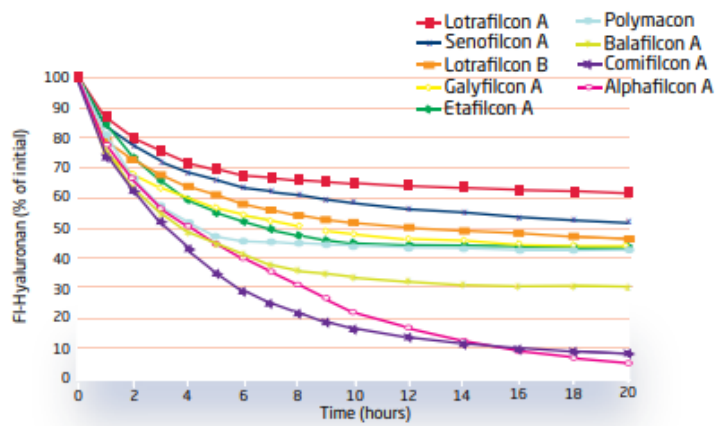


Figura 5.1- Rilascio di HA da lenti idrogel e silicone hydrogel. Da Scheuer, 2012.

Inoltre lenti senofilcon A hanno dimostrato che se trattate con soluzione ad alto peso molecolare di HA, l'eluizione della biomolecola anche dopo due ore dall'inserimento, garantisce quantità di HA nella lacrima superiore al normale (film lacrimale-baseline) ( $p=0,009$ ) e alla lente trattata con soluzione salina ( $p=0,33$ ) (Scheuer, 2016).

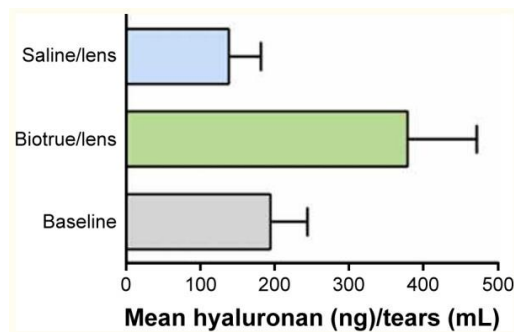


Figura 5.2-Rilascio nelle lacrime di HA. Da Scheuer, 2016.

Uno studio eseguito su 28 persone ha messo in evidenza invece, come lenti trattate con soluzione di HA rispetto a quelle non trattate risultassero avere un miglior comfort e bagnabilità. Inoltre si è osservato come la presenza di HA nelle lacrime dopo quattro settimane risultasse essere minore per lenti non trattate, mentre quelle trattate non mostravano alcuna differenza significativa (Kim, 2011).

Per lenti SiHy commercialmente disponibili, balafilcon A, senofilcon A e samfilcon A, trattate con soluzioni contenente acido ialuronico allo 0,1%, è stata condotta anche un'analisi della superficie attraverso AFM, la quale ha definito che il suo adsorbimento portava ad una diminuzione della ruvidità superficiale e della dimensione dei pori. (Wygladacz, 2016).

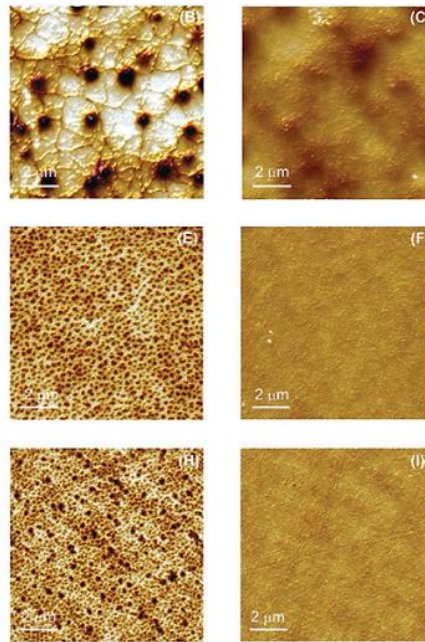


Figura 5.3- AFM del prima e del dopo adsorbimento di HA in soluzione per balafilcon A, senofilcon A e samfilcon A. Da Wygladacz, 2016.

Tavazzi et al. hanno usato invece la microscopia elettronica a scansione (SEM) per l'immagine di un obiettivo SiHy (Safilens, Italia) prima e dopo l'adsorbimento di  $10^3$  kDa HA a fluorescenza marcata. La dimensione dei pori è diminuita dopo l'incubazione con la soluzione di HA, suggerendo assorbimento da parte della lente.

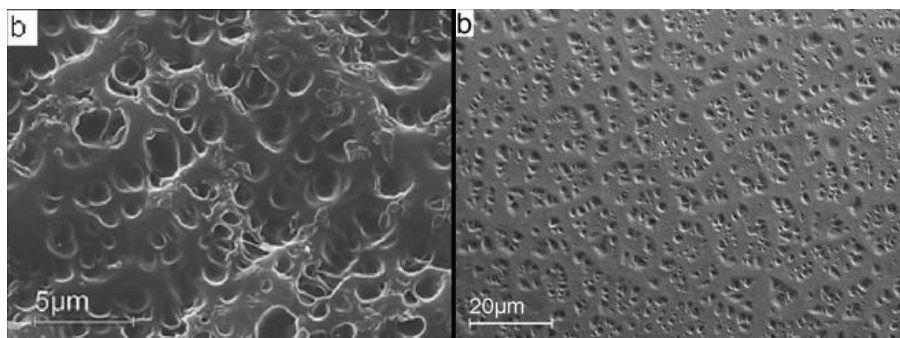


Figura 5.4- SEM del prima e dopo adsorbimento di HA in soluzione per lenti SiHy. Da Tavazzi, 2015.

Successivamente queste lenti sono state sottoposte ad un'usura di 8 ore e di due settimane di uso quotidiano, dimostrando in SEM un aspetto morfologico completamente differente. Infatti il più lungo tempo di usura (due settimane) ha prodotto una superficie con regioni di gonfiore, che potrebbero essere riempite da HA, riscontrabile anche con la micrografia confocale a fluorescenza. La modifica è stata dunque attribuita al rilassamento della rete polimerica vicino alla superficie (Tavazzi, 2015). È stato infine riscontrato un coefficiente d'attrito minore per lenti in SiHy trattate con HA alla concentrazione di 1.2 mg/mL in soluzione salina; infatti, da  $0.31 \pm 0.03$  in soluzione salina, il coefficiente d'attrito si riduce con l'HA a  $0.23 \pm 0.04$  ( $p < 0.05$ ) (Samsom, 2017).

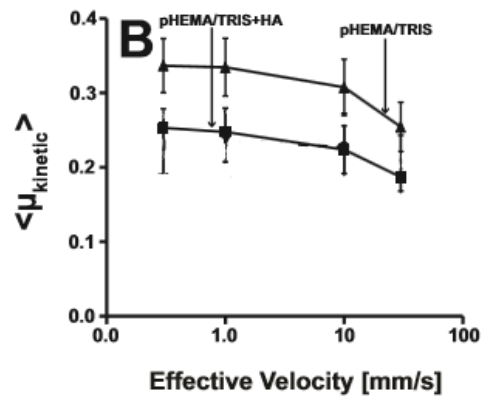


Figura 5.5-

logaritmica). Da Samsom, 2017.

### 5.2.2. Legame matrice polimerica e HA

Sono stati riportati vari metodi per incorporare l'HA, o all'interno della lente (facilitando la bagnatura mediante rilascio lento di HA) oppure immobilizzando HA sulle superfici della lente (facilitando la bagnatura direttamente all'interfaccia). Le lenti prese in considerazione per l'incorporazione di acido ialuronico sono state sia per le lenti idrogel pHEMA e SiHy pHEMA/TRIS. In un primo studio sono stati sviluppati materiali per lenti modello basati su poli (2-idrossietilmetacrilato) (pHEMA) che incorporano acido ialuronico (HA) e quindi intrappolato fisicamente

a vari pesi molecolari come agente bagnante. La presenza di HA nel materiale è stata inoltre confermata da aumenti della temperatura misurati mediante calorimetria a scansione differenziale (DSC) e piccoli aumenti della rigidità misurata con il test Instron. I campioni reticolati hanno mostrato angoli di contatto significativamente più bassi ( $p = 0,00037$  e  $0,00017$  per 35 e 169 kDa reticolati HA, rispettivamente) rispetto ai controlli pHEMA in tutti i tempi studiati. Invece per il campione con soluzione da 35 kDa, l'HA sembra essere rilasciato entro 30 min, mentre gli angoli di contatto per i campioni da 169 kDa sono rimasti leggermente ma significativamente ( $p = 0,036$ ) inferiori ai controlli pHEMA per tutte le 4 h dell'esperimento.

