

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

**Impatto dell’Inquinamento Atmosferico
e delle Polveri Sottili
sulla Salute Oculare: Focus sulla Retina
e Strategie di Prevenzione**

Relatore:

Prof.ssa Paola Venditti

Candidato:

Roberto Biagione

Matricola M44000588

A.A. 2023 / 2024

*A mia madre ed a mio padre,
colonne portanti della mia vita,
con amore ed infinita gratitudine
per essermi stati accanto ed
aver sempre creduto in me.
A mia sorella, l'altra parte di me
ed al piccolo Dodo, la mia gioia.*

*“Affinché la luce possa risplendere,
deve esserci l'oscurità”*

*Sir Francis Bacon
(1561-1626)*

INDICE

INTRODUZIONE	4
CAPITOLO I.....	5
<i>L'INQUINAMENTO ATMOSFERICO</i>	5
<i>1.1 Inquadramento generale del problema</i>	5
<i>1.2 Composizione dell'inquinamento</i>	8
<i>1.2.1 Stress ossidativo</i>	12
<i>1.3 Indoor pollution</i>	13
<i>1.4 Propagazione nell'occhio</i>	14
<i>1.5 Impatto generale sulla salute oculare</i>	15
CAPITOLO II	19
ANATOMIA OCULARE	19
<i>2.1 L'occhio</i>	19
<i>2.2 La retina</i>	21
<i>2.3 Epitelio retinico pigmentato</i>	23
<i>2.4 Fotorecettori</i>	24
<i>2.5 Processo di fototrasduzione</i>	25
<i>2.6 Cellule gangliari ed interneuroni</i>	27
CAPITOLO III	31
DANNI RETINICI	31
<i>3.1 Introduzione al capitolo</i>	31
<i>3.2 Danni all'epitelio retinico pigmentato</i>	32
<i>3.2.1 Stress del reticolo endoplasmatico</i>	33
<i>3.2.2 Risposta infiammatoria</i>	34
<i>3.2.3 Osservazioni.....</i>	36
<i>3.3 Danni ad interneuroni e cellule gangliari</i>	37
<i>3.4 Possibili metodi di prevenzione</i>	39
CONCLUSIONI.....	42
BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA	43

INTRODUZIONE

L'inquinamento atmosferico rappresenta, ad oggi, una delle principali cause di morte nel mondo, provocando ogni anno diversi milioni di decessi prematuri. ^(2,5) Le sue conseguenze sulla salute sono state ampiamente documentate negli anni; sono infatti noti gli effetti sul sistema respiratorio e il suo nesso con malattie cardiovascolari ed oncologiche. ^(1,3,5)

Sempre più evidenti sono anche gli effetti sull'apparato visivo che, per la sua collocazione anatomica, risulta direttamente esposto all'ambiente esterno. ⁽²⁾ Grazie a una vasta documentazione e numerosi studi effettuati, conosciamo i possibili effetti negativi dell'inquinamento soprattutto sulla superficie oculare e sul segmento anteriore dell'occhio. Nonostante la ricca letteratura scientifica che ha indagato sugli effetti dell'inquinamento sulla salute dell'occhio, sono pochi gli studi che investigano sui suoi possibili effetti negativi specifici sulla retina. Una fonte significativa dell'inquinamento sono le polveri sottili (PM), che per definizione sono un mix di particelle solide sospese nell'aria. ⁽¹¹⁾ Le polveri sottili possono avere diversa origine, sia da fenomeni naturali sia da attività antropiche, e soprattutto dai processi di combustione e dal traffico veicolare. La loro pericolosità sta nelle dimensioni ridotte di alcune e nella possibilità di penetrare nei tessuti e causare possibili danni sistemici, sistema oculare compreso. ^(1,5,11)

Questo lavoro di tesi pone quindi l'attenzione su una prospettiva meno ricercata, andando ad esplorare gli effetti dell'esposizione a lungo termine a particelle sottili sulla funzione visiva e sulla salute delle cellule retiniche. In particolare, si analizza come l'esposizione a PM possa causare una diminuzione della risposta agli stimoli luminosi e una degenerazione delle cellule neuronali della retina, e come possa indurre infiammazione e stress ossidativo nel reticolo endoplasmatico delle cellule dell'epitelio retinico pigmentato (ARPE-19), fattori che possono contribuire allo sviluppo di gravi patologie oculari. Infine, si accennano le possibili soluzioni da adottare per prevenire e proteggersi da eventuali danni, come l'uso di antiossidanti, soluzioni lubrificanti e umettanti, la preferenza per occhiali rispetto a lenti a contatto e la scelta di un materiale rispetto a un altro per queste ultime.

CAPITOLO I

L'INQUINAMENTO ATMOSFERICO

1.1 Inquadramento generale del problema

Grazie alla sua particolare composizione, specialmente alla presenza di ossigeno, l'aria ha svolto un ruolo essenziale nell'evoluzione dell'uomo ed è cruciale per la sua sopravvivenza.

^(1,5) Non solo: è vitale per la gran parte delle forme di vita sulla Terra. La caratteristica fondamentale per noi relativa all'aria è la sua qualità, vale a dire la sua particolare composizione, poiché influenza in maniera diretta la nostra salute ed il nostro benessere. Una buona qualità dell'aria risulta essere importante anche per la crescita e lo sviluppo delle piante, la sopravvivenza degli animali e degli insetti, contribuendo così al mantenimento dell'equilibrio degli ecosistemi terrestri. ^(5, 18) Di conseguenza, è evidente che preservare una buona qualità dell'aria è cruciale per la sostenibilità del nostro pianeta e per il benessere delle generazioni future.

Purtroppo, tutto ciò risulta essere oggi già gravemente compromesso. Siamo ormai a un punto di non ritorno, nonostante i numerosi appelli che si susseguono da anni da parte della comunità scientifica e non solo. Una delle sfide del nostro tempo è proprio fronteggiare questo progressivo peggioramento della qualità dell'aria, fenomeno comunemente identificato come inquinamento atmosferico, un problema sempre più emergente e che richiede assolutamente attenzione da parte di tutti.

Ma cosa s'intende per inquinamento atmosferico? Con questo termine si fa riferimento a qualunque alterazione delle normali condizioni chimiche o dello stato fisico dell'aria atmosferica, dovuta alla presenza di una o più sostanze in quantità e con caratteristiche tali da alterare le normali condizioni ambientali e di salubrità dell'aria. ⁽⁵⁾ L'aumento della civilizzazione procede in parallelo al graduale deterioramento della qualità dell'aria.

Sebbene in natura vi siano sempre stati presenti potenziali agenti inquinanti e fonti di inquinamento, come i fenomeni di erosione e gli incendi boschivi, che stanno drasticamente aumentando in seguito ai cambiamenti climatici (anch'essi dovuti all'inquinamento), le

eruzioni vulcaniche, la polvere e il polline, si fa coincidere la nascita e la presa di consapevolezza del problema legato all'inquinamento con l'inizio del fenomeno di industrializzazione. Quest'ultimo ha avuto luogo nel corso del XIX secolo ed ha portato a un vero e proprio processo di trasformazione all'interno della società, conducendola da una struttura prevalentemente rurale a una più moderna e, appunto, industriale, provocando un conseguente forte aumento della popolazione, dovuto sicuramente a un miglioramento della qualità della vita. Questo si è tradotto anche nell'aumento dell'urbanizzazione, ma soprattutto dei trasporti.

Le attività antropiche proprie degli insediamenti urbani, tra cui il traffico veicolare, le centrali termoelettriche, l'agricoltura intensiva, il riscaldamento e il raffreddamento degli edifici, sono tra le principali cause dell'alterazione della qualità dell'aria, in maniera diretta e indiretta. Le sostanze emesse in atmosfera dalle attività antropiche sono inoltre responsabili di diversi problemi ambientali che vanno dalle piogge acide, all'effetto serra, all'impoverimento dell'ozono stratosferico. ⁽⁵⁾

Negli ultimi vent'anni, c'è stato un netto aumento dell'inquinamento atmosferico, segnalando una tendenza preoccupante e in costante crescita. Questo fenomeno non risparmia né i paesi in via di sviluppo né quelli sviluppati, portando con sé conseguenze devastanti per la salute pubblica. Si è giunti al punto in cui l'inquinamento atmosferico è stato riconosciuto come un'emergenza sanitaria globale, richiedendo azioni urgenti e decisive per mitigarne gli effetti nocivi.

Secondo le statistiche dell'OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità), quasi il 91% della popolazione globale abita in zone dove la qualità dell'aria supera i limiti minimi raccomandati dall'organizzazione stessa. Sempre secondo i dati di quest'ultima, ogni anno sono circa 6,7 milioni i decessi prematuri a livello globale riconducibili agli effetti dell'inquinamento atmosferico e di questi 1,4 milioni riguardano la popolazione europea. ^(2, 7)

È ormai noto che l'inquinamento dell'aria ha un impatto significativo sulla diffusione e sulla gravità delle malattie croniche e non trasmissibili. Ad oggi, anche grazie agli studi scientifici e alla vasta letteratura clinica, si è potuto associare il fenomeno dell'inquinamento a patologie soprattutto respiratorie, cardiovascolari e neurodegenerative, nonché a danni alla pelle ed agli occhi. ^(1,2,5)

Quando si pensa all'inquinamento atmosferico, è inevitabile fare riferimento alle grandi metropoli asiatiche. Ciò è in parte giustificato, perché secondo i dati IQAir per la qualità dell'aria, nella classifica delle città più inquinate del 2023, ai primi posti vi sono svariate città indiane e cinesi, con al primo posto Begusarai, dove la qualità dell'aria media misurata

durante l'anno supera di oltre dieci volte i limiti posti dalle linee guida dell'OMS. ⁽⁸⁾ Ciò che non dobbiamo dimenticare, e che è importante, è che l'inquinamento atmosferico risulta essere un grave problema che affligge anche il vecchio continente e il nostro Paese. Nella classifica annuale redatta per la qualità dell'aria dall'AEA (Agenzia Europea dell'Ambiente), nel 2021 erano quattro i comuni italiani nei primi dieci posti insieme ad altre città europee. I comuni con una qualità dell'aria definita “molto scarsa” erano Cremona, Vicenza, Brescia e Pavia, tutte città collocate nella pianura padana. Questo è dovuto principalmente alla ricca industrializzazione della zona e alla particolare conformazione geografica. Al primo posto della classifica vi era Nowy Sącz, in Polonia. ⁽⁹⁾

Proprio quest'anno (precisamente il 18 febbraio 2024), sebbene per poche ore, questo accade perché la qualità dell'aria varia a seconda delle condizioni atmosferiche, Milano è risultata per IQAir la terza città più inquinata del mondo, preceduta da Dacca in Bangladesh e Chengdu in Cina. Secondo il country profile del GBD per l'Italia, l'inquinamento atmosferico è il primo fattore di rischio ambientale in termini di Disability-adjusted life year (DALY), un indicatore molto utilizzato dall'OMS per le sue statistiche, risultante dalla somma degli anni di vita persi per morte anticipata rispetto all'aspettativa di vita e degli anni vissuti con l'invalidità causata dalla malattia. Le stime inoltre indicano che nel nostro Paese sono circa trentamila ogni anno i decessi legati a patologie attribuibili all'inquinamento, i quali risultano essere pari a circa il 7% delle morti totali, escluse quelle per incidenti, e l'84% delle morti riguarda persone con età superiore ai settant'anni. ⁽⁵⁾

A confermare ciò, negli anni, sono stati anche altri studi condotti e finanziati dal nostro Ministero della Salute (EpiAir 1 e 2), finanziati nel quadro delle iniziative del Centro Controllo Malattie (CCM). Questi studi hanno valutato gli effetti acuti dell'inquinamento atmosferico in oltre 20 città italiane ed hanno evidenziato un impatto decisamente negativo sia sulla mortalità sia sulla morbosità, soprattutto per cause cardiovascolari e respiratorie. A farci capire ulteriormente quanto sia grave la situazione attuale sono stati anche alcuni studi condotti a partire dal 2020, i quali hanno dimostrato che l'inquinamento dell'aria può sì aumentare il rischio di patologie respiratorie, ma può anche accentuare la vulnerabilità a infezioni batteriche e virali. In particolare, gli studi si sono soffermati sull'infezione da SARS-CoV-2 e hanno dimostrato che il maggior numero di decessi, e quindi il dilagare della pandemia, si è avuto in particolar modo nell'Italia settentrionale, soprattutto nell'area definita come “triangolo industriale”, tristemente nota come una delle aree più inquinate in assoluto in Europa. ^(4,5)

1.2 Composizione dell'inquinamento

L'aria che respiriamo è principalmente composta per il 78% di azoto e approssimativamente per il 21% di ossigeno. Il restante 1% comprende altre sostanze tra cui quelle che vengono definite "inquinanti atmosferici". Questi ultimi vengono definiti in vario modo e risultano essere una complessa miscelazione di sostanze in fase gassosa e particelle liquide ma anche solide sospese in atmosfera. Gli inquinanti atmosferici provengono da una varietà di fonti, sia naturali che antropiche. Tra queste, troviamo le industrie, i trasporti, le attività domestiche e l'agricoltura. Gli agenti inquinanti possono sostanzialmente essere suddivisi in due categorie in base alle loro fonti di emissione: i primari sono direttamente prodotti da fenomeni naturali o dalle attività umane, come possono essere i fumi emessi dai camini o le emissioni dei processi di produzione, mentre i secondari sono il risultato dell'interazione degli inquinanti tra loro o con particolari condizioni meteorologiche. ^(3,5) Tra gli inquinanti atmosferici classificati, quelli che mostrano le maggiori evidenze tossicologiche includono:

- Gli ossidi di azoto (NO_x). Si formano dai processi di combustione ad alte temperature come quelli che avvengono soprattutto nei motori delle automobili (il traffico veicolare risulta essere una delle sorgenti emissive principali) e quelli che avvengono nelle industrie, particolarmente nelle centrali per la produzione di energia. Il biossido di azoto (NO_2) è comunemente riconosciuto come un indicatore affidabile dell'inquinamento derivante dal traffico. Inoltre l' NO_2 contribuisce alla produzione dello smog fotochimico agendo come precursore dell'ozono troposferico e concorre al fenomeno delle piogge acide andando a reagire con l'acqua e formando acido nitrico. Gli effetti dannosi del NO_2 comprendono soprattutto complicanze sull'apparato respiratorio come riacutizzazioni di malattie infiammatorie croniche delle vie respiratorie, come bronchite cronica ed asma, e riduzione della funzionalità respiratoria. Vi possono essere anche effetti a lungo termine quali alterazioni del tessuto polmonare ma anche un aumento della vulnerabilità alle infezioni polmonare batteriche e virali. ⁽⁵⁾
- L'ozono (O_3). È un composto fortemente ossidativo che si forma nella troposfera, strato inferiore dell'atmosfera, dai gas prodotti dalle attività umane, sono un esempio i precedentemente citati ossidi di azoto, questi reagiscono per attività fotochimiche derivanti dalla radiazione solare. Il biossido di azoto in presenza di luce solare si scinde in $\text{NO} + \text{O}$ (ossigeno atomico). L'ossigeno molecolare reagisce con l'ossigeno atomico a formare l'ozono che è un composto fortemente irritante ed ha effetti in particolare sul sistema respiratorio

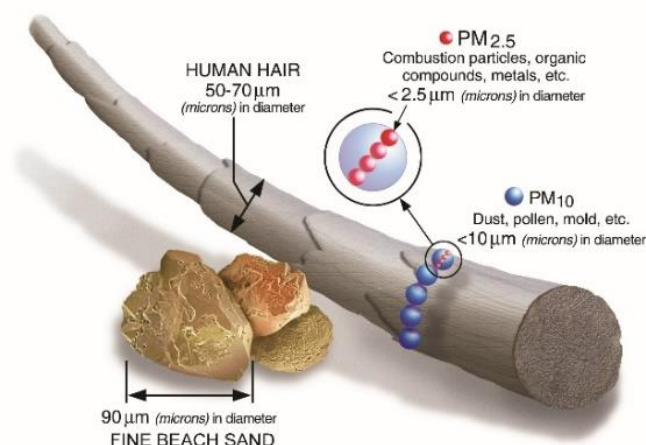
specialmente su soggetti suscettibili. Da studi recenti si è dimostrato che l'esposizione a breve termine all'ozono ha ripercussioni acute sulla salute a livello epidemiologico. ⁽⁵⁾

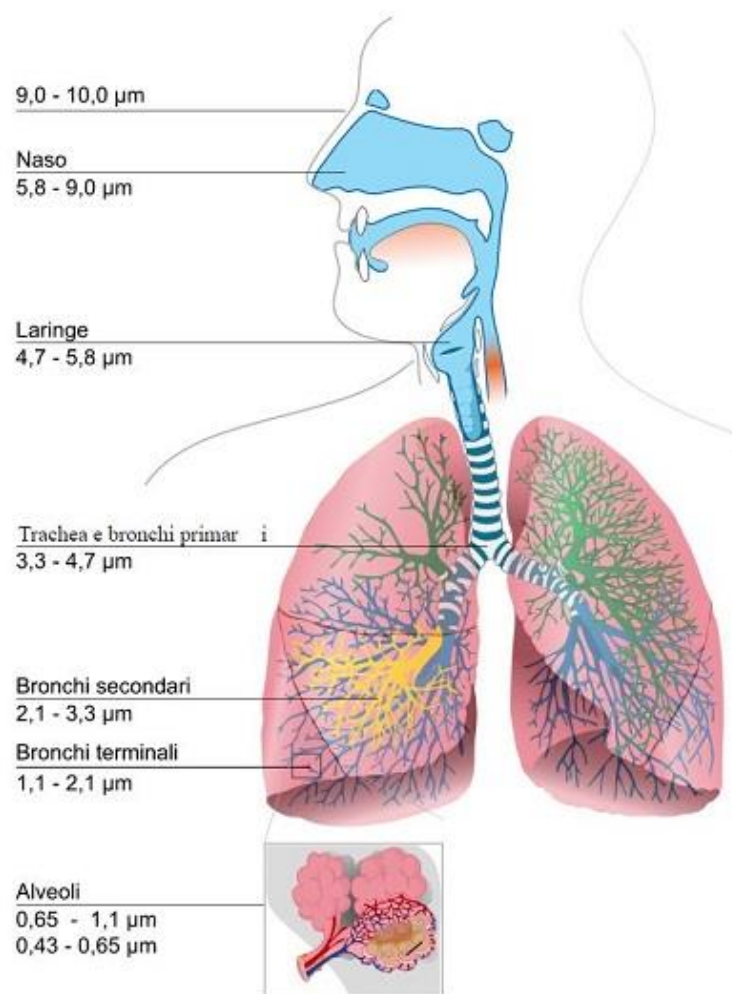
- Idrocarburi policiclici aromatici (IPA). Questi composti che si trovano in atmosfera sono il risultato di combustioni incomplete che avvengono negli impianti industriali, in quelli di riscaldamento e delle emissioni degli autoveicoli. A questa famiglia appartengono centinaia di composti con caratteristiche diverse tra loro. Il composto più studiato è il benzo(a)pirene (BaP), è in assoluto uno dei più tossici ed è presente in ambiente a concentrazioni molto significative tanto da essere usato per rappresentare l'inquinamento ambientale dell'intero gruppo degli IPA. L'andamento rileva una forte dipendenza stagionale ed una situazione peggiore nelle zone urbane rispetto a quelle extraurbane. Numerosi studi clinici ed osservazionali hanno evidenziato la potenziale cancerogenicità degli IPA. Il tumore maggiormente associato all'esposizione a questo inquinante è quello del polmone, ma ci sono evidenze che suggeriscono una associazione anche con i tumori della vescica e della mammella. ⁽⁵⁾
- Biossido di zolfo (SO₂). Le emissioni di origine antropica di questo composto provengono principalmente dall'uso di combustibili solidi e liquidi. Negli ultimi decenni, nei paesi economicamente sviluppati, la quantità di zolfo nei carburanti è stato significativamente ridotto. Tuttavia, la fonte principale di SO₂ rimane rappresentata dalle navi che utilizzano petrolio grezzo come combustibile e dai processi industriali di fusione dei metalli. L' SO₂ ha effetti negativi sulla salute umana anche a concentrazioni molto basse. Gli effetti acuti principali dell'esposizione ad alti livelli di SO₂ includono l'aumento della resistenza delle vie respiratorie a causa dell'edema della mucosa, l'aumento delle secrezioni mucose, bronchite, tracheite, broncospasmo e/o difficoltà respiratorie negli asmatici. A lungo termine, possono verificarsi alterazioni della funzionalità respiratoria, peggioramento delle bronchiti croniche, asma e enfisema. ⁽⁵⁾

Infine, ci sono le particelle conosciute come "polveri sottili", che costituiscono una categoria separata di inquinanti atmosferici. Comunemente indicate come PM, un'abbreviazione di "particulate matter" derivata dalla definizione inglese, questo termine si riferisce a un complesso insieme di sostanze che differiscono chimicamente tra loro e che possono essere principalmente suddivise in cinque categorie: solfati, nitrati, carbonio elementare e organico, e materiali cristallini come la cenere e la terra. Secondo la definizione dell'Environmental Protection Agency (EPA), le PM sono una miscela di particelle solide e goccioline liquide presenti nell'aria. ^(10,11) Alcune particelle, come polvere, sporco, fuliggine o fumo, sono

abbastanza grandi o scure da poter essere viste a occhio nudo. Queste particelle dalle dimensioni estremamente ridotte possono rimanere sospese nell'aria per un tempo sufficiente da poter essere diffuse e trasportate. Identificare la principale fonte di emissione delle polveri sottili è complesso, poiché possono derivare sia da un'emissione diretta (combustione di carburanti, pollini) che da una reazione nell'atmosfera di composti chimici, come ossidi di azoto e zolfo, ammoniaca e composti organici, classificandole quindi sia come inquinanti primari che secondari. Le fonti di PM possono essere sia naturali (polveri del deserto, aerosol marino, eruzioni vulcaniche) sia antropogeniche (combustione dei motori, riscaldamento, residui dell'usura del manto stradale, dei freni e delle gomme delle vetture, emissioni di impianti industriali). Questa classificazione, tuttavia, non è sufficiente poiché le polveri sottili possono variare nella loro composizione nel tempo e nello spazio a causa delle diverse fonti di produzione e dei cambiamenti meteorologici. Le PM sono generalmente suddivise in tre categorie dimensionali basate sul loro diametro aerodinamico, che determina la loro capacità di penetrare nel tratto respiratorio e nei tessuti, influenzando così l'intensità degli effetti nocivi:

- PM₁₀ – Particolato inalabile formato da particelle con diametro aerodinamico inferiore a 10 µm, capaci di penetrare nel tratto respiratorio superiore (naso, faringe e laringe);
- PM_{2.5} – Particolato fine con diametro aerodinamico inferiore a 2.5 µm, capace di penetrare nel tratto tracheobronchiale (trachea, bronchi, bronchioli);
- PM_{0.1} – Particolato ultrafine con diametro aerodinamico inferiore a 0.1 µm, in grado di penetrare profondamente nei polmoni fino agli alveoli e di attraversare la membrana alveolo-capillare. ^(3,5)





Negli ultimi dieci anni in Italia, il traffico veicolare, specialmente i veicoli diesel, e la combustione di biomasse per il riscaldamento, come legna e pellet, sono diventate le principali fonti di inquinamento da $\text{PM}_{2.5}$, con un impatto molto significativo sulla salute pubblica, soprattutto nelle aree urbane. Per quanto riguarda il $\text{PM}_{1.0}$, una notevole fonte di emissione è l'agricoltura. L'agricoltura intensiva ed estensiva e le aziende agricole, infatti, generano fumi da fertilizzanti ricchi di azoto e rifiuti animali, che contengono principalmente ammoniaca e si combinano nell'aria con le emissioni di combustione per formare piccole particelle solide. ^(4,5) Secondo le linee guida dell'OMS, i valori di riferimento per le concentrazioni medie giornaliere ed annuali di PM_{10} non dovrebbero superare i 50 e i 20 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, rispettivamente, mentre quelli per le $\text{PM}_{2.5}$ dovrebbero essere pari a 25 e 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. A causa delle loro dimensioni ridotte, le polveri sottili sono facilmente inalabili, ma ciò che aumenta la loro tossicità e contribuisce a gravi patologie è il fatto che possono assorbire ed essere associate a sostanze come gli IPA, idrocarburi costituiti da due o più anelli aromatici connessi e metalli pesanti, naturali componenti della crosta terrestre. Tra i metalli tossici che

tendono ad accumularsi ci sono il mercurio, il cromo, il cadmio, l'arsenico, il piombo e l'uranio. ⁽¹¹⁾ Gli effetti tossici del particolato, soprattutto sull'apparato respiratorio e cardiovascolare, possono essere diretti o indiretti, come evidenziato da numerosi casi e studi. Questi effetti avvengono attraverso l'induzione dello stress ossidativo e della risposta infiammatoria e sono maggiori soprattutto in gruppi di soggetti suscettibili, come bambini, anziani, persone con una malattia respiratoria o cardiovascolare preesistente, donne in gravidanza, persone di basso livello socio-economico e alcune categorie di lavoratori. ⁽⁵⁾

1.2.1 Stress ossidativo

Quando si parla di stress ossidativo, si fa riferimento a una condizione patologica che si verifica ogni volta che si ha uno squilibrio tra la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS, dall'inglese reactive oxygen species), che comprendono radicali liberi (ossia specie chimiche dotate di uno o più elettroni spaiati, che le rendono particolarmente reattive) o specie non radicaliche, e la capacità dell'organismo di eliminarle, neutralizzarle o riparare i danni causati da queste ultime, agendo con dei sistemi antiossidanti.

Quando si verifica questo squilibrio, si possono avere vari danni a livello cellulare. Possono essere danneggiati i lipidi, le proteine e, per ultimo ma non meno importante, anche il DNA. Le ROS sono quindi molecole contenenti ossigeno caratterizzate da un'elevata reattività. Queste possono legarsi a vari componenti cellulari attraverso reazioni di ossidazione e causare danni. In questo gruppo di molecole sono inclusi: il radicale superossido (O_2^-), un radicale libero che si forma durante il processo di trasporto degli elettroni nella catena respiratoria mitocondriale; il radicale idrossile ($\cdot OH$), il radicale dell'ossigeno dotato di più elevata reattività; e il perossido d'idrogeno (H_2O_2), poco reattivo ma capace di formare il radicale idrossile in presenza di ioni ferro e rame ridotti.

Le cellule sono dotate di un efficiente sistema di difesa antiossidante per proteggersi contro i danni prodotti dalle ROS, e tale sistema è particolarmente sviluppato nei mitocondri, organelli dalla doppia membrana situati nelle cellule di molti organismi eucarioti, che presiedono alla sintesi della maggior parte dell'energia metabolica necessaria per tutti i processi cellulari. Gli antiossidanti possono essere molecole a basso peso molecolare, come la vitamina E, la vitamina C e il glutathione, oppure sistemi enzimatici, tutti agiscono al fine di mantenere l'omeostasi cellulare e prevenire i danni ossidativi neutralizzando le ROS.

È inoltre nei mitocondri che avvengono funzioni essenziali per la cellula, come la respirazione cellulare, che porta alla produzione di energia metabolica sotto forma di ATP, e la regolazione

dei livelli di calcio intracellulare. Queste strutture possono però essere una potenziale sorgente di ROS, che sono considerate sottoprodotti delle reazioni del metabolismo cellulare. Le ROS possono colpire gli stessi mitocondri, compromettendo la loro produzione di ATP, causando la perossidazione dei lipidi nelle membrane mitocondriali e generando proteine ossidate che dovranno poi essere eliminate al fine di evitare la formazione di aggregati pericolosi.

Il sistema antiossidante mitocondriale permette di gestire, controllare e limitare i danni causati dalle ROS prodotte anche da altre fonti cellulari. In condizioni normali, si ha comunque la produzione e quindi la presenza di ROS, ma non generano particolari problemi dal momento che vengono opportunamente eliminate, rientrando nel normale comportamento cellulare. A garantire l'eliminazione dei radicali liberi è la presenza di particolari enzimi, quali le superossido dismutasi (SOD), la catalasi e la glutazione perossidasi (GPX). Ad esempio, le SOD convertono il superossido in perossido di idrogeno, che a sua volta viene decomposto in acqua e ossigeno dalla catalasi e dalla GPX, neutralizzando la specie ed evitando i danni.⁽²¹⁾

1.3 Indoor pollution

Dopo aver esaminato le caratteristiche generali e la composizione dell'inquinamento atmosferico, in particolare di quello esterno definito in inglese come "outdoor pollution", è essenziale considerare anche l' "indoor pollution", cioè l'inquinamento atmosferico che riguarda gli ambienti confinati. Anche se gran parte degli agenti inquinanti che caratterizzano l'inquinamento degli ambienti interni provengono dall'aria atmosferica esterna, una parte deriva anche da fonti interne. L'inquinamento dell'aria negli ambienti interni è associato al fumo di tabacco, alla dispersione di composti presenti nei materiali da costruzione e nelle decorazioni degli edifici, alla cottura ad alte temperature, alla combustione di carbone o biomassa per cucinare o riscaldarsi, all'uso di pesticidi, ecc. Inoltre, i prodotti e i materiali da costruzione e i prodotti per la pulizia emettono molti composti organici volatili (COV) chimicamente inerti e composti biologicamente reattivi, come la formaldeide e l'acroleina. Questo tipo di inquinamento può avere un impatto significativo sulla salute umana e deve essere considerato insieme all'inquinamento atmosferico esterno per migliorare la qualità dell'aria e proteggere la salute umana. I cambiamenti climatici possono favorire l'aumento dell'inquinamento atmosferico sia indoor che outdoor e, viceversa, l'inquinamento ambientale può influenzare l'equilibrio del sistema climatico. Con il conseguente cambiamento climatico e gli eventi estremi, come le ondate di calore, è aumentato l'utilizzo di impianti di aria condizionata, con conseguenti rischi legati alla possibile carente manutenzione e gestione

inefficiente. ^(1,5) Inoltre, sempre legato al cambiamento climatico, l'aumento della frequenza di eventi come piogge intense ed alluvioni, come abbiamo notato soprattutto negli ultimi anni anche nel nostro paese, ha incrementato il rischio di umidità e muffe all'interno delle abitazioni. Queste, che costituiscono un importante fattore di rischio per l'inquinamento indoor, causano asma ed allergie. Anche le muffe emettono una serie di composti organici volatili che possono avere effetti irritanti e scatenare sintomi a carico delle vie respiratorie come asma ed allergie. ⁽⁵⁾ A destare maggiori preoccupazioni sono le concentrazioni di PM_{2.5}, provenