

# Università degli Studi di Napoli “Federico II”

Scuola Politecnica e delle Scienze di Base  
Area Didattica di Scienze Matematiche Fisiche e Naturali

**Dipartimento di Fisica “Ettore Pancini”**



*Laurea triennale in Ottica e Optometria*

## **Fototossicità retinica indotta dalla luce blu**

**Relatore:**

Prof.ssa Paola Venditti

**Candidato:**

Felicia De Falco

Matricola M44000598

A.A. 2020/2021

*A mio padre e mia madre, coloro che non  
hanno mai smesso di credere in me,  
anche quando io non ci credevo più.*

*A mia sorella Giovanna, la metà  
mancante della mia anima, il regalo più  
bello che i miei genitori avessero mai  
potuto farmi.*

*“Perché fiorire si può e si deve,  
anche in mezzo al deserto”*

*(Alessandro D’Avenia)*

# *INDICE*

INTRODUZIONE.....	4
CAPITOLO I - La Luce.....	5
1.1    La natura della luce.....	5
1.2    Lo spettro elettromagnetico .....	7
1.3    La luce Blu.....	9
1.4    I Led.....	10
1.5    Propagazione della luce nell'occhio .....	13
Capitolo II - L'Occhio.....	15
2.1    Anatomia oculare.....	15
2.2    La retina.....	17
2.3    Processo di fototrasduzione .....	20
2.4    La distribuzione dei mitocondri nella retina .....	21
Capitolo III – Danni Indotti dalla Luce Blu.....	23
3.1    Tipologia di danni retinici .....	23
3.2    Danni all'epitelio retinico pigmentato.....	25
3.3    Danni ai fotorecettori .....	27
3.4    Danni provocati dalla lipofuscina .....	29
3.5    Sistemi di protezione .....	31
Conclusioni.....	34
Bibliografia e Sitografia .....	35

# ***INTRODUZIONE***

Quando la luce colpisce i fotorecettori avvia una serie di processi che permettono la visione, ma allo stesso tempo, può costituire un pericolo.

Non tutta la luce è visibile all'occhio umano, bensì solo un determinato intervallo che, in media, va dai 390nm ai 700 nm, il quale prende il nome di spettro elettromagnetico.

In questo lavoro di tesi, si pone l'attenzione sulla radiazione blu, ovvero la radiazione con lunghezza d'onda corta ad alta frequenza. Questo tipo di radiazione viene emessa dai LED o da altri dispositivi come smartphone, schermi retroilluminati o computer, ovvero dispositivi a cui si è maggiormente esposti, soprattutto nell'era pandemica. Un'ulteriore attenzione viene focalizzata sui danni retinici provocati dalle radiazioni che arrivano alla retina e ai meccanismi che vengono innescati. Fondamentale in questo contesto, è il ruolo svolto dai mitocondri, visti come reali bersagli per la luce blu, dato che sono responsabili del danno ossidativo, siccome inducono una maggiore produzione di ROS (specie reattive all'ossigeno) che innescano l'apoptosi cellulare e dunque la morte delle cellule.

Infine, si accenna quali sono le possibili soluzioni da adottare, attraverso antiossidanti o pigmenti maculari, per proteggersi dalla luce blu, o altre soluzioni rappresentate da lenti oftalmiche dotate di trattamenti anti-luce blu, IOL(lenti intraoculari) e LAC.

# CAPITOLO I

## *La luce*

### *1.1 La natura della luce*

La luce è una forma di energia radiante che viaggia ad altissima velocità, questo ente fisico determina il processo di visione quando colpisce il sistema visivo. La natura della luce, però, non è pienamente conosciuta.

Dal XVII secolo ad oggi, sono due le teorie importanti su cui si fonda la natura della luce, queste sono state elaborate rispettivamente da Isaac Newton, a cui si deve la *teoria corpuscolare* e Christian Huygens iniziatore della *teoria ondulatoria*. Queste due teorie si basano su concetti apposti e inconciliabili, riferiti però allo stesso fenomeno.

A metà del 600', la luce comincia ad acquisire un significato fisico grazie a Newton, il quale dimostra, con la sua teoria corpuscolare, come la luce sia formata da piccole particelle, emesse in tutte le direzioni e aventi altissima energia.

Il suo trattato pone particolare attenzione ai fenomeni luminosi come la riflessione e la rifrazione, egli ha dimostrato, attraverso l'utilizzo di un prisma, che la luce bianca è la somma di tutti gli altri colori espressi, però, in frequenze.

Contemporaneamente, Christian Huygens, si muove su supposizioni completamente opposte, infatti egli descrive la luce come un fenomeno ondulatorio, secondo questa teoria ogni sorgente luminosa produce onde luminose, diversificate in colori e con la capacità di propagarsi nei mezzi elastici. Le onde luminose dunque, secondo la teoria di Huygens, hanno un comportamento analogo alle onde sonore.

Dunque, la teoria ondulatoria della luce applica all'ottica la teoria delle onde elastiche. Se la luce è costituita da piccole onde, queste hanno bisogno di una sostanza per propagarsi nello spazio. Questa sostanza viene definita "l'etere" che, come postulato da Huygens,

costituirebbe un mezzo elastico, presente in ogni punto dello spazio capace di trasmettere le onde luminose. In pratica, Huygens sostiene che la luce sia costituita da onde che si propagano in maniera longitudinale all'interno di un mezzo di trasmissione, l'etere lumifero, costituito, a sua volta, da particelle dure ed elastiche. L'interazione effettuata dalle particelle del corpo luminoso su quelle dell'etere, quindi di piccola intensità, darebbe origine a onde. Queste onde prodotte, per il principio dell'involuppo di Huygens, si uniscono tra di loro e formerebbero un'unica onda di intensità tale da essere percepita. Questa teoria, però, è stata molto criticata e messa in dubbio dalla comunità scientifica dell'epoca.

Solo successivamente, grazie agli studi di Augustin Frenell sulla diffrazione e di Thomas Young sull'interferenza, la teoria ondulatoria trova la sua collocazione nel moderno concetto di radiazione elettromagnetica.

Nel 1873, James Clerk Maxwell e Heinrich Hertz, conducono studi fisici approfonditi sulla natura della luce, elaborando la teoria dell'onda elettromagnetica.

Infatti, Maxwell dimostra che un circuito oscillante irradia onde elettromagnetiche con piccola lunghezza d'onda, la cui velocità risulta essere  $3 \times 10^8$  m/s, ovvero, uguale alla velocità della luce. Queste onde, inoltre, si sono propagate senza la presenza dell'etere.

La stessa ipotesi è stata confermata da Hertz, il quale all'interno di un laboratorio, diede vita a delle onde elettromagnetiche, con proprietà e caratteristiche analoghe a quelle della luce.

La teoria elettromagnetica della luce di Maxwell e la giustificazione sperimentale di Hertz, hanno rappresentato uno dei trionfi della fisica, ma questa teoria non dava una spiegazione a fenomeni importanti, come le radiazioni emesse dal corpo nero o l'effetto fotoelettrico.

Max Plank introduce, nel 1900, la sua teoria "*quantistica*", secondo la quale, l'energia di un'onda elettromagnetica, invece di essere distribuita uniformemente nello spazio, era concentrata in piccoli pacchetti chiamati *fotoni*. Ogni fotone possedeva energia uguale a :

$$E=hf$$

dove h indica la costante di Planck e f la frequenza.

Questa teoria è stata ripresa da Albert Einstein nel 1905, il quale dimostra che i raggi luminosi, nonostante la loro natura particellare, possiedono una massa e una frequenza uguale a quella delle onde, unificando così le due teorie ovvero quella corpuscolare e quella ondulatoria.

La Fisica odierna si basa sul principio di *dualismo onda-particella*, che definisce la duplice natura della luce. Tale per cui, a seconda delle differenti situazioni, la luce può assumere un comportamento particellare o ondulatorio. In particolare, i fenomeni di propagazione della luce sono descritti dalla teoria ondulatoria, mentre, i fenomeni di interazione radiazione-materia, emissione ed assorbimento sono descritti dalla teoria corpuscolare.

## 1.2 *Lo spettro elettromagnetico*

Con il termine “luce” oltre ad indicare un fenomeno puramente fisico composto da onde elettromagnetiche e da particelle denominate fotoni, assume un significato anche soggettivo e psicologico se riferita alla sensazione percepita dall’osservatore quando la luce colpisce la retina del suo occhio.

La luce è dunque un fenomeno che ci riguarda quotidianamente e ci permette di percepire il mondo che ci circonda, le forme, i colori. Quando però parliamo di luce dobbiamo precisare che non tutta la luce emessa da una sorgente può stimolare l’occhio. Essa è energia radiante che si propaga in maniera trasversale ed è formata dal campo elettrico e campo magnetico che si propagano in maniera perpendicolare tra di loro.

Un’onda elettromagnetica possiede: la *frequenza* ( $f$ ), ovvero il numero di oscillazioni complete compiute nell’unità di tempo ( $s$ ), misurata in Hertz; la *lunghezza d’onda* ( $\lambda$ ), la quale rappresenta la distanza tra due punti massimo (creste) o due punti minimi (avvallamenti) di un’onda elettromagnetica, misurata in metri ( $m$ ); la *velocità di propagazione* ( $v$ ), cioè la velocità con cui l’oscillazione si sposta nella direzione di propagazione; *periodo* ( $T$ ), ovvero il tempo che impiega l’onda a effettuare un’oscillazione completa, la cui unità di misura è il secondo ( $s$ ).

La relazione che intercorre tra  $\lambda$ ,  $v$  e  $f$  è:

$$\lambda = v/f$$

Da cui si deduce che la lunghezza d'onda e la frequenza sono inversamente proporzionali e la velocità di propagazione nel vuoto rimane costante al variare di questi due parametri. Se, però, il mezzo di propagazione cambia e quindi non è più il vuoto, ma ad esempio, l'acqua, l'aria o il vetro, la velocità di propagazione varia in relazione alla lunghezza d'onda. Il rapporto tra velocità della luce di un data lunghezza d'onda, nel vuoto e nella materia, prende il nome di *indice di rifrazione* della sostanza, definito dal rapporto

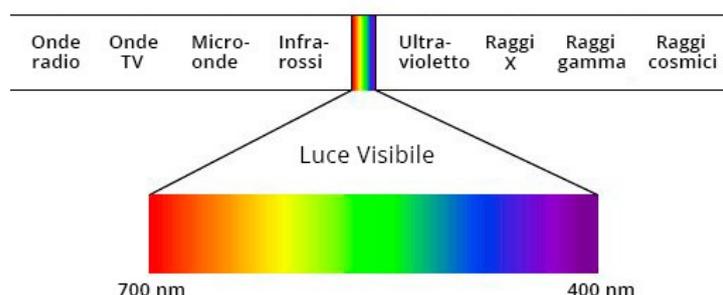
$$n = c/v$$

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

L'indice di rifrazione di un mezzo dipende dall'onda considerata. Quindi un fascio di luce policromatica, ovvero contenente diverse lunghezze d'onda, che incide su un prisma, viene scisso in tutte le sue componenti, in quanto ogni onda che si propaga nel mezzo avrà una diversa velocità di propagazione e anche un cammino differente.

L'insieme di tutte le frequenze che l'onda può possedere è definito come *spettro elettromagnetico*.

Dall'occhio umano viene percepito esclusivamente un unico intervallo di frequenza definito *spettro visibile*, costituito da lunghezze d'onda che variano da 360 nm (violetto) a 760 nm (rosso).



Le onde elettromagnetiche, aventi lunghezze d'onda maggiori a quelle dello spettro visibile, sono catalogate come infrarossi, microonde e onde radio, mentre le onde elettromagnetiche aventi lunghezza d'onda minore di quelle dello spettro visibile, sono catalogate come: ultravioletto, raggi x, raggi gamma.

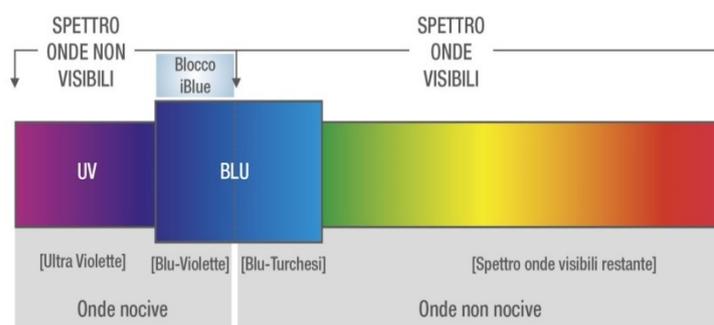
Ogni radiazione monocromatica trasporta energia, la cui quantità viene espressa dalla legge di Planck, da cui risulta che le lunghezze d'onda minori trasportano più energia, a differenza delle lunghezze d'onda maggiori che trasportano meno energia. Per il nostro sistema visivo risultano più dannose le lunghezze d'onda minori, le quali vengono suddivise in:

- **Luce ultravioletta**, la quale comprende lunghezze d'onda che vanno da circa  $4 \times 10^{-7}$  (400nm) fino a  $6 \times 10^{-10}$  (0,6 nm). Confina con la luce visibile di lunghezza d'onda più corta, percepita dall'uomo di colore viola, da cui deriva la denominazione "radiazione ultravioletta". Essa è suddivisa in UVA, UVB, UVC. Il sole è sorgente di tale radiazione, la cui maggioranza viene assorbita dall'atmosfera, parametro molto importante siccome una quantità eccessiva crea danni all'uomo. L'ozono, componente importante dell'atmosfera, ha la capacità di convertire la dannosa radiazione ultravioletta in innocua radiazione infrarossa.
- **I raggi X**, sono onde elettromagnetiche di lunghezza d'onda comprese in un intervallo che va da circa  $10^{-8}$  m (10nm) fino a  $10^{-13}$  m ( $10^{-4}$  nm); vengono prodotti attraverso la decelerazione di elettroni ad alta energia che bombardano un bersaglio metallico. Essi vengono utilizzati sia come strumento diagnostico, sia come trattamento per curare alcune forme di cancro, però risultano, anch'essi, dannosi all'organismo umano, per cui bisogna evitare esposizioni non necessarie o persistenti.
- **I raggi gamma** hanno lunghezze d'onda che vanno da circa  $10^{-10}$  m a meno di  $10^{-14}$  m e vengono emesse da nuclei radioattivi e in certe reazioni nucleari. Esse hanno la caratteristica di essere molto penetranti e possono procurare seri danni quando vengono assorbiti da tessuti viventi

### 1.3 *La luce Blu*

La luce blu per la sua frequenza e lunghezza d'onda rientra nell'intervallo di radiazioni che possiedono alta energia HEV (High Energy Visible light). Nello spettro visibile, le lunghezze d'onda che indentificano la luce blu, sono contenute nell'intervallo compreso tra i 400-520 nm. Diverse ricerche mettono in risalto aspetti fondamentali della luce blu, in quanto dimostrano che a questa radiazione non si può attribuire un significato generalizzato perché, a seconda della lunghezza d'onda, essa trasporta energia differente e dunque ha anche impatti diversi sulla vita dell'uomo. Infatti, la componente blu compresa tra i 380-

455nm (blu-viola) costituisce la radiazione dannosa per gli esseri umani, invece la componente di luce compresa tra i 465- 500 nm (blu-turchese) regola le funzioni biologiche legate al ritmo sonno-veglia (10). In condizione di forte illuminazione esterna, il nostro organismo secerne serotonina, denominato anche “ormone della felicità”, perché tante funzioni sono modulate dalla sua concentrazione come: l’umore, il sonno, la creatività. L’antagonista di tale ormone è il cortisolo, conosciuto anche come “ormone dello stress” ed insieme alla serotonina regola il ritmo sonno-veglia, l’azione di questi due ormoni ci fa sentire svegli e attivi. La melatonina è considerata l’ormone del sonno, che viene rilasciato in condizione di scarsa luminosità.



La comunità scientifica, in particolare gli ottici ed optometristi, hanno preso in esame questo intervallo di lunghezze d’onda quando le lampadine ad incandescenza sono state sostituite dalle luci a LED.

Osservando gli spettri di emissione di sorgenti luminose a LED, si nota che il picco di emissione di questi dispositivi è proprio nella banda del blu, con lunghezze d’onda comprese tra i 445-455nm, corrispondenti all’intervallo HEV, e dunque possibili conseguenze dannose all’organismo umano.

## 1.4 I Led

*“Come le lampade a bulbo hanno illuminato il Ventesimo Secolo, i Led saranno le luci del Ventunesimo secolo”.* Così la Fondazione Nobel commentò la scoperta dei LED.

Dopo circa un secolo di rapido sviluppo, i LED (Light Emitting Diodes, “Diodi che emettono luce”) iniziano ad essere considerati pronti dalla comunità scientifica per sostituire le lampade a incandescenza e fluorescenti (3).

Il primo LED fu introdotto solo nel 1962, ed era caratterizzato da un'emissione luminosa molto debole, ma da quel momento lo studio costante mirato a sviluppare al meglio questa nuova sorgente ha prodotto miglioramenti incredibili in termini di efficienza luminosa, spettro di emissione, intensità, durata di vita, costo, affidabilità e potenzialità applicative.

Lo sviluppo dei LED è cominciato con dispositivi all'infrarosso realizzati con Arseniuro di Gallio (GaAs). I progressi nella scienza dei materiali hanno reso possibile, col passare degli anni, la produzione di apparecchi con lunghezze d'onda sempre più corte, e di conseguenza con colori diversi.

Un LED è per definizione un diodo che emette luce, ovvero un dispositivo elettronico a due terminali che consente il passaggio di corrente elettrica in una sola direzione, in cui l'entità della corrente dipende dalla differenza di potenziale ai capi del dispositivo.

Dal punto di vista fisico, un LED è un chip di materiale semiconduttore impregnato o drogato con impurità per formare una giunzione positivo-negativo (P-N): il polo positivo di tale giunzione è chiamato anodo, quello negativo catodo. La caratteristica principale di questi dispositivi è quella di lasciarsi attraversare dalla corrente in un solo verso, come un normale diodo, al quale si aggiunge la capacità di emettere luce.

A differenza delle lampade a incandescenza e fluorescenti, i LED emettono luce quasi monocromatica, cioè ad una specifica lunghezza d'onda. A determinare la lunghezza d'onda della luce emessa concorrono il materiale utilizzato per la creazione della giunzione P-N e il livello di drogaggio di tale materiale.

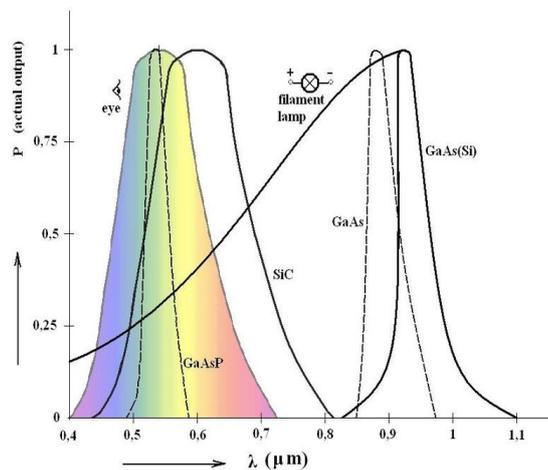
Esistono diversi modi in cui i LED vengono utilizzati per produrre luce bianca, ma le tecnologie impiegate sono fondamentalmente due:

1. Rivestimenti di LED blu con fosfori gialli per formare luce bianca ad ampio spettro che appare gialla quando è spenta.
2. Miscelazione di almeno tre LED che emettono a diverse lunghezze d'onda visibili, come la luce rossa, verde e blu dello spettro, per produrre luce bianca.

La maggior parte dei LED bianchi disponibili sul mercato sono prodotti con il metodo del fosforo giallo, in quanto costituisce un metodo più semplice ed economico. La luce blu dei LED a fosforo giallo, però, ha un picco di emissione a circa 450-470 nm, ed è diversa da quella dello spettro della luce diurna. Inoltre, l'emissione di luce blu dai LED bianchi sembra aumentare con il tempo, il che corrisponde ad un rapido aumento del picco di emissione caratteristico della luce blu (2). C'è da dire anche che la porzione di luce blu aumenta all'aumentare della temperatura di colore del display retroilluminato.

L'ambio uso di display per tablet retroilluminati a LED ha cambiato drasticamente il modo in cui le persone leggono, poiché la luce illumina direttamente il testo negli smarphone, nei computer e negli iPad, piuttosto che riflettere dal testo sulla carta. Tali fattori hanno aumentano l'esposizione degli occhi umani alla luce blu.

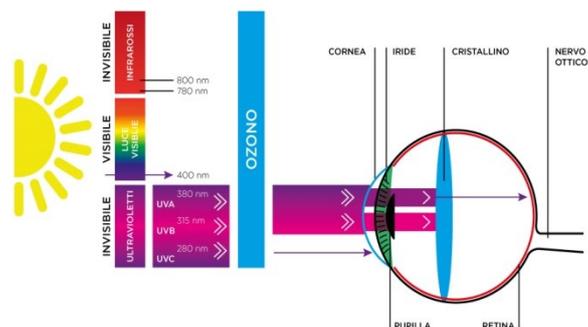
Come sarà esposto più avanti, alcuni studi hanno dimostrato che la luce blu provoca danni retinici. Sono stati, infatti, condotti degli esperimenti sui ratti utilizzando l'esposizione a LED bianchi a spettro completo e LED blu (460nm), riscontrando fotorecettori apoptotici e necrotici, così come la produzione di radicali liberi, indice che la luce blu ha indotto gravi lesioni retiniche con conseguente perdita di fotorecettori.



*Spettro luminoso di vari LED, messi a confronto con lo spettro visivo dell'occhio umano e della lampada a incandescenza*

## 1.5 Propagazione della luce nell'occhio

L'occhio è un sistema in cui la luce esterna converge sul piano retinico. I fenomeni di assorbimento e riflessione da parte dei mezzi oculari dipendono dalle lunghezze d'onda delle radiazioni; le proprietà ottiche dei mezzi intraoculari hanno un ruolo fondamentale nella protezione della retina dalla luce.



La cornea e il cristallino sono le principali strutture che assorbono le lunghezze d'onda responsabili dei danni alla retina, in particolare la cornea, assorbe quasi completamente le radiazioni ultraviolette inferiori a 295 nm, e la maggior parte degli UVB (260-315 nm), mentre il cristallino assorbe la maggior parte degli UVB e tutti gli UVA (315-400 nm) (10). Anche il corpo vitreo è responsabile del filtraggio, infatti assorbe lunghezze d'onda dello spettro visibile (400-700 nm), le bande dell'IRA (700-1400nm), e quasi completamente IRB (1400-3000 nm) e IRC (3000-10000+ nm). Tali lunghezze d'onda se non vengono filtrate, possono provocare danni importati alle cellule bersaglio neuroretiniche. Tuttavia, la trasmissione di radiazioni a lunghezza d'onda superiori a 400 nm aumenta rapidamente. Più del 65% della luce blu a lunghezza d'onda di 460 nm viene trasmessa alla retina nei bambini in età inferiore a 9 anni. Con l'avanzare dell'età, avvengono delle modifiche nel cristallino che inducono alla perdita della sua trasparenza, divenendo più giallo, con relativa riduzione della trasmissione della luce visibile alla retina, specialmente nella regione blu dello spettro. È stato effettuato uno studio su trentadue cristallini per valutare la trasmissione spettrale. Questi cristallini rispecchiavano una fascia d'età compresa tra i 40 e i 77 anni, da cui è stato scoperto che la grande variabilità della trasmissione spettrale del cristallino umano è maggiore per le lenti di età, pari o superiore, a 60 anni, per le quali la trasmissione era del 40% in meno per lunghezze d'onda di 420 nm e del 18% in meno per le lunghezze d'onda di 580 nm, rispetto ai cristallini appartenenti a soggetti di età compresa tra 40 e 59 anni.

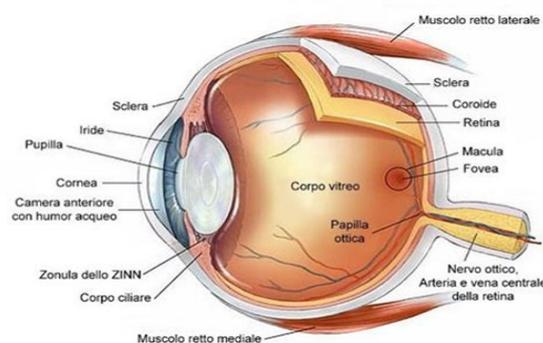
Allo stesso modo, un altro studio sulla trasmissione spettrale condotta su cristallini di donatori umani, ha riportato che la trasmissione a 480 nm era dell' 82% in una lente di 10 anni è invece diminuita del 56% in una lente di 40 anni, e del 23% in una lente di 80 anni. Tali risultati, non solo indicano che le proprietà di filtraggio della luce blu del cristallino aumentano con il passare degli anni, ma suggeriscono anche la vulnerabilità della retina più giovane al rischio della luce blu.

# Capitolo II

## L'occhio

### 2.1 Anatomia oculare

L'occhio è l'organo di senso principale dell'apparato visivo che ha il compito di ricavare informazione dall'ambiente circostante attraverso la luce. La sua funzione è simile a quella della macchina fotografica: l'occhio raccoglie la luce che proviene dall'ambiente, ne regola l'intensità attraverso il suo diaframma ovvero la pupilla, il cui diametro può essere modificato in base alla quantità di luce, infatti, esso può restringersi o dilatarsi per far entrare la giusta quantità di luce. Dopodiché la luce arriva alla superficie sensibile ai raggi luminosi (retina) attraverso la lente ovvero il cristallino, anch'esso modifica la sua struttura per permettere la messa a fuoco a tutte le distanze, i fotorecettori presenti sulla retina trasducono il segnale luminoso in segnale elettrico, tali segnali vengono inviati, attraverso il nervo ottico, al cervello per l'elaborazione e l'interpretazione.



Il globo oculare è allocato ed è protetto da una cavità ossea chiamata orbita, formata dalle ossa facciali del cranio. I muscoli oculari estrinseci, costituiscono la struttura esterna dell'occhio che si ancorano alla superficie esterna del bulbo, e hanno il compito di controllare i movimenti oculari. Essi sono innervati dai nervi III, IV e V. Il bulbo è costituito da tre tonache concentriche, che dall'esterno all'interno, sono:

- **Tonaca esterna** (fibrosa): formata dalla sclera e dalla cornea;
- **Tonaca media** (vascolare) detta anche uvea: formata dalla coroide, dal corpo ciliare e dal cristallino;
- **Tonaca interna** (nervosa): la retina.

La sclera è la membrana che riveste esternamente il bulbo oculare. Anteriormente è in continuità con la cornea, invece posteriormente, attraverso la lamina cribrosa, da passaggio al nervo ottico e si lega alla sua guaina. Essa è costituita, istologicamente, da una membrana connettivale ricca di

collagene e fibre elastiche. Sulla superficie sono presenti fori che permettono il passaggio di rami venosi, arteriosi e nervosi che vanno ad irrorare e innervare le diverse strutture del bulbo oculare. La funzione della sclera è quella di proteggere le strutture più interne del bulbo oculare, assicura la forma globosa ed il tono dell'occhio e controbilancia la pressione esercitata dai liquidi intraoculari.

La cornea è la membrana fibrosa, in continuità con la sclera, che chiude anteriormente il bulbo. Essa è formata da una parte anteriore bagnata dal film lacrimale e a contatto con l'aria, ed una posteriore a contatto con l'umor acqueo, la quale delimita anteriormente la camera anteriore. La cornea è trasparente e avascolare ed è caratterizzata da un profilo "prolato", ovvero presenta un appiattimento che va dal centro alla periferia. La forma convessa anteriore conferisce un potere refrattivo alla cornea di circa 48 D, mentre quella posteriore, concava, presenta un valore di -5D, per cui in media, il valore diottrico corneale si aggira intorno alle 43D. La cornea, non essendo vascolarizzata, ricava il suo nutrimento dal film lacrimale, umor acqueo e capillari del limbus.

La tonaca vascolare è chiamata anche uvea e si trova tra la sclera e la retina. È una membrana ricca di vasi che viene divisa in iride, corpo ciliare e coroide.

La coroide è la porzione posteriore e più estesa dell'uvea, la quale è interposta tra la faccia profonda della sclera e lo strato più superficiale della retina. È un tessuto pigmentato e molto vascolarizzato, ma povero di connettivo, il cui compito è quello di fornire nutrimento alla maggior parte delle strutture oculari. La coroide è ricca di pigmento di colore bruno-ruggine, il quale assorbe parte dell'energia luminosa che ha attraversato la retina, impedendo la riflessione sulla superficie sclerale.

Nella parte posteriore la coroide si inspessisce formando il corpo ciliare, il cui compito ha inizio in corrispondenza della giunzione sclerocorneale e si estende fino all'ora serrata che segna il limite con la coroide retrostante. Il corpo ciliare è la struttura oculare che ha la funzione di produrre e riassorbire l'umor acqueo, e controllare l'accomodazione, ovvero la messa a fuoco dell'immagine sulla retina che si ottiene attraverso la modifica della curvatura del cristallino.

La camera anteriore dell'occhio, che si trova davanti al cristallino, contiene umor acqueo, un liquido povero di proteine secreto dall'epitelio ciliare che sostiene il cristallino. La camera

contribuisce a mantenere la forma dell'occhio. Esso è prodotto dagli ialociti, cellule che hanno attività fagocitaria, ed è costituito dalla maggior parte di acqua e acido ialuronico.

La parte più anteriore della tonaca vascolare è costituita dall'iride, la sola componente dell'uvea ad essere visibile attraverso la cornea. L'iride è la parte colorata dell'occhio che appare come un disco forato al centro, il quale costituisce la pupilla e il cui diametro varia a seconda della quantità di luce necessaria.

## 2.2 *La retina*

La retina è lo strato più interno del bulbo oculare, sensibile alla luce ed appartiene al sistema nervoso centrale, nonostante abbia una posizione periferica. Essa è composta da diversi strati di neuroni, tra cui cellule bipolari, fotorecettori, cellule orizzontali, cellule amacrine e cellule gangliari, che sono interconnesse da sinapsi e responsabili della conversione di un'immagine in impulsi elettrici neurali, che vengono poi trasmessi alla corteccia visiva per dar vita alla percezione visiva.

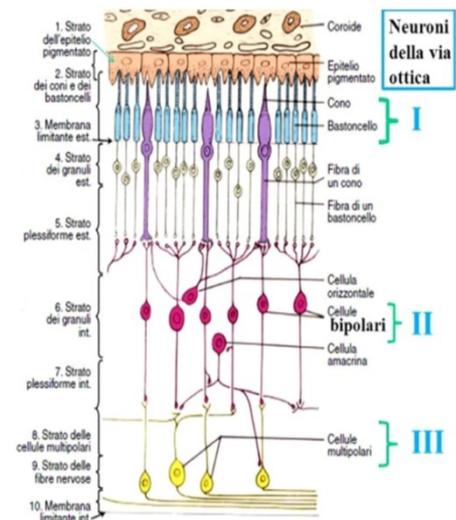
Se si osserva il fondo dell'occhio attraverso la pupilla, si vede che la retina è attraversata da arterie e vene che fuoriescono dal disco ottico, ovvero dal punto in cui gli assoni delle cellule gangliari, si unificano per formare il nervo ottico, lasciando, dunque, l'occhio.

Nella retina distinguiamo due zone : la parte ottica e la parte cieca:

- La parte ottica è la zona abilitata alla visione che si estende dal punto di entrata del nervo ottico nel bulbo, fino al margine pupillare dell'iride. Essa è caratterizzata da numerosi strati di cellule, e contiene fotorecettori.
- La parte cieca è la zona non abilitata alla visione, in quanto priva di fotorecettori.

La parte ottica della retina è composta da due foglietti: uno esterno che costruisce l'epitelio pigmentato e uno interno che costituisce la retina propriamente detta. Quest'ultima è formata da tre strati di cellule nervose, procedendo dall'interno dell'occhio, fino allo strato dell'epitelio pigmentato, hanno quest'ordine: strato delle cellule multipolari, strato delle cellule bipolari, strato dei fotorecettori. Ognuno di questi strati è suddiviso in altri, cosicché la parte ottica della retina è composta da 10 strati, la cui successione dall'esterno verso l'interno risulta così:

1. Epitelio pigmentato;
2. Strato delle cellule dei coni e dei bastoncelli;
3. Membrana limitante esterna;
4. Strato dei granuli esterni;
5. Strato plessiforme esterno;
6. Strato dei granuli interni;
7. Strato plessiforme interno;
8. Strato delle cellule multipolari;
9. Strato delle fibre nervose;
10. Membrana limitante interna



**L'epitelio pigmentato** agisce da barriera ed assorbe i raggi luminosi che non vengono catturati dai fotorecettori così da evitare la riflessione della luce all'interno della cavità oculare e permettere una buona formazione dell'immagine. Esso riveste la porzione fotosensibile della retina ed è di colore nero, il quale deriva dai granuli che contengono melanina.

L'epitelio pigmentato ha due importanti compiti: il primo è quello di captare l'11 trans retinale, prodotto dalla scissione dei fotopigmenti, e ridurlo in 11 cis retinale per trasportarlo ai fotorecettori per il processo di fototrasduzione. Il secondo compito invece è quello di rimuovere per fagocitosi i dischi membranosi del segmento esterno che contengono il pigmento fotosensibile.

La retina ha bisogno di molto ossigeno per la fototrasmissione e la neurotrasmissione, per soddisfare le esigenze energetiche della retina, ci sono due reti vascolari distinte che forniscono il giusto apporto di sangue: 1) *la circolazione retinica* consiste nel plesso vascolare che ha origine dall'arteria oftalmica e si divide in tre tipi superficiale, intermedio e profondo. 2) *La circolazione coroideale* alimenta indirettamente gli strati esterni della retina (dall'epitelio pigmentato allo strato plessiforme esterno).

**I fotorecettori** sono cellule nervose che hanno l'importante compito di trasformare l'energia luminosa in segnali elettrici. Essi si trovano nello strato più profondo, quindi la luce deve

attraversa diverse strutture relativamente trasparenti prima di arrivare ai fotorecettori; solo la fovea, circondata dalla macula lutea riceve direttamente i raggi luminosi, ed è identificata come il punto con maggior acuità visiva.

Esistono due tipi di fotorecettori : i coni e i bastoncelli. Le loro differenze strutturali sono legate alle differenze funzionali, in particolare i bastoncelli sono abilitati alla visione in condizione di luce scarsa o notturna (scotopica). Questa tipologia di fotorecettori risulta essere più numerosa rispetto ai coni, ma questi ultimi sono presenti anche nella fovea, dove invece i bastoncelli sono assenti. In sintesi i bastoncelli sono efficienti nella visione in bianco e nero. I coni sono responsabili della visione diurna (fotopica) e contribuiscono alla percezione del colore.

Sia i coni che i bastoncelli sono avascolari e sono irrorati dal sangue della coroide. La struttura di base dei due fotorecettori è la stessa infatti entrambi sono costituiti da :

segmento esterno, segmento interno, corpo cellulare, il quale contiene il nucleo e il terminale sinaptico, per la trasmissione biochimica tra le cellule nervose.

Il segmento esterno contiene le membrane specializzate, le quali ripiegandosi creano dei dischi impilati in cui è contenuto il pigmento fotosensibile.

I bastoncelli contengono solo un tipo di pigmento visivo, ovvero la rodopsina formato da una proteina l'opsina e dal retinale A, mentre il pigmento dei coni è la iodopsina, in questi sono presenti tre fotopigmenti che presentano un massimo di assorbimento per le lunghezze d'onda del blu, verde e rosso.

I ricercatori, però, nel 1999 in esperimenti su topi transgenici, che non erano dotati né di coni né di bastoncelli, osservarono che questi conservavano la capacità di rispondere agli stimoli luminosi, il che suggeriva, che nella retina ci fosse un altro fotorecettore. Più recentemente i ricercatori hanno individuato un sottotipo di cellule gangliari che contengono un pigmento, la melanopsina, con caratteristiche simili all'opsina, confermando la presenza, nella retina, di un altro fotorecettore.

### 2.3 *Processo di fototrasduzione*

La traduzione del segnale luminoso inizia nel segmento esterno dei fotorecettori perché qui è contenuto il pigmento visivo, tale processo è molto simile sia nei coni che nei bastoncelli.

La rodopsina, contenuta nei bastoncelli è formata dalla proteina opsina, e dall' 11 cis retinale, una forma di vitamina A. Il retinale costituisce la porzione del pigmento visivo in grado di assorbire la luce.

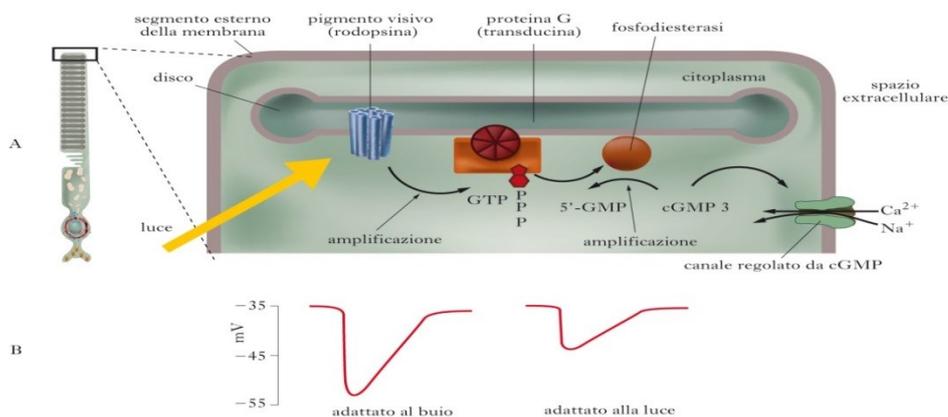
All'interno dei bastoncelli sono presenti tre canali: canali che permettono l'ingresso di  $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$  all'interno dei bastoncelli, essi sono regolati dai nucleotidi ciclici (CNG); canali che permettono allo ione  $\text{K}^+$  di dirigersi all'esterno della cellula e i canali voltaggio-dipendenti per il calcio, che regolano l'esocitosi del neurotrasmettitore e che sono localizzati in prossimità del terminale sinaptico.

Al buio i livelli di GMP ciclico (cGMP) sono elevati all'interno del citosol del segmento esterno del bastoncello, e i canali CNG e quelli per il  $\text{K}^+$  sono aperti. L'ingresso degli ioni sodio nella cellula determina la depolarizzazione della membrana plasmatica il cui potenziale raggiunge il valore di  $-40\text{mV}$ . La depolarizzazione, a sua volta, è responsabile dell'apertura dei canali calcio voltaggio dipendenti e l'ingresso dello ione nella cellula. Il calcio intracellulare attiva il processo di esocitosi delle vescicole che contengono il neurotrasmettitore, il glutammato. Il glutammato agisce sulle cellule bipolari adiacenti legandosi al proprio recettore e innescando in tali cellule una risposta. Quindi, al buio si ha un rilascio tonico del neurotrasmettitore sulle cellule bipolari.

In presenza di luce, l'11 cis retinale della rodopsina assorbe l'energia del fotone e subisce una isomerizzazione da 11 cis retinale a retinale tutto trans e si stacca dall'opsina. Questa piccola modifica strutturale della molecola del retinale provoca una variazione strutturale nell'opsina, che si trasforma in metarodopsina II, questa attiva una proteina ovvero una trasducina, che appartiene alla classe delle proteine G. La trasducina, di conseguenza, attiva un enzima ovvero la fosfodierasi, che riduce la concentrazione del secondo messaggero il guanosin monofosfato ciclico (GMPc). La riduzione della concentrazione di GMPc provoca la chiusura dei canali CNG e, di conseguenza riduce l'ingresso di sodio. A questo punto il potenziale della membrana diventa più negativo, la membrana del bastoncello si iperpolarizza e, di conseguenza i canali del calcio voltaggio dipendenti si chiudono con conseguente riduzione dell'ingresso dello ione, e

riduzione del rilascio del glutammato sulle cellule bipolari. La chiusura dei canali è proporzionale all'intensità della luce incidente.

La serie di eventi attivati dalla luce è interrotta dalla fosforilazione della rodopsina attivata (metarodopsina II) da parte di un enzima la rodopsina chinasi viene fosforilata. Alla rodopsina fosforilata si lega una proteina, l'arrestina che ne impedisce il legame bloccando il legame con la trasducina. A questo punto il GMPc prodotto dalla guanilato ciclastasi si accumula nella cellula e legandosi ai canali pervia a  $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$  e ne favorisce la riapertura, determinando la fine del potenziale di recettore. Il retinale, poi, è trasportato all'epitelio pigmentato per la riconversione alla forma 11-cis, per poi tornare nel bastoncello ed essere legato nuovamente all'opsina, cominciando così, un nuovo ciclo.



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

### 2.3 La distribuzione dei mitocondri nella retina

Come abbiamo accennato in precedenza, il processo di fototrasduzione richiede molta energia, infatti la richiesta di ossigeno da parte delle cellule dei fotorecettori sono 3-4 volte superiori rispetto a quelle di altri neuroni della retina.

La circolazione coroideale, non risponde efficacemente allo stato metabolico delle cellule retiniche, questo fattore è importante, in quanto, aumenta la sensibilità della retina, al danno ossidativo. L'ATP (adenosina tri-fosfato) ha il compito di fornire energia alle cellule per svolgere le loro funzioni, la quale viene generata dal metabolismo ossidativo dei mitocondri ed è

sufficiente e necessario per la sopravvivenza e la vitalità neuronale. I mitocondri sono essenziali per la stabilità dei neuroni specializzati nella retina.

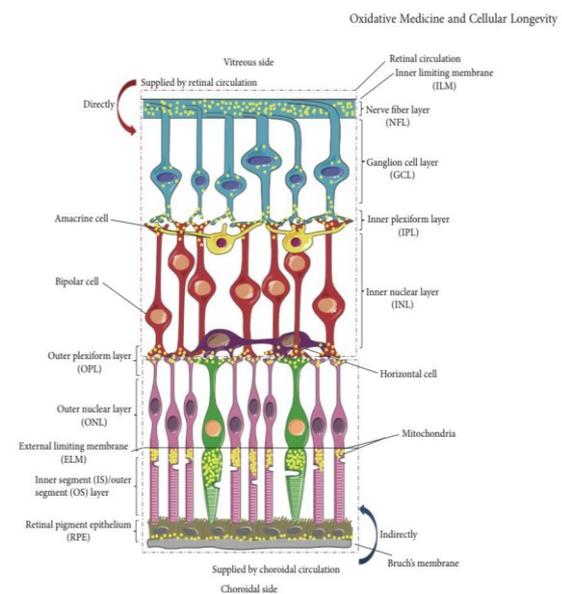
Negli esseri umani si trovano densamente imballati nei segmenti interni dei fotorecettori e anche nei terminali degli assoni.

La distribuzione dei mitocondri nei fotorecettori si presume sia associata alla domanda di ATP, il gruppo di mitocondri presente nel segmento interno è responsabile del metabolismo ossidativo del glucosio.

La retina umana comprende dieci diversi strati; gli strati interni, dalla membrana limitante interna ai dendriti delle cellule orizzontali e bipolari nello strato plessiforme esterno sono nutriti attraverso la circolazione retinale, mentre, gli strati esterni dell'epitelio pigmentato fino allo strato plessiforme esterno, sono indirettamente nutriti dalla circolazione coroideale attraverso la membrana di Bruch. I mitocondri sono collocati principalmente nelle seguenti strutture retinali:

1. strato delle fibre nervose;
2. intorno ai nuclei delle cellule gangliari retiniche;
3. strato plessiforme interno e strato plessiforme esterno, dove ci sono numerose sinapsi;
4. nella porzione esterna dei fotorecettori;
5. nella superficie basale delle cellule dell'epitelio pigmentato retinico.

Ogni retina umana ha circa 96,6 milioni di fotorecettori e circa 0,7-1,5 milioni di cellule gangliari retiniche, ognuna di queste cellule trasmette le informazioni da circa 100 fotorecettori attraverso il suo assone. Questa struttura suggerisce che le cellule gangliari retiniche hanno elevate richieste di energia, soddisfatte da un'abbondanza di mitocondri. Quindi bloccare il flusso dei mitocondri può portare alla morte delle cellule gangliari retiniche, i cui assoni formano il nervo ottico, il chiasma ottico, e il tratto ottico che collegano al cervello.



# Capitolo III

## *Danni retinici indotti dalla luce blu*

### *3.1 Tipologia di danni retinici*

Ci sono diverse tipologie di danni retinici provocati dalle radiazioni luminose:

- Danno fotomeccanico: causato, da un'alta irradiazione (da megawatt a terawatt per  $\text{cm}^2$ ) e breve tempo di esposizione (da picosecondi a nanosecondi), il quale non dipende dalla lunghezza d'onda della luce. Infatti, questa tipologia di danno, è causato dal rapido assorbimento di energia da parte dei granuli di melanina presenti nell'epitelio retinico pigmentato che induce il calore a non dissiparsi, portando alla formazione di bolle di microcavitazione, ovvero bolle di vapore che implodono, provocando danni letali all'epitelio retinico pigmentato e alle altre cellule. Questo meccanismo è usato terapeuticamente per l'iridotomia e la capsulotomia con un laser YAG. In particolare, l'iridotomia è una terapia para chirurgica utilizzabile per il trattamento di alcune forme di glaucoma, invece la capsulotomia è un trattamento per migliorare la visione dopo l'intervento di cataratta.
- Danno fototermico: avviene quando l'energia dello spettro elettromagnetico incidente è capace di portare le molecole del tessuto, che viene colpito, ad uno stato di eccitazione a causa dell'assorbimento di fotoni. La capacità della luce di provocare un aumento dell'energia cinetica è inversamente proporzionale alla lunghezza d'onda della radiazione, ma direttamente proporzionale alla frequenza, per la seguente equazione:  $E = hv$ . Quindi, come è stato già discusso precedentemente, lunghezze d'onda brevi provocano maggior energia cinetica con conseguenti temperature elevate.
- Il Danno termico alla retina è irreversibile, dato che le cellule possono subire apoptosi per livelli di temperatura inferiori a  $55\text{-}58^\circ\text{C}$ , apoptosi e nevrosi per valori di  $60\text{-}68^\circ\text{C}$  e morte istantanea intorno ai  $72^\circ\text{C}$ . Quando la temperatura raggiunge i  $100^\circ$  si verifica l'ebollizione e l'evaporazione dell'acqua contenuta nei tessuti, con conseguente morte cellulare. I danni tissutali consistono nella denaturazione delle proteine, con perdita anche delle funzioni originarie delle molecole. Il luogo originale di assorbimento dell'energia fototermica si trova nel pigmento di melanina collocato nei melanosomi del epitelio retinico pigmentato

e nei *melanocidi* della coroide, in particolare la *melanina* presente nell'epitelio pigmentato assorbe, più di tutti, energia luminosa. Questo meccanismo è usato, in parte nel laser terapeutico per la fotocoagulazione, ovvero un meccanismo che utilizza la temperatura elevata che supera la soglia del danno irreversibile, ma non quella dell'evaporazione, questa procedura viene usata per trattare condizioni retiniche patologiche.

- Danno fotochimico: si verifica quando la retina è esposta a radiazioni ad alta energia, ed è il principale responsabile della *fototossicità retinica* (6); sia l'esposizione cronica che acuta possono provocare danni fotochimici, siccome questo danno dipende dalla dose totale di radiazione ricevuta. Si può istaurare indipendentemente dal danno termico e meccanico.

I *cromofori* sono molecole che hanno la capacità di produrre cambiamenti chimici in un'altra molecola, quando vengono eccitati da particolari lunghezze d'onda, in quanto dissipano energia l'extra. Tale energia viene convertita in energia meccanica, calore o in reazioni chimiche e dunque il cromoforo ritorna allo stato fondamentale. L'energia chimica dissipata porta alla formazione di radicali liberi e ROS, attraverso due processi:

- il trasferimento di elettroni o ioni idrogeno, dal cromoforo ad un'altra molecola, generando radicali liberi;
- L'energia di eccitazione dal cromoforo trasferita all'ossigeno, producendo ossigeno singoletto, ovvero una specie di ossigeno molto reattiva.

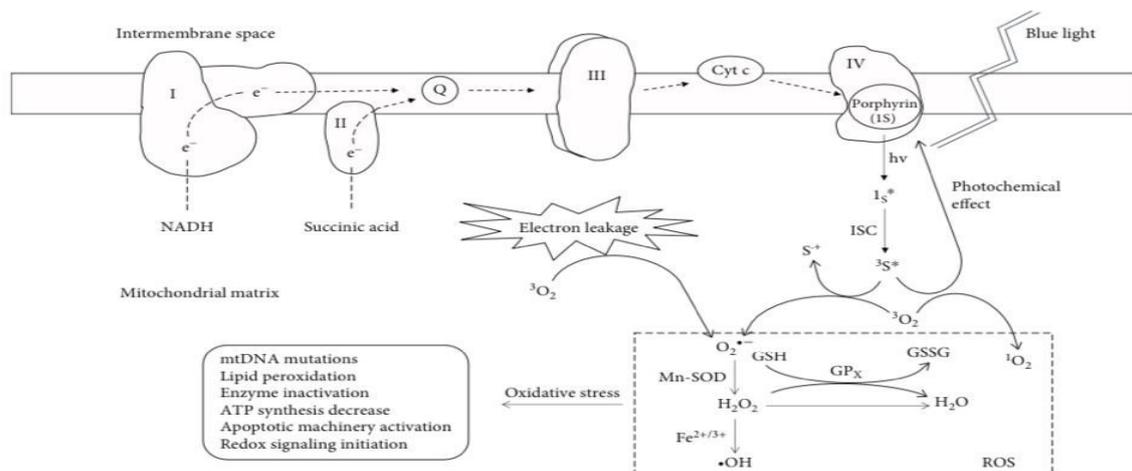
I ROS sono letali per le cellule in quanto inducono conseguenze come:

- perossidazione lipidica, un processo in cui le strutture di membrana sono catabolizzate attraverso un attacco agli acidi grassi polinsaturi in un lipide, tale da danneggiare gravemente la retina a causa dell'accumulo di membrane cellulari.
- Mutazioni genetiche
- Inattivazione di enzimi e proteine.

Il danno retinico indotto dalla luce blu, noto anche come fototossicità retinica deriva dal danno fotochimico. I risultati di diversi studi hanno confermato che la luce blu induce un aumento della produzione di ROS nella retina, la cui diminuzione può venire attraverso gli antiossidanti.

### 3.2 Danni all'epitelio retinico pigmentato

Ricapitolando, uno dei compiti dell'epitelio pigmentato è quello di fagocitare i segmenti esterni dei fotorecettori, procurando un carico eccessivo di stress ossidativo con conseguente formazione di ROS. I mitocondri presenti nell'epitelio pigmentato sono i principali responsabili dello stress ossidativo, siccome rappresentano la sorgente endogena dei ROS nei fotorecettori. In essi si svolge l'ultima fase delle reazioni di ossidazione delle molecole ad alto contenuto energetico assunte con l'alimentazione. Gli elettroni sono ceduti in parte ai coenzimi NADH e FADH<sub>2</sub> i quali, a loro volta, li cedono ai trasportatori di elettroni della catena di trasporto elettronico mitocondriale e il loro trasporto è accoppiato con la sintesi di ATP. In tale sistema il passaggio degli elettroni si verifica attraverso una serie di trasportatori fino all'accettore finale, ossia l'ossigeno che si riduce ad acqua. Tuttavia, durante il trasporto alcuni elettroni fuoriescono dalla catena respiratoria e interagiscono direttamente con l'ossigeno e ciò comporta la produzione di anione superossido ( $O_2^-$ ), una molecola radicalica, ossia dotata di un elettrone spaiato, il che la rende reattiva e capace di ossidare le macromolecole biologiche. L'anione superossido si trasforma in acqua ossigenata, che non è un radicale, ma può portare alla formazione di altri radicali dell'ossigeno molto reattivi come gli anioni ossidrilici. Le specie che si formano dalla parziale riduzione dell'ossigeno, che comprendono il radicale superossido, l'acqua ossigenata e il radicale idrossilico, sono indicate come specie reattive dell'ossigeno (ROS). Le ROS prodotte dalla catena respiratoria possono essere rilasciate nel citoplasma o nella matrice mitocondriale e ossidare, danneggiando le macromolecole biologiche, questo influenza le funzioni cellulari e mitocondriali.



Un esperimento condotto da Nunez-Alvarez ha dimostrato che vi è perdita di vitalità cellulare, aumento di produzione di ROS e depolarizzazione mitocondriale in cellule ARPE-19 dell'epitelio pigmentato esposte a luce blu di 465-475nm. Un altro studio condotto da (King et al.2004) sempre su una coltura di cellule ARPE-19 dell'epitelio retinico pigmentato, ha dimostrato che l'esposizione alla luce blu aumenta la produzione di ROS da parte dei citocromi, ovvero degli enzimi che hanno come coenzima il gruppo prostetico eme, grazie al quale legano l'ossigeno per utilizzarlo nei processi di respirazione cellulare, essi fungono proprio da vettori di elettroni e permettono la produrre ATP nei mitocondri. Proprio grazie alla presenza del gruppo eme, essi hanno lo stesso ruolo dei cromofori, ovvero assorbono le radiazioni luminose.

Tale esperimento ha evidenziato che i mitocondri sono la fonte di queste sostanze tossiche. Inoltre, l'esposizione di un tempo di 5 minuti, delle cellule, alla radiazione di lunghezza d'onda pari a 425nm provoca la morte delle cellule in coltura, infatti le membrane plasmatiche delle cellule avevano perso la loro struttura portando la cellula a morte per apoptosi. Secondo alcuni studi sembra che i mitocondri abbiano un ruolo nel segnale di apoptosi, perché un mancato funzionamento predispone l'aumento di concentrazione di calcio nel citoplasma cellulare, il quale svolge il ruolo di secondo messaggero nella regolazione del processo di apoptosi.

L'apoptosi è un processo enzimatico che ha come conseguenza, la morte programmata delle cellule e coinvolge sia le cellule sane che malate;(7) ha un ruolo essenziale nella sopravvivenza e nello sviluppo dell'organismo; contribuisce all'eliminazione delle cellule per mantenerne il numero costante, ed è essenziale per l'omeostasi dei tessuti. Il processo, nel suo insieme, induce la frammentazione del DNA, la riduzione delle dimensioni della cellula e la sua stessa frammentazione in piccole vescicolette dette "corpi apoptotici", i quali poi, vengono eliminati attraverso i macrofagi. Molti studi hanno dimostrato come la luce blu è dannosa per la retina e soprattutto per l'epitelio pigmentato, in quanto scatena il processo di apoptosi.

È stato dimostrato che l'esposizione a luce blu di 3 ore in 3 giorni consecutivi (1), provoca la degenerazione dell'epitelio pigmentato retinico nei topi. Infatti, dopo l'esposizione alla radiazione, era presente, nella retina dei topi, del materiale bianco e materiale extracellulare, depositato nel punto di giunzione tra segmento esterno ed interno del fotorecettore. Questo materiale era costituito da perossidi degli acidi grassi e dendriti cellulari che contengono macrofagi, cioè coloro che hanno il ruolo di eliminare sostanze estranee, ma un'eccessiva azione

di questi può creare danni alla retina attraverso la produzione di citochine, procurando un'inflammatione che potrebbe creare conseguenze importanti al tessuto.

La luce blu provoca anche degenerazioni dell'epitelio retinico pigmentato, che risulta assottigliato intorno al nervo ottico, la degenerazione risulta aggravata dalle ROS che impediscono l'eliminazione dei dischi membranosi. Questo materiale non digerito si deposita nello spazio subretinale provocando il depositarsi di materiale bianco e, dunque, l'infiltrazione dei macrofagi.

Per riparare i danni, l'organismo si difende attraverso la produzione di antiossidanti e ciò riduce gli effetti tossici delle ROS, ma i danni con il tempo si accumulano in quanto il meccanismo di difesa invecchia nel tempo. Inoltre, la melanina che è necessaria sia ai meccanismi di dispersione della luce sia per la sua azione antiossidante con il tempo diminuisce lasciando spazio alla lipofuscina, che oltre a produrre ROS, ha anche un'azione contrastante per gli antiossidanti.

### *3.3 Danni ai fotorecettori*

È stato osservato che il grado di pericolo della luce blu, alla retina, è correlato al contenuto di rodopsina nei fotorecettori, la quale è in parte responsabile dei danni di quest'ultimi, in quanto la produzione di intermedi tossici della rodopsina sono aumentati dopo l'esposizione alla luce blu. Questa radiazione non ha alcun impatto sulla retina, quando la rigenerazione della rodopsina è bloccata dalla riduzione della proteina RPE65. I pigmenti visivi, sia la rodopsina che l'opsina, sono formate da una componente proteica e da un cromoforo legato, ovvero l'11-cis retinale che viene fotoisomerizzato in retinale tutto trans dalla luce che raggiunge la retina. Il trans retinale è altamente reattivo nella sua forma libera e agisce da fotosensibilizzatore efficiente per produrre ROS e radicali liberi quando è esposto alla luce visibile con piccola lunghezza d'onda.

Uno studio effettuato sui topi mutati del gene RPE65, ha dimostrato la pericolosità della luce blu, in quanto, scatena il processo di apoptosi nei fotorecettori. Infatti, l'assenza della proteina RPE65 provoca il blocco del ciclo visivo, in quanto, non avviene la reisomerizzazione della molecola tutto-trans retinolo e di conseguenza non si verifica la rigenerazione della rodopsina dopo lo sbiancamento (7). Dopo 7 giorni nei topi mancanti della proteina, la retina non subiva

nessun danno, invece nei topi non mutati, si è osservata la riduzione dei recettori che risultavano morti per apoptosi o degenerazione.

In questi campioni non è stato compromesso il meccanismo di apoptosi ma è stato inattivato il meccanismo che dava il via al processo di apoptosi, infatti, i danni provocati dalla luce blu inducono maggior attività del fattore di trascrizione AP-1, una molecola importante per lo stimolo del processo di morte cellulare, questo fattore nei campioni è stato ridotto al minimo proprio per dimostrare che la morte programmata dei fotorecettori è dovuta alla rodopsina.

Questa tipologia di danni è causata dal prodotto della rodopsina, ovvero il tutto trans-retinale, il quale è un fotosensibilizzatore presente in maniera abbondante nella retina. La sua presenza nei segmenti esterni dei fotorecettori rappresenta un grande rischio, in quanto il meccanismo di fotoeccitazione, da parte della luce con lunghezza d'onda piccola, provoca l'eccitazione del retinale, il cui stato passa ad uno stato di tripletto. L'energia in questo stato, essendo alta, può essere trasferita all'ossigeno molecolare, eccitandolo ad ossigeno singoletto, un'altra specie reattiva dell'ossigeno. Dunque, l'eccitazione del retinale, ha come conseguenza la produzione di ROS e i conseguenti danni ossidativi.

La luce può portare alla morte dei fotorecettori attraverso due meccanismi di apoptosi e questi dipendono dall'intensità luminosa. Il primo è dovuto all'aumento dell'attività del fattore di trascrizione AP-1 dopo l'esposizione alla luce con intensità alta.(7) Questo meccanismo non è legato all'azione della trasduzione luminosa ma alle conseguenze dannose che essa provoca. Quindi lo stress ossidativo determinato dalla luce, attiva questa proteina che provoca la morte dei fotorecettori per apoptosi.

Il secondo tipo di apoptosi è la trasducina-dipendente, la quale, viene attivata da una bassa luminosità. Questa proteina è necessaria al processo di trasduzione, la sua assenza impedisce il meccanismo di apoptosi, in quanto negli studi effettuati, è stato evidenziato come la retina, esposta alla luce ed esente da questa proteina, manteneva intatta la sua struttura, mentre, in presenza della trasducina-dipendente è stata evidenziata un'importante degenerazione dei fotorecettori.

Tutto questo è determinato da una prolungata attivazione della rodopsina, in quanto induce un'eccessiva fototrasduzione; ciò implica, che i prodotti intermedi della rodopsina si accumulano e, svolgendo l'azione di fotosensibilizzatori, inducono danni.

Un'attenzione particolare va rivolta ai coni, i quali sembrerebbero in grado di sopravvivere ad un lungo periodo di esposizione alla luce. Il meccanismo di morte dei coni, infatti, è determinato dalle tossine rilasciate durante la morte dei bastoncelli, da elevati livelli di ossigeno e dalla mancanza di sostegno meccanico. Questa teoria, è stata confermata da un esperimento effettuato su topi, la cui retina era composta solo da coni, a dimostrazione del fatto che sono i bastoncelli, i veri responsabili dei danni retinici

### *3.4 Danni provocati dalla lipofuscina*

Si definisce lipofuscina o anche pigmento dell'invecchiamento, un accumulo granulare di molecole composte da materiale non degradabile e non eliminabile attraverso il meccanismo di esocitosi. Questo pigmento ha origine dalle ossidazioni che, a loro volta, modificano la molecola per renderla, appunto, non degradabile. Questo pigmento ha una colorazione marrone e presenta molecole che sono caratterizzate dall'essere fluorescenti (le basi di Schiff, che derivano dall'interazione di gruppi aldeidici o chetonici con gruppi amminici), la sua presenza è la causa dell'autofluorescenza retinica.

La lipofuscina si trova nel citoplasma delle cellule dell'epitelio pigmentato, la sua composizione deriva dalla digestione non completa dei segmenti esterni dei fotocettori ed è composta essenzialmente da lipidi e proteine. I granuli di lipofuscina sono associati all'invecchiamento cellulare.

Negli esseri umani, la lipofuscina inizia ad evidenziarsi all'età di 10 anni, nel corso della vita occupa il 19% del volume citoplasmatico delle cellule dell'epitelio retinico pigmentato (10).

È stato dimostrato che la fototossicità indotta dalla lipofuscina è dipendente dalla lunghezza d'onda, in particolare, i granuli di lipofuscina, generano sostanze reattive all'ossigeno dopo l'esposizione alla luce blu, che ha provoca una serie di alterazioni, concluse con la morte

cellulare. Invece, l'esposizione dei granuli a lunghezze d'onda comprese tra 500-800nm non provoca effetti negativi.

Tali conseguenze potrebbero essere evitate con l'utilizzo di antiossidanti e questo va a dimostrare che la tossicità indotta dalla lipofuscina è dovuta ai processi di fotossidazione.

Come abbiamo accennato in precedenza, la lipofuscina viene denominata anche pigmento dell'invecchiamento per cui l'invecchiamento gioca un ruolo importante nel danno fotochimico, in quanto all'aumentare dell'età, aumenta anche il rischio dei danni provocati dallo stress ossidativo, perché si verifica un maggior accumulo di lipofuscina. Infatti, in un donatore di 80 anni è stata riscontrata la capacità di produrre più ROS, rispetto ad un donatore di 40 anni.

Il merito a ciò, molti studi confermano non solo l'aumento di suscettibilità di questo pigmento all'esposizione di luce blu, ma anche che questo meccanismo contribuisca alla comparsa di AMD (degenerazione maculare legata all'età) in età senile. Infatti, molti pazienti con AMD hanno avuto un'esposizione maggiore alla luce blu, nel corso della loro vita, rispetto ad altre persone non affette da tale malattia.

La lipofuscina è dotata di molti cromofori, tra questi il maggior retinoide che funge da fotosensibilizzatore è A2E (N-retinilidene-AT-retiniletanolamina), un derivato della vitamina A (11-cis retinale) e originato, forse, anche dai danni ossidativi subiti dai segmenti esterni dei fotorecettori (1). Questo fotosensibilizzatore ha il picco di massima eccitazione proprio nella banda della luce blu, dunque, tale banda ha la capacità di eccitare le molecole di A2E, conseguentemente, induce la produzione di ossigeno singoletto. Quest'ultimo reagisce nuovamente con l'A2E producendo epossidi, una specie che possiede, anch'essa, un'elevata reattività. Questo meccanismo sembrerebbe essere la causa del danno a carico del DNA cellulare dell'epitelio retinico pigmentato, indotto dalla luce blu.

Il contributo di A2E correlato alla fotoreattività della lipofuscina è stato, però, messo in discussione. Infatti, la distribuzione spaziale di A2E e la fluorescenza della lipofuscina nelle singole cellule epiteliali del pigmento retinico umano, non sono collegate, in quanto, la fluorescenza dell'epitelio pigmentato retinico è stata riscontrata nella zona centrale della singola cellula epiteliale, mentre, la concentrazione massima di A2E era presente nella zona periferica e si riduceva nella zona centrale.

Un esperimento comparativo svolto da Shamsi e Boulton ha dimostrato che i granuli di lipofuscina erano più fotoreattivi dell'endogeno A2E, confermando la bassa reattività di quest'ultimo. Dunque, constatato che le proprietà tossiche dell'A2E, erano meno attive delle proprietà legate all-trans-retinale, la produzione endogena di A2E è stata proposta come meccanismo di disintossicazione dall'all-trans retinale.

Infatti, è stato osservato che, all'interno di una coltura, contenente cellule dove la concentrazione di A2E era bassa, non sono stati riscontrati danni dopo l'esposizione alla luce, contrariamente alla cellule che non presentavano la sostanza.

La melanina svolge un ruolo ambiguo, in quanto da un lato ha un effetto protettivo attraverso l'assorbimento della luce, regolazione degli enzimi antiossidanti e ha essa stessa proprietà antiossidanti, allo stesso tempo esistono prove importanti che suggeriscono che la melanina induce la fototossicità nelle cellule dell'epitelio pigmentato retinico, soprattutto nelle cellule invecchiate e dunque ciò ha come conseguenza l'aumento dei ROS e radicali liberi che comportano la morte cellulare.

### 3.5 *Sistemi di protezione*

- Antiossidanti

Alla luce delle spiegazioni precedenti, la causa della fototossicità è dovuta allo stress ossidativo, provocato da uno squilibrio di reazioni, in quanto da queste reazioni, derivano prodotti che danneggiano le diverse strutture cellulari. Lo stress ossidativo, infatti, deriva da maggiore produzione di ROS e dalla loro eliminazione da parte degli antiossidanti. Questi ultimi sono capaci di rimediare all'attività ossidante di alcune sostanze. Quando parliamo di attività ossidante ci riferiamo al meccanismo in cui vengono trasferiti elettroni o ioni idrogeno da una sostanza a un agente antiossidante. La molecola che si priva dell'elettrone diventa instabile, dunque reattiva e può attaccare altre molecole, provocando delle reazioni pericolose con effetti che sono stati analizzati in precedenza. Gli antiossidanti possono agire in due modi: eliminando i prodotti intermedi oppure evitando le reazioni ossidative. Il loro principio si basa sull'ossidazione, infatti, donano elettroni a radicali liberi in modo da renderli stabili, ed essi stessi si trasformano in molecole radicaliche ma stabili, dunque, non dannose per le cellule.

Esempi di antiossidanti sono la vitamina C, la vitamina E, i polifenoli e i carotenoidi.

- Pigmenti maculari

La retina, di per sé è dotata di pigmenti che sono in grado di proteggere gli occhi da pericolo della luce blu, grazie alla luteina e la zexantina, due carotenoidi che si trovano rispettivamente nella retina periferica e nella macula, esse possono proteggere nei seguenti modi: prevenendo l'ossidazione di A2E e quindi la conseguente produzione di ROS, agendo come spazzini dei ROS e riducendo la formazione di lipofuscina nelle cellule del epitelio retinico pigmentato, oppure, incrementando l'attività degli antiossidanti, che sono in contrasto con l'all-trans retinale e la lipofuscina, quest'ultimi sono responsabili della diminuzione dell'efficacia del sistema antiossidante. Tali pigmenti sono capaci di bloccare l'80% delle radiazioni con lunghezza d'onda di 460 nm dirette alla retina.

- Lenti oftalmiche.

Esse costituiscono una valida alternativa poco invasiva, sono le lenti dotate di trattamenti in grado di limitare la quantità di radiazioni dirette alla retina. Queste lenti sfruttano due principi diversi: possono presentare sulla superficie dei cromofori che filtrano le radiazioni, assorbendo, la radiazione blu. Oppure si pone sulla lente un sottile strato, che rende la lente più gialla e dunque riflette parte della radiazione blu dannosa che incide sulla lente.

- IOL (lenti intraoculare)

Sono dispositivi medico-chirurgici che si inseriscono nei pazienti che sono stati sottoposti ad asportazione del cristallino, in quanto erano affetti da cataratta. Quest'ultima riduce di molto l'acuità visiva, ma grazie al caratteristico colore giallo, il cristallino affetto da cataratta, filtra la radiazione blu e asportandolo questa capacità viene persa. Molti studi hanno confermato l'efficacia di questi dispositivi, infatti con l'utilizzo di questi è stata registrata una riduzione della morte cellulare.

- LAC

Le lenti a contatto morbide costituiscono un buon mezzo di protezione, infatti grazie alla loro dimensione riescono a coprire gran parte della cornea. Anche su questa tipologia di lenti viene applicato un trattamento in grado di filtrare le radiazioni dannose.

- Agire sul dispositivo

Proprio perché il problema della luce blu sta acquisendo sempre più rilievo, le aziende hanno introdotto nei loro dispositivi, la possibilità di variare l'illuminazione portandola verso i colori più caldi per ridurre l'emissione di luce blu.

# Conclusioni

In questo lavoro di tesi sono stati esposti i danni retinici che derivano dalla cronica esposizione, del sistema oculare, alle radiazioni ad alta energia. Ponendo particolare attenzione alla radiazione blu-viola, ovvero quella emessa dai LED e dai dispositivi che utilizzano il medesimo meccanismo. Sono state, dunque, descritte le strutture che vengono danneggiate e quali sono i meccanismi che governano questo processo di distruzione.

I sistemi biologici che si svolgono nel nostro apparato visivo sono perfetti e complessi, ma possono alterarsi nel caso in cui azioni esterne minaccino questo equilibrio.

In particolare è stato sottolineato il ruolo dei mitocondri, i quali, sono di vitale importanza per il mantenimento della vitalità cellulare. Questi organelli sono presenti in maniera abbondante nei tessuti retinici e, all'interno della loro catena respiratoria sono presenti i cromofori, i quali, assorbono la luce blu. Dunque, un'eccessiva esposizione a questo tipo di radiazione, induce la rottura del delicato equilibrio tra i sistemi ossidanti e antiossidanti all'interno dei mitocondri, i quali, attraverso effetti fotochimici inducono l'aumento di ROS e dello stress ossidativo.

È compito dell'optometrista essere a conoscenza dei potenziali rischi, in modo da consigliare le soluzioni migliori ai soggetti che hanno problematiche pregresse. Poiché è nell'interesse del professionista salvaguardare la salute e il benessere del soggetto.

La fototossicità retinica è una problematica sempre più attuale e dunque bisognerebbe sensibilizzare anche la popolazione, mettendola a conoscenza, dei reali rischi indotti dalle radiazioni che ormai fanno parte del nostro quotidiano.

L'utilizzo di dispositivi di protezione risulta indispensabile, ed essi al giorno d'oggi hanno raggiunto livelli di efficienza altissimi, andando in contro ad ogni tipo di esigenza che viene esposta dal soggetto.

# Bibliografia e Sitografia

- (1) Tao JX, Zhou WC, Zhu XG. Mitochondria as Potential Targets and Initiators of the Blue Light Hazard to the Retina. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:6435364. Published 2019 Aug 21.
- (2) Jaadane I, Boulenguez P, Chahory S, et al. Retinal damage induced by commercial light emitting diodes (LEDs). *Free Radic Biol Med*. 2015;
- (3) Tosini G, Ferguson I, Tsubota K. Effects of blue light on the circadian system and eye physiology. *Mol Vis*. 2016;22:61-72. Published 2016 Jan 24.
- (4) Ziółkowska N, Chmielewska-Krzesinska M, Vyniarska A, Sienkiewicz W. Exposure to Blue Light Reduces Melanopsin Expression in Intrinsically Photoreceptive Retinal Ganglion Cells and Damages the Inner Retina in Rats.
- (5) Zrenner E. Lichtinduzierte Schäden am Auge [Light-induced damage to the eye]. *Fortschr Ophthalmol*. 1990;
- (6) Wu J, Seregard S, Algvere PV. Photochemical damage of the retina. *Surv Ophthalmol*. 2006;
- (7) Wenzel A, Grimm C, Samardzija M, Remé CE. Molecular mechanisms of light-induced photoreceptor apoptosis and neuroprotection for retinal degeneration. *Prog Retin Eye Res*. 2005.
- (8) L. Merola: Esperimentazioni di Fisica.
- (9) Fisiologia Umana. Un approccio integrato, autore D. U Silverthorn.
- (10) [http://oftalmologiadomani.it/download/articoli2019/I\\_quad/Lucente-Luce\\_e\\_effetti\\_dannosi.pdf](http://oftalmologiadomani.it/download/articoli2019/I_quad/Lucente-Luce_e_effetti_dannosi.pdf).
- (11) <https://www.treccani.it/enciclopedia/retina/>;
- (12) <https://delphipages.live/it/salute-e-medicina/anatomia-e-fisiologia/structure-and-function-of-photoreceptors>;
- (13) <https://www.sedesoi.com/occhio-vista-meccanismo>