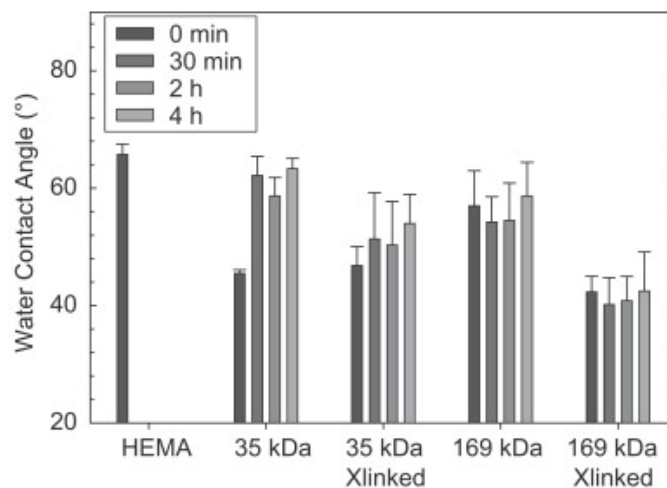


Figura 5.6- Angolo di contatto per lente idrogel HEMA, con HA adsorbito o cross-linkato a diversi pesi molecolari. Da Van Beek, 2008.

L'HA reticolato, dunque pur essendo presente in quantità molto ridotte, ha provocato angoli di contatto dell'acqua costantemente più bassi su 4 ore rispetto ai controlli, indicando che l'HA è presente all'interfaccia e non è stata rilasciata in un breve lasso di tempo (Van Beek, 2008). Uno studio condotto da Weeks ha infatti riferito di un rilascio prolungato di 21 giorni per le idrogel convenzionali e di oltre 7 settimane per la lente in silicone idrogel, in cui l'HA è stato incorporato attraverso fotopolimerizzazione metacrilata. Anche in questo caso l'acido ialuronico ha aumentato l'idrofilia e il contenuto idrico di equilibrio delle lenti senza compromettere la trasparenza. Inoltre ha ridotto l'angolo di contatto rispetto alle lenti controllo migliorandone così la bagnabilità superficiale (Weeks,

2013). Uno studio più recente conferma come l'acido ialuronico incorporato covalentemente all'interno della matrice polimerica aumenti la bagnabilità sia di un idrogel convenzionale che di un silicone idrogel. L'angolo di contatto per pHEMA è infatti diminuito da  $67^\circ \pm 5^\circ$  a  $45^\circ \pm 6^\circ$  ( $p < 0,05$ ), mentre per pHEMA / TRIS è diminuito da  $83^\circ \pm 7^\circ$  a  $53^\circ \pm 5^\circ$  ( $p < 0,05$ ) (Samsom, 2017).

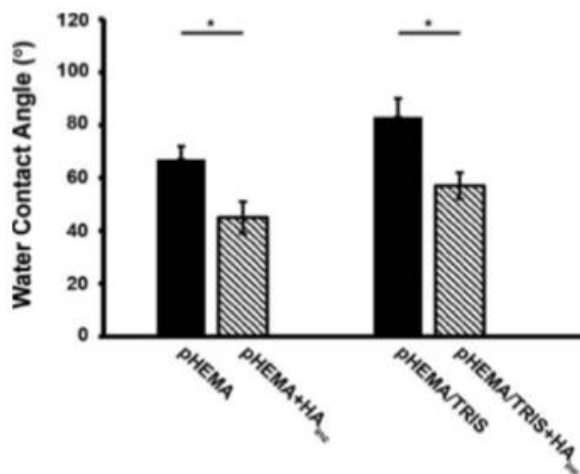


Figura 5.7- Angolo di contatto di lenti idrogel senza e con HA e di lenti SiHy senza e con HA. \* indica  $p < 0,05$ .  
Da Samsom, 2017.

Quando HA viene incorporato all'interno di pHEMA abbiamo però una modifica superficiale che porta ad un leggero incremento della rugosità superficiale (Van Beek, 2008). Questo può spiegare l'aumento del coefficiente d'attrito riscontrato dal recente studio di Samsom. Si ritiene che questo sia dovuto a differenze nelle interazioni superficiali tra HA e substrato, nonostante sia stato incorporate in esso. La natura specifica di queste interazioni è però ancora del tutto sconosciuta (Samsom, 2017).

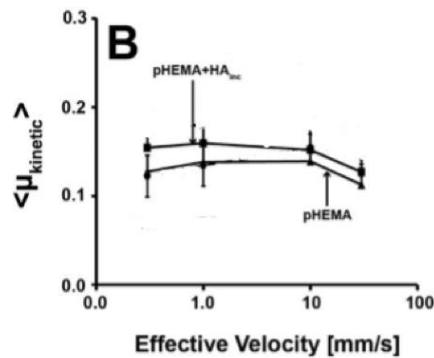


Figura 5.8-

(velocità in scala logaritmica). Da Samsom, 2017.

(velocità in scala

Sempre nello studio condotto da Samsom è stato analizzato anche il coefficiente di attrito delle lenti in SiHy, indicando come l'HA reticolato all'interno della matrice polimerica potrebbe essere invece in questo caso un efficace agente interno umettante e lubrificante per pHEMA / TRIS. Alla velocità di 0,3 mm/s pHEMA/TRIS+HA<sub>inc</sub> ha infatti un coefficiente d'attrito di  $0.172 \pm 0.022$ , rispetto a  $0.219 \pm 0.030$  di pHEMA/TRIS.

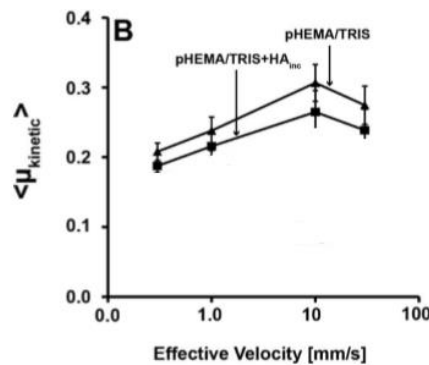


Figura 5.9- CoF lente SiHy con e senza HA incorporato. (velocità in scala logaritmica). Da Samsom. 2017.

L'immobilizzazione di HA sulla superficie è stata effettuata invece attraverso una tecnica chiamata "click chemistry" (chimica a scatto) che attraverso una laccasi/TEMPO mediata da l'ossidazione e un successivo innesto di HA attraverso semplice immersione ha permesso una copertura superficiale della lente di acido ialuronico. Tecnologia eseguita su lenti idrogel pHEMA ha permesso di esaltare

una superficie significativamente più bagnabile, più idrofila e meno legante alle proteine rispetto al pHEMA non modificato pur mantenendo le favorevoli trasparenza, rifrazione e proprietà meccaniche di una lente nativa. Rispetto al pHEMA non modificato (angolo di contatto  $69,7 \pm 1,5^\circ$ ), l'ossidazione ha ridotto l'angolo di contatto a  $41,5 \pm 0,9^\circ$ , mentre il successivo innesto di HA ha ulteriormente ridotto l'angolo di contatto a  $35,0 \pm 1,0^\circ$  (Deng, 2016). Come si può notare dalla figura l'angolo di contatto anche dopo 14 giorni tende a rimanere costantemente basso.

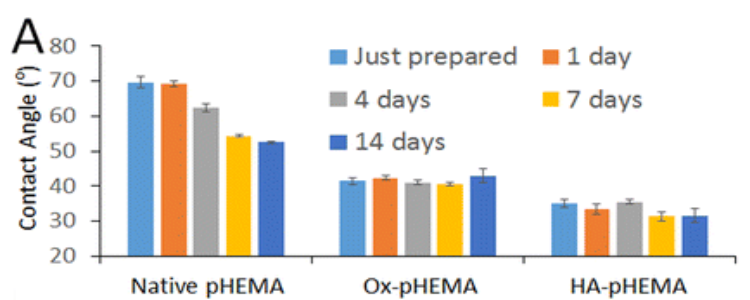


Figura 5.10- Angolo di contatto di lenti HEMA attraverso i vari step di immobilizzazione sulla superficie di HEMA e di giorni di usura. Da Deng, 2016.

Una lente commercialmente disponibile con incorporato l'HA, sono le lenti a contatto Filcon IV con tecnologia Fusion, le quali sono composte da due polimeri; il polimero sintetizzato (Filcon IV) costituisce la struttura solida della lente mentre la parte acquosa è arricchita con il bi-polimero naturale dell'acido ialuronico e del polisaccaride di semi di tamarindo. Si sostiene che il bi-polimero HA-TSP supporti l'idratazione della lente più lunga così come la lubrificazione e stabilizzazione continua del film lacrimale pre-corneale, migliorando così il comfort soggettivo mentre si indossa la lente (Safilens, 2014). Attraverso la misurazione dell'OSI si è potuto osservare infatti come il film lacrimale risultasse più stabile e la lente presentasse meno aree di secchezza con le lenti filcon IV aventi tecnologia fusion rispetto a quelle non trattate (Montani, 2018).



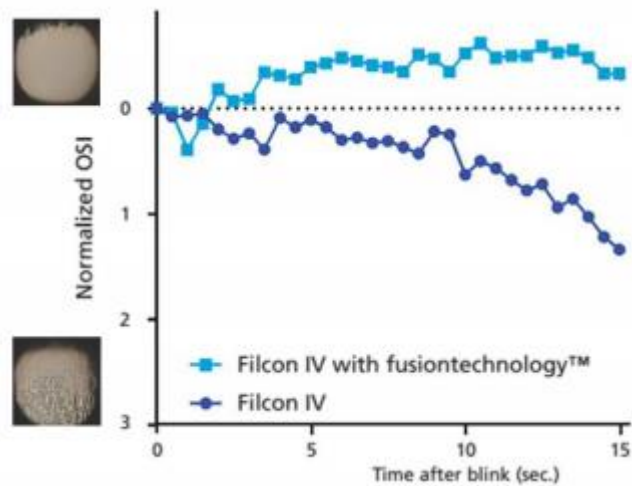


Figura 5.11- Misurazione OSI film lacrimale per lente filcon IV con e senza HA. Da Montani, 2018.

### 5.3. PRG4

Il proteoglicano 4 è una glicoproteina simile alla mucina codificata dal gene PRG4. Chiamata anche lubrificina, questa proteina è stata scoperta per la prima volta all'interno del liquido sinoviale, per poi essere stata osservata anche nella cartilagine articolare, nei menischi, nei tendini, nel cuore e nella pelle. Recenti studi hanno confermato la presenza del PRG4 anche sulla superficie oculare, dove il gene PRG4 viene trascritto e tradotto da cellule epiteliali corneali e congiuntivali. L'RNA messaggero del PRG4 è presente anche nelle ghiandole lacrimali e di Meibomio (Schmidt, 2013).

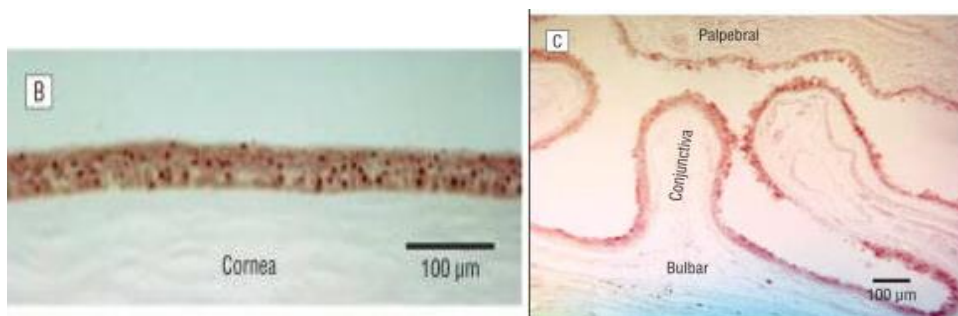


Figura 5.12- Marcatura della bio-molecola PRG4 in cornea e congiuntiva umana. Da Schmidt, 2013.

Il proteoglicano 4 è una molecola anfipatica, il che significa che può legarsi sia a superfici idrofobiche che idrofiliche; è in grado di esibire questo comportamento poiché ha un dominio centrale idrofilo simile alla mucina che può interagire in vivo con superfici idrofiliche e dei C- e N-terminale idrofobici che si pensa interagiscano con altri elementi idrofobici.

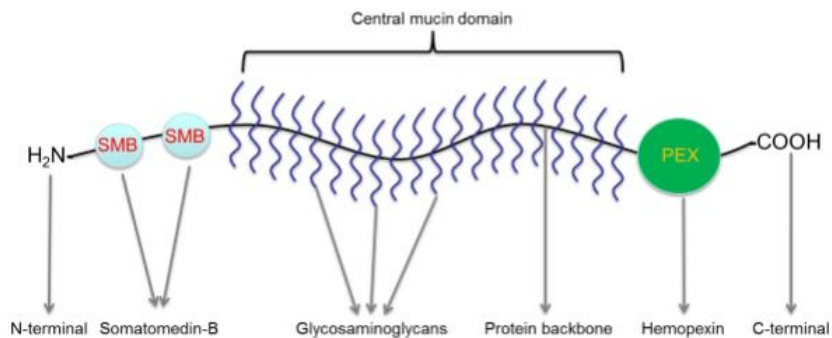


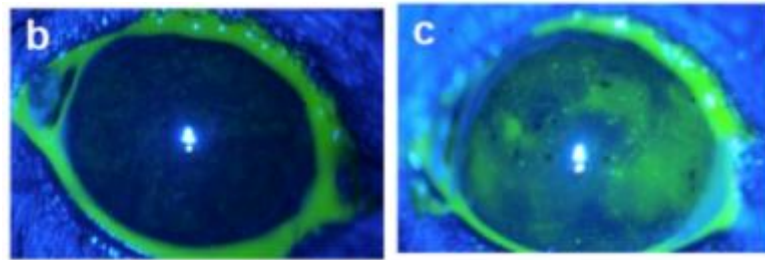
Figura 5.13- Struttura della molecola PRG4. Da Cheung, 2015.

Per una corretta funzione di lubrificazione, si pensa che i termini N- e / o C idrofobi dei domini proteici della molecola sono ancore che aderiscono alle superfici e che i domini di mucina idrofila creano un idratato e un basso attrito. (Samsom, 2017). L'avanzamento tecnologico in campo biologico ha fornito nuove tecniche per la manipolazione di molecole espresse dal DNA, permettendo la sintesi dell'espressione genica di PRG4 umano ricombinante a lunghezza intera (rhPRG4). La preparazione di rhPRG4 si è dimostrata equivalente alla capacità di lubrificare la superficie oculare di PRG4 nativo, suggerendo la disponibilità di rhPRG4, per il trattamento topico della malattia dell'occhio secco o di rivestimento biomateriale per le lenti a contatto per renderle più confortevoli da indossare (Samsom, 2014).

### 5.3.1. PRG4 in oftalmologia

La lubrificazione contribuisce in modo significativo al meccanismo di riduzione dell'attrito e protegge la cornea e la congiuntiva dalle significative forze di taglio generate durante un battito delle palpebre. In patologie come la malattia dell'occhio secco dove c'è poca o nessuna pellicola lacrimale che copre parti della

cornea, o in soggetti che lamentano discomfort per la lente, sarà presente un tipo di lubrificazione limite. Il PRG4 a livello oculare agisce proprio come lubrificante limite della superficie oculare e studi su cavie animali hanno osservato come la presenza di staining fosse associata ad una assenza della biomolecola, dimostrando dunque come che la carenza di PRG4 promuove il danno corneale e l'aumento dell'attrito tra la cornea e la palpebra (Schmidt, 2013).



*Figura 5.14- Presenza ed assenza di lubrificina in cavie animali, verificato attraverso staining con fluorescina.  
Da Schmidt, 2013.*

Un'indagine clinica ha valutato l'efficacia e la sicurezza della lubrificina umana ricombinante (rhPRG4) rispetto ad una soluzione di collirio di HA in soggetti con occhio secco moderato (DED). Eseguita a doppio cieco su 40 soggetti, è stato osservato che il lubrificante umano ricombinante con concentrazione di 150 µg / ml è stato trovato sicuro, ben tollerato e generalmente migliore allo 0,18% di acido ialuronico, migliorando i segni e i sintomi in soggetti DED moderati (Lambiase, 2017).

#### **5.4. PRG4 in contattologia**

In contattologia, per molti anni e ancora tutt'oggi ricercatori scientifici e industriali stanno cercando di ovviare al problema del discomfort indotto dalla lente a contatto. Un metodo potenzialmente promettente di riduzione dell'attrito delle lenti a contatto, e quindi di un possibile miglioramento del loro comfort in vivo, consiste nell'utilizzare proprio questa glicoproteina scoperta di recente sulla superficie oculare. Grazie alla sua capacità di adsorbire fisicamente verso le superfici attraverso un'interazione idrofobica del suo dominio C-terminale, PRG4

permette al suo dominio mucina, che è composto da catene di zuccheri caricati negativamente, di creare sulla lente uno strato bagnabile ed a basso attrito. Tenendo conto di questo PRG4 risulta essere un buon candidato per la bagnabilità della superficie della lente a contatto e riduzione dei coefficienti di attrito all'interfaccia lente/palpebra e lente/cornea. Recenti studi hanno dunque analizzato le sue proprietà e la sua interazione con lenti a contatto morbide in idrogel e in silicone idrogel, in condizioni che rispecchiavano una lubrificazione limite con velocità di ( $v_{eff}$  di 0.3, 1.0, 10, 30 mm/s); per migliorare l'uniformità della varianza per l'analisi statistica i dati delle velocità sono stati trasformati in log nei grafici sottostanti. Il PRG4 oltre ad essere testato come agente bagnante in soluzione è stato innestato anche all'interno della lente.

#### **5.4.1. Soluzioni con PRG4**

Nelle soluzioni con PRG4, la glicoproteina prelevata e purificata da cartilagine bovina, si presenta con una concentrazione di 300 $\mu$ g/mL all'interno di una soluzione salina. Nei primi studi che hanno valutato l'efficacia lubrificante di questa biomolecola su lenti a contatto, sono state scelte lenti pHEMA e pHEMA-TRIS, non contenenti particolari monomeri idrofili, poiché lo scopo era quello di investigare le interazioni dell'agente lubrificante con la superficie, per i comuni costituenti delle lenti a contatto. Si è infatti osservato come la molecola di PRG4 interagisse in modo differente con il materiale idrogel e SiHy, definendo una bagnabilità e un attrito differenti. Nel materiale pHEMA, il dominio mucina è attratto dalla superficie idrofila, che esponendo in questo modo in superficie i terminali C- e N- della molecola porta ad un aumento dell'angolo di contatto e del coefficiente d'attrito.

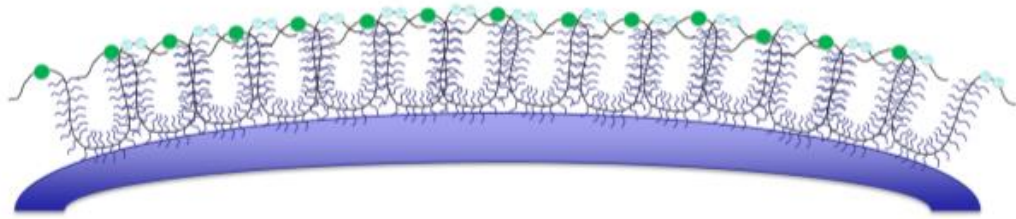


Figura 5.15- Interazione di PRG4 con superficie idrofila come pHEMA. Da Cheung, 2015.

D'altra parte invece si è notato come PRG4 sia un buon lubrificante in lenti SiHy che essendo idrofobe permettono al dominio mucina di essere esposto garantendo una buona bagnabilità e lubrificazione (Cheung, 2015).

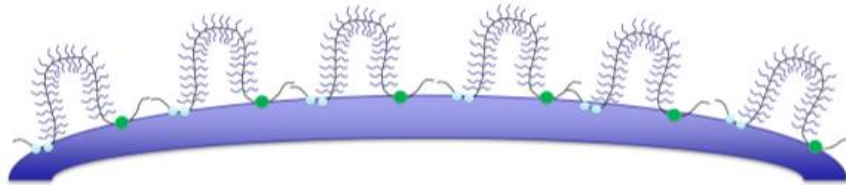


Figura 5.16- Interazione di PRG4 con superficie idrofobica come pHEMA-TRIS. Da Cheung, 2015.

Dopo questa prima analisi si è testato l'efficacia di PRG4 nel ruolo di agente bagnante in soluzione anche con lenti commerciali come le senofilcon A (SiHy con agente bagnante interno PVP) e le balafilcon A (SiHy con ossidazione al plasma). La verifica dell'effettivo adsorbimento di PRG4 è stata effettuata attraverso fluorescenza. Come si può notare dalla Figura 5.17, entrambe le lenti dimostrano avere una diminuzione dell'angolo di contatto con la soluzione PRG4 rispetto all'angolo di contatto dato dalla soluzione nel blister e all'angolo di contatto dopo la pulizia della lente con PBS ( $p < 0,05$ ) (Cheung, 2015). Questo comportamento è probabile che si verifichi su lenti Balafilcon A e Senofilcon A poiché queste lenti anche su precedenti misurazioni di bagnabilità in vitro sono note per avere superfici relativamente idrofobiche (Morgan, 2007).

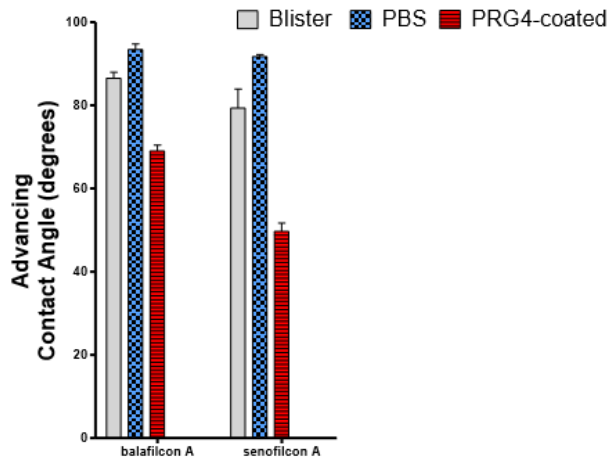


Figura 5.17- Angolo di contatto per lenti balafilcon A e senofilcon A, dopo rimozione dal blister, dopo lavaggio in PBS e dopo adsorbimento di PRG4. Da Cheung, 2015.

Oltre alla misurazione dell'angolo di contatto per la lente senofilcon A è stato condotto in ex vivo con cornee e palpebre umane, la misurazione del coefficiente d'attrito. Il valore medio dell'attrito alle varie velocità delle lenti senofilcon A è stato calcolato di 0,09 per la palpebra e di 0,13 per la cornea. Come si può osservare dalla Figura 5.18, PRG4 ha ridotto significativamente questi valori d'attrito con la palpebra e la cornea rispettivamente del 50% e del 30% (Samson, 2015).

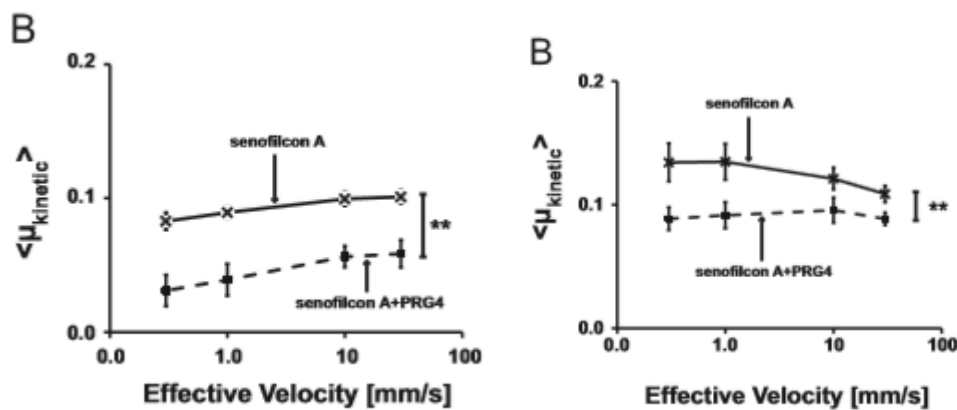


Figura 5.18-

senofilcon A. Da Samson, 2015.

cornea e lente

Altri studi che hanno valutato l'attrito delle sole lenti senofilcon A, hanno dato valori compresi tra 0,03 (lente intera su vetro con rivestimento mucinico) e 0,2 (microscopio a forza atomica (AFM): lenti a contatto su sonda colloidale in silice).

Questi valori che coprono i valori di coefficiente di attrito cinetico riportati in questo studio, dimostrano però come l'effetto della superficie e l'impostazione del test possono avere sui valori della misura dei coefficienti di attrito. Infatti, i tessuti oculari e gli idrogel delle lenti a contatto sono morbidi e porosi, quindi il comportamento di attrito sotto varie condizioni di carico e scorrimento probabilmente si comporta in modo diverso rispetto ai materiali non porosi e duri, rendendolo un modello molto complesso e difficile da studiare usando metodi tribologici classici. Inoltre, le interazioni fisiologiche tra lenti e tessuti oculari potrebbero non essere replicate su bio interfacce con superfici sintetiche. Pertanto, le differenze nei valori riportati sono probabilmente dovute ai diversi materiali della contro-superficie utilizzati, nonché alle aree di contatto e alle condizioni di carico. Queste differenze nei metodi di prova e le grandi differenze nei coefficienti di attrito rendono difficile la comparazione dei valori tra gli studi (Samson, 2015).

#### 5.4.2. Legame matrice polimerica e PRG4

Fare di PRG4 un nuovo agente bagnante legato alla matrice polimerica della lente è una delle sperimentazioni condotte nell'ultimo anno di ricerca. In questo caso è stato utilizzato il rhPRG4, innestato sulla superficie delle lenti pHEMA e pHEMA-TRIS attraverso il CDI, molecola chimica che promuove la condensazione tra l'ossidrile (-OH) e gruppi di ammine (-NH<sub>2</sub>) per legare in modo covalente la glicoproteina sulle superfici delle lenti, senza causare alcun effetto negativo sulle cellule epiteliali corneali umane (Korogiannaki, 2018).

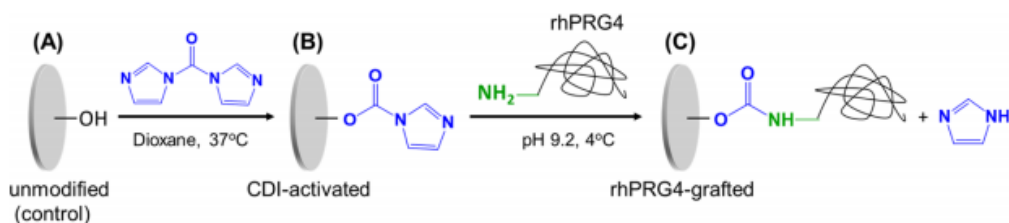


Figura 5.19- Processo di condensazione di rhPRG4 sulla superficie delle lenti. Da Korogiannaki, 2018.

Per comprendere l'efficacia lubrificante della glicoproteina innestata sulla superficie delle lenti si è valutato sia l'angolo di bagnabilità che l'attrito con la palpebra e con la cornea. L'angolo di contatto del campione di pHEMA con innesto rhPRG4 era leggermente più alto di quello del campione pHEMA non modificato (controllo) ( $p < 0,002$ ). Tuttavia, l'angolo di contatto su pHEMA-coTRIS con innesto rhPRG4 era diminuito (35%) rispetto al non modificato campione (controllo) ( $p < 0,0002$ ). È interessante notare che l'angolo di contatto per il modello modificato da rhPRG4 SiHy era inferiore rispetto a quello degli idrogel pHEMA non modificati (controllo) ( $p < 0,001$ ), suggerendo una migliore bagnabilità della superficie (Korogiannaki, 2018).

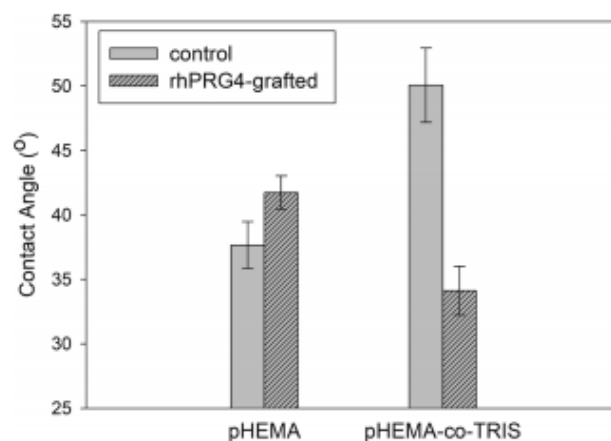


Figura 5.20- Angolo di contatto tra lenti idrogel e SiHy non trattate (controllo) e con legame covalente con rhPRG4. Da Korogiannaki, 2018.

Sono stati valutati anche i coefficienti d'attrito di pHEMA e pHEMA-TRIS in condizioni di lubrificazione limite; il coefficiente d'attrito degli idrogel pHEMA innestati con rhPRG4 era leggermente superiore ( $0.165 \pm 0.016$ ) a quello del pHEMA non modificato (controllo) ( $0.117 \pm 0.003$ ) ( $p < 0,05$ ). Invece, per il campione pHEMA-co-TRIS, con l'immobilizzazione superficiale di rhPRG è stato osservato un effetto di riduzione dell'attrito ( $0.150 \pm 0.013$ ), rispetto a quello privo ( $0.192 \pm 0.015$ ) ( $p < 0.05$ ).



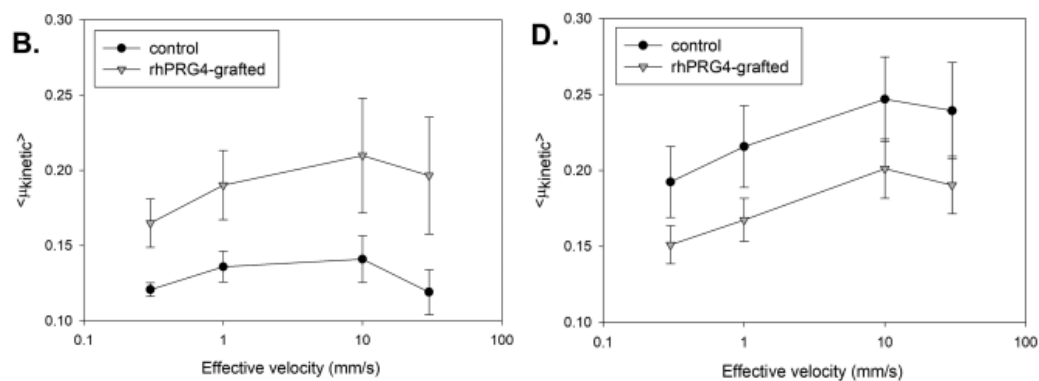


Figura 5.21- a sinistra per lenti pHEMA e a destra lenti pHEMA TRIS, senza e con innesto rhPRG4. Da Korogiannaki, 2018.

Poiché la densità superficiale dell'innesto sulle superfici di pHEMA e pHEMA-co-TRIS sono state trovate essere simili, la differenza nel profilo di attrito di questi due materiali si pensa che derivi proprio dalla differenza dell'interazione chimica di PRG4 con i materiali PHEMA e pHEMA-co-TRIS; pur legandosi con entrambi i materiali di lenti essa riesce a lubrificare solamente quelli che presentano una superficie idrofoba, proprio per via della natura anfifilica della molecola precedentemente descritta (Korogiannaki, 2018).

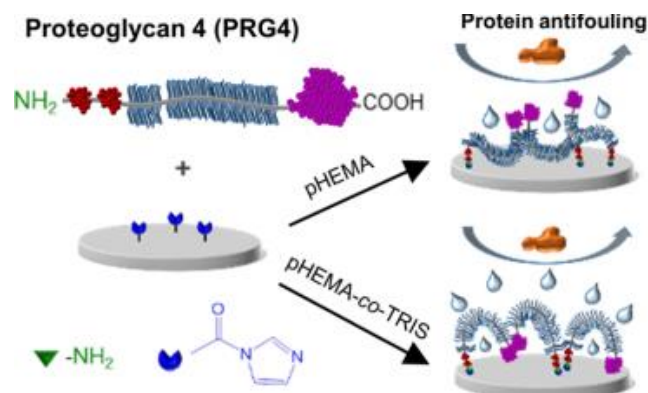


Figura 5.22- Innesto di rhPRG4 in lenti PHEMA e lenti PHEMA-TRIS. Da Korogiannaki, 2018.

## 5.5. Sinergia tra HA e PRG4

Sia il PRG4 che l'HA hanno dimostrato di essere efficaci lubrificanti per ridurre l'attrito su interfacce biologiche come cornea-palpebra ma come abbiamo visto la loro efficacia su materiali artificiali può variare. Quando combinati, HA e PRG4

mostrano un effetto sinergico che consente alla combinazione di ridurre l'attrito in misura maggiore rispetto a quando sono soli, ma tutt'oggi il meccanismo con cui PRG4 e HA interagiscono per lubrificare in modo sinergico attualmente non è ben compreso. Uno studio ha proposto che il PRG4 può concentrare l'HA vicino alle superfici della lente per formare uno strato combinato. Un altro studio ha suggerito che PRG4 e HA diventano parzialmente legati e formano un complesso strato di lubrificazione (Samson, 2017). È stato osservato che questa sinergia può portare ad una diminuzione di attrito nei seguenti casi:

1. HA a 1.2 mg/mL in salina e PRG4 a 300 µg/ml in salina riducono l'attrito di una lente pHEMA-TRIS da  $0.31 \pm 0.03$  a  $0.17 \pm 0.04$  ( $p < 0.01$ ). Se trattate con soluzione contenente solo HA o solo PRG4 l'attrito risulta essere maggiore.

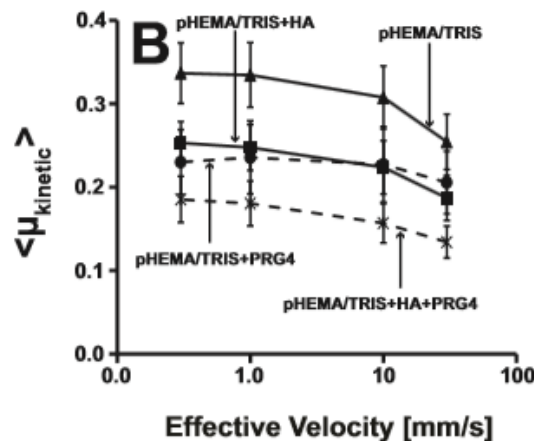


Figura 5.23- Cof comparati tra pHEMA-TRIS, pHEMA-TRIS + HA<sub>sol</sub>, pHEMA-TRIS+ PRG4<sub>sol</sub> e pHEMA-TRIS+ HA<sub>sol</sub>+ PRG4<sub>sol</sub>. Da Samson, 2017.

2. PRG4 incorporato e HA in soluzione per pHEMA-TRIS. Alla velocità di 0,3mm/s pHEMA/TRIS+PRG4<sub>inc</sub>+HA<sub>sol</sub> presentano un CoF di  $0.142 \pm 0.009$ , più basso rispetto a quello di pHEMA/TRIS ( $0.192 \pm 0.015$ ), di pHEMA/TRIS+HA<sub>sol</sub> ( $0.165 \pm 0.007$ ) e di pHEMA/TRIS+PRG4<sub>inc</sub> ( $0.150 \pm 0.013$ ).

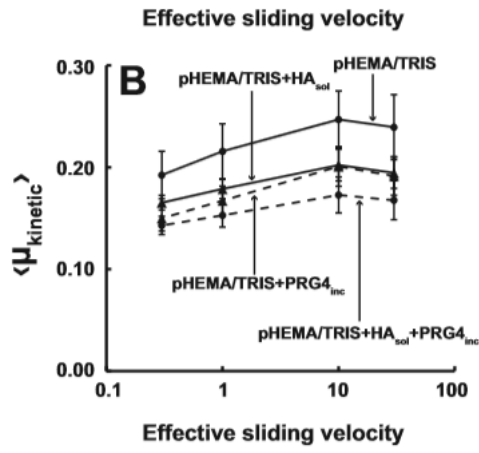


Figura 5.24- CoF comparati tra pHEMA-TRIS, pHEMA-TRIS + HA<sub>sol</sub>, pHEMA-TRIS+ PRG4<sub>inc</sub> e pHEMA-TRIS+ HA<sub>sol</sub> + PRG4<sub>inc</sub>. Da Samson, 2017.



## CONCLUSIONI

Le lenti a contatto sono progredite notevolmente dalla loro genesi di dispositivi di rifrazione scomodi con un tempo di indossamento limitato. Le strategie che si sono adottate nel corso degli anni hanno definito valori di comfort maggiori. Nonostante questo, permettere ai soggetti di mantenere una visione confortevole e stabile per 12-14 ore al giorno risulta essere ancora una sfida nella pratica contattologica di tutti i giorni. L'usura delle lenti a contatto porta infatti a valori di attrito più elevati e ad un discomfort che tende ad aumentare con il porto della lente stessa. I trattamenti che le lenti commerciali tutt'oggi adottano sono infatti sicuramente validi ma non eccellenti. Per questo la ricerca scientifica ed industriale non si è fermata ma continua a cercare nuove soluzioni per garantire un comfort il più duraturo possibile ai portatori di lenti a contatto. I lubrificanti fisiologici potrebbero rappresentare i trattamenti del futuro. L'acido ialuronico in parte lo è già, visto che rappresenta già una realtà consolidata con la presenza, oltre di colliri per il trattamento dell'occhio secco, di soluzioni multiuso per lenti a contatto e lenti a contatto che lo incorporano all'interno. Studi hanno evidenziato come il rilascio di acido ialuronico adsorbito o incorporato avviene per tempi molto lunghi garantendo dunque una buona bagnabilità e comfort della lente e non solo per lenti idrofile ma anche per lenti in silicone idrogel. Sono stati riscontrati angoli di contatto e coefficienti d'attrito inferiori rispetto a lenti native. Quest'ultimo non risulta essere però valido per le lenti pHEMA in cui il l'acido ialuronico se cross-linkato, definisce un coefficiente d'attrito superiore dovuto ad un aumento della rugosità superficiale. Inoltre è stato osservato come le lenti Filcon V con HA garantissero nei soggetti un film lacrimale molto più stabile. Il proteoglicano 4 nei primi e recenti studi ha invece evidenziato di essere in grado di aumentare la bagnabilità e ridurre l'attrito per lenti a contatto particolarmente idrofobe grazie alla sua natura anfipatica. La consapevolezza di come agisce con lenti potrebbe portare allo sviluppo di studi che vanno a testare soggettivamente

come lenti con PRG4 in soluzione o incorporato nella matrice polimerica agiscono nel soggetto, per esempio attraverso test clinici di comfort e TBUT. Interessante sarebbe anche valutare come si comporta dopo un periodo di porto, visto che l'obiettivo non è garantire solo un comfort iniziale ma soprattutto un comfort a fine giornata. Anche la sinergia che PRG4 ha con l'HA è una ricerca che dovrebbe essere approfondita ulteriormente, visto l'aumento delle prestazioni che si ottengono dalla loro unione. Ultimo ma non meno importante, è il cercare di creare un protocollo standardizzato per la misurazione dell'attrito e della bagnabilità così da permettere una comparazione significativa tra le diverse lenti trattate con agenti bagnanti differenti.

Per essere dei buoni applicatori di lenti a contatto c'è dunque bisogno anche di una conoscenza approfondita dei materiali che si forniscono ai soggetti, in modo tale da evitare un loro drop out. Questo elaborato di tesi ha voluto dunque dare una panoramica dei trattamenti che vengono utilizzati tutt'oggi sulle lenti, ma anche dei trattamenti che potrebbero far parte del futuro contattologico.

Cercare di soddisfare le aspettative di comfort dei soggetti deriva infatti dai continui progressi della chimica superficiale, modificando chimicamente la superficie, assorbendo o legando componenti bagnanti di lunga durata sulla superficie durante lo stoccaggio o la cura, o fornendo un sistema interno di bagnatura che rilascia o migra verso la superficie durante l'usura. Il futuro delle lenti a contatto grazie alla continua ricerca scientifica porterà indubbiamente a nuovi prodotti che combinano prestazioni visive eccellenti e comfort duraturo e prolungato. Sta però poi a noi applicatori di lenti restare costantemente aggiornati e comprendere quali giovamenti ogni trattamento può dare ad ogni singolo soggetto.

## BIBLIOGRAFIA

1. Argüeso Pablo, Mantelli Flavio. Functions of ocular surface mucins in health and disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 8(5): 477–483. October 2008.
2. Basiricò Laura. Forze di interazione tra particelle e superfici, 2011.
3. Bentivoglio Anna Rita, Susan B. Bressman, Emanuele Cassetta, Donatella Carretta, Pietro Tonali, Dr. Alberto Albanese. Analysis of blink rate patterns in normal subjects. November 2004.
4. Bettuelli Michela, Silvia Trabattoni, Matteo Fagnola, Silvia Tavazzi, Laura Introzzi, Stefano Farris. Surface properties and wear performances of siloxane-hydrogel contact lenses *Clinical Device Related Article*, 2013
5. Bonini. La congiuntiva. *Oftamologia di Massimo G. Bucci*. 1993
6. Brennan NA1, Coles ML, Comstock TL, Levy B. A 1-year prospective clinical trial of balafilcon a (PureVision) silicone-hydrogel contact lenses used on a 30-day continuous wear schedule. *Ophthalmology*. 2002 Jun;109(6):1172-7.
7. Canavan Kristy. Assessment of lens wettability with acuvue advance with hydraclear utilizing in vitro and in vivo methods. *Optometry and Vision Science Journal*. 2004.
8. Caroline Patrick J, & Mark P. André, Contact Lens Dryness and Discomfort with SiHy Lenses, *Contact Lens Case Reports*, 2015
9. Chalmers RL Begley CG Moody K Hickson-Curran SB. Questionario a lenti a contatto per lenti a contatto 8 (CLDEQ-8) e opinione sulle prestazioni delle lenti a contatto. *Optom Vis Sci* . 2012; 89: 1435-1442.
10. Chen J, Simpson TL. A role of corneal mechanical adaptation in contact lens-related dry eye symptoms. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011.
11. Deng X, Korogiannaki M, Rastegari B, Zhang J, Chen M, Fu Q, Sheardown H, Filipe CD, Hoare T. "Click" Chemistry-Tethered Hyaluronic Acid-Based Contact Lens Coatings Improve Lens Wettability and Lower Protein Adsorption *ACS Appl Mater Interfaces*. 2016 Aug 31.
12. Ducoli P. Le palpebre. *Oftamologia Massimo G. Bucci*. pp 43-45. 1993.
13. Dumbleton K1, Caffery B, Dogru M, Hickson-Curran S, Kern J, Kojima T, Morgan PB, Purslow C, Robertson DM, Nelson JD; The TFOS International Workshop on Contact Lens Discomfort: report of the subcommittee on epidemiology. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013 Oct 18;54.
14. DunnAlison C., John A.Tichy, Juan Manuel Uruen, W .Gregory Sawyer. Lubrication regimes in contact lens wear during a blink. *Tribology International* 63, pp 45–50. 2013.
15. Efron Nathan; Lyndon Jones; Anthony J. Bron; Erich Knop; Reiko Arita; Stefano Barabino; Alison M. McDermott; Edoardo Villani; Mark D. P. Willcox; Maria Markoulli. The TFOS International Workshop on Contact Lens Discomfort: Report of the Contact Lens Interactions With the Ocular Surface and Adnexa Subcommittee. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. October 2013.
16. Ehrmann Klaus, *Soft Lens Measurement. Contact Lens Practice (Third Edition)*. 2018.
17. Fagnola Matteo, Pagani Marco Paolo, Maffioletti Silvio, Tavazzi Silvia, Papagni Antonio. L'acido ialuronico e le sue applicazioni in contattologia. *Contact lens*, agosto 2010, volume XII, numero 2.
18. Foulks Silicone Hydrogel Contact Lenses and the Ocular Surface. *The Ocular Surface Volume 4, Issue 1 Pages 24-43*. January 2006.
19. Gheller Pietro. *Manuale di optometria e contattologia di Anto Rossetti e Pietro Gheller, Zanichelli*, pp 363-387. 2003.

20. Gipson, I.K. The ocular surface: the challenge to enable and protect vision: the Friedenwald lecture. *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* 48: 4390; 4391–4398. 2007.
21. Guillon M, Maïssa C. Long-term effects of the extended wear of senofilcon A silicone hydrogel contact lenses on ocular tissues. *Optometry.* 2010 Dec;81(12)
22. Heiko Pult, Samuele G.P.Tosatti, Nicholas D.Spencer, Spontaneous Blinking from a Tribological Viewpoint. *The Ocular Surface* Volume 13, Issue 3, July 2015, Pages 236-249
23. Herranz Raul Martin, Rosa M. Corrales Herran. *Ocular Surface: Anatomy and Physiology, Disorders and Therapeutic Care*, 2012.
24. Hoteling Andrew J., William F. Nichols Patricia S. Harmon Shawn M. Conlon Ivan M. Nuñez Joseph W. Hoff Orlando M. Cabarcos Robert B. Steffen Daniel J. Hook. Characterization and quantitation of PVP content in a silicone hydrogel contact lens produced by dual-phase polymerization processing. *Journal of biomedical materials research.* 15 May 2017
25. Howard A. Ketelson, PhD, Scott S. Perry, PhD, W. Gregory Sawyer, PhD & Jean T. Jacob. Exploring the Science and Technology of Contact Lens Comfort. *Contact Lens spectrum Special Edition* 2011.
26. Hyun-Jung Kim. A Study on Improvement of Wettability and Comfort in Contact lens with Hyaluronic acid. *Research gate*, January 2011
27. Koller, Anton W. The friction coefficient of soft contact lens surfaces in relation to comfort and performance. *Doctoral thesis, City University London.* 2014
28. Korogiannaki Myrto, Michael Samsom, Tannin A. Schmidt, and Heather Sheardown Surface-Functionalized Model Contact Lenses with a Bioinspired Proteoglycan 4 (PRG4)-Grafted Layer *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2018, 10 (36), pp 30125–30136
29. Lakshman N. Subbaraman, PhD, BSOptom, MSc, FAAO; John Pruitt, PhD; & Lyndon Jones, PhD, FCOptom, FAAO. Measuring Contact Lens Friction. With multiple measurement variables and testing methods, is standardization possible? *Contact lens spectrum*, gennaio 2016.
30. Lambiase Alessandro, Benjamin D.Sullivan, Tannin A.Schmidt, David A.Sullivan, Gregory D.Jay, Edward R.Trutt, Alice Bruscolini, MartaSacchetti, Flavio Mantelli. A Two-Week, Randomized, Double-masked Study to Evaluate Safety and Efficacy of Lubricin (150 µg/mL) Eye Drops Versus Sodium Hyaluronate (HA) 0.18% Eye Drops (Vismed®) in Patients with Moderate Dry Eye Disease. *The Ocular surface*, 2017
31. Lin Meng C., OD, PhD and Tatyana F. Svitova, PhD. Contact Lenses Wettability In Vitro: Effect of Surface-Active Ingredients. *Optom Vis Sci.* 2010 Jun; 87(6): 440–447.
32. Linsen, C. and L. Missotten. *Physiology of the lacrimal system.* *Bull. Soc. Belge Ophtalmol.* 238: 35–44. 1990.
33. Liz Segre. *Contact Lens Materials. Contact Lens Basics*, 2018.
34. López-Alemany Antonio Vicente Compañ Miguel F. Refojo Porous structure of Purevision™ versus Focus® Night&Day™ and conventional hydrogel contact lenses. *Journal of Biomedical Materials Research*, 31 July 2002
35. Lydon W Jones, Kara L Menzis. The Impact of Contact Angle on the Biocompatibility of Biomaterials. *Optometry and vision science: official publication of the American Academy of Optometry* 87(6):387-99 · April 2010
36. Lyndon Jones; Noel A. Brennan; José González-Méijome; John Lally; Carole Maldonado-Codina; Tannin A. Schmidt; Lakshman Subbaraman; Graeme Young; Jason J. Nichols. The TFOS International Workshop on Contact Lens Discomfort: Report of the Contact Lens Materials, Design, and Care Subcommittee. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013 Oct 18;54.
37. Mann Aisling, Brian Tighe. Contact lens interactions with the tear film. *Experimental Eye Research* volume 117, Pages 88-98. December 2013.
38. Mann A.,B.J. Tighe. Ocular biotribology and the contact lens: surface interactions and ocular response. *Biomaterials and Regenerative Medicine in Ophthalmology*, di Traian Chirila, Damien Harkin, pp 45- 48. 2010.
39. Marjorie J.RahO.D., Ph.D. A review of hyaluronan and its ophthalmic applications. *Optometry - Journal of the American Optometric Association* Volume 82, Issue 1, January 2011, Pages 38-43



40. Mazzoldi, Nigro. Elementi di fisica 1. Edises 2012.
41. Mishima, S., A. Gasset, S.D. Klyce, Jr. and J.L. Baum. Determination of tear volume and tear flow. Invest Ophthalmol. 5: 264–276. 1966.
42. Montani Giancarlo D. The management of computer vision syndrome (CVS) and digital eye strain with contact lenses. Opti, 2018.
43. Nicolson Paul C., Jürgen Vogt Soft contact lens polymers: an evolution. Biomaterials
44. Pescosolico Nicola. Film lacrimale. Oftamologia di Massimo G. Bucci: 85-87. 1993.
45. Peterson RC1, Wolffsohn JS, Nick J, Winterton L, Lally J Clinical performance of daily disposable soft contact lenses using sustained release technology. Cont Lens Anterior Eye. 2006 Jul;29(3):127-34. Epub 2006 May 9.
46. Phan Chau-Minh, Hendrik Walther, Donald Riederer, Charis Lau, Kathrine Osborn Lorenz, Lakshman Nagapatnam Subbaraman, Lyndon Jones. Analysis of polyvinyl alcohol release from commercially available daily disposable contact lenses using an in vitro eye model. Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials 2018 October 16
47. Pult Heiko , Samuele G.P. Tosatti, Nicholas D. Spencer, Jean Micheal Asfour, Micheal Ebenoch, Paul J. Murphy. Spontaneous Blinking. Tribological Viewpoint. Luglio 2015.
48. Reindel William, Gerard Cairns, Mohinder Merchea Assessment of patient and practitioner satisfaction with Biotrue™ multi-purpose solution for contact lenses. Contact Lens and Anterior Eye Volume 33, Supplement 1, December 2010, Pages S12-S17
49. Roba M., E. G. Duncan, G. A. Hill, N. D. Spencer, S. G. P. Tosatti. Friction Measurements on Contact Lenses in Their Operating Environment. Tribol Lett (2011) 44:387–397
50. Roland Fromme. Plasma surface technology and contact lenses - when and why?. wöhlk wissen, 2010.
51. Safilens. Fusion tecnologia. 2014
52. Sampalmieri. La cornea. Oftamologia di Massimo G. Bucci. 1993
53. Samsom M., A. Chan, Y. Iwabuchi, L. Subbaramand, L. Jones, T.A. Schmid. In vitro friction testing of contact lenses and human ocular tissues: Effect of proteoglycan 4 (PRG4). Tribology International 89 (2015) 27–33
54. Samsom Michael L. In Vitro Friction of Contact Lenses & Model Contact Lens Biomaterials: Effect of Proteoglycan 4. 2017
55. Samsom ML, Morrison S, Masala N, Sullivan BD, Sullivan DA, Sheardown H, Schmidt TA. Characterization of full-length recombinant human Proteoglycan 4 as an ocular surface boundary lubricant. Exp Eye Res. 2014 Oct;
56. Schafer J1, Reindel W1, Steffen R1, Mosehauer G1, Chinn J2. Use of a novel extended blink test to evaluate the performance of two polyvinylpyrrolidone-containing, silicone hydrogel contact lenses. Clin Ophthalmol. 2018 May 3;12:819-825. doi: 10.2147/OPTH.S162233. eCollection 2018.
57. Scheuer C, Fridman KM, Barniak VL, Burke SE, Venkatesh S. Retention of conditioning agent hyaluronan on hydrogel contact lenses. Cont Lens Anterior Eye. 2010 Dec;
58. Scheuer Catherine A and Susan E Burke. Contact lens wetting and biocompatibility. Optician 2012.
59. Scheuer Catherine A, Marjorie J Rah, and William T Reindel Increased concentration of hyaluronan in tears after soaking contact lenses in Biotrue multipurpose solution. Clin Ophthalmol. 2016; 10: 1945–1952. Published online 2016 Oct 7
60. Severini Annunziato. Manuale di optometria e contattologia di Anto Rossetti e Pietro Gheller, Zanichelli, pp 48-53. 2003.
61. Simmons PA1, Donshik PC, Kelly WF, Vehige JG. Conditioning of hydrogel lenses by a multipurpose solution containing an ocular lubricant. CLAO J. 2001 Oct;27(4):192-4.
62. Sindt Christine W., The Great Silicone Cover Up: A new lens surfacing option improves wettability and lubricity. How does it work? Lens Care Insights, April 15, 2015
63. Singh A, Li P1, Beachley V, McDonnell P, Elisseeff JH. A hyaluronic acid-binding contact lens with enhanced water retention. Cont Lens Anterior Eye. 2015 Apr;38(2):79-84

64. Stapleton F, Marfurt C, Golebiowski B, Rosenblatt M, Bereiter D, Begley C, Dartt D, Gallar J, Belmonte C, Hamrah P, Willcox M The TFOS International Workshop on Contact Lens Discomfort: report of the subcommittee on neurobiology. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013 Oct 18;54
65. Sterner O, Aeschlimann R, Zürcher S, Osborn Lorenz K, Kakkassery J, Spencer ND, Tosatti SG. Friction Measurements on Contact Lenses in a Physiologically Relevant Environment: Effect of Testing Conditions on Friction. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016 October
66. Tannin Schmidt A., Soft Contact Lenses and (Dis)comfort. A look at where we've been and where we're headed in terms of materials. *Contact lens spectrum*, 2014.
67. Tavazzi Silvia Martina Tonveronachi Matteo Fagnola Federica Cozza Lorenzo Ferraro Alessandro Borghesi Miriam Ascagni Stefano Farris Wear effects on microscopic morphology and hyaluronan uptake in siloxane-hydrogel contact lenses. *Journal of Biomedical Materials Research* First published: 23 September 2014
68. Thoft, R.A. Role of the ocular surface in destructive corneal disease. *Trans. Ophthalmol. Soc. UK* 98: 339–342. 1978.
69. Tiffany, J.M. The normal tear film. *Dev. Ophthalmol.* 41: 1–20. 2008.
70. Treccani. *L'occhio. Dizionario di medicina*, 2010
71. Van Beek Mark, Lyndon Jones Heather Sheardown Hyaluronic acid containing hydrogels for the reduction of protein adsorption *Biomaterials* Volume 29, Issue 7, March 2008, Pages 780-789
72. Van Haeringen, N.J. Clinical biochemistry of tears. *Surv. Ophthalmol.* Volume 22, Issue 24, Pages 3273-3283. December 2001
73. Walker Maria K, Rachel Redfern, *Scleral Lens Surface Coating Improves Vision and Comfort*, University of Houston, College of Optometry, The Ocular Surface Institute, Houston, TX USA, 2015
74. Weeks A1, Subbaraman LN, Jones L, Sheardown H. Physical entrapment of hyaluronic acid during synthesis results in extended release from model hydrogel and silicone hydrogel contact lens materials *Eye Contact Lens.* 2013 Mar;39(2):179-85
75. Wygladacz Katarzyna A, Daniel J Hook Visualization of a hyaluronan network on the surface of silicone-hydrogel materials. *Clinical Ophthalmology* 28 July 2016 Volume 2016:10 Pages 1423—1433
76. Yuan Yuehua and Lee T. Randall. *Contact Angle and Wetting Properties. Surface Science Techniques*, Springer Series in Surface Sciences 51. 2013.
77. Zeri. *I materiali delle lac.* 2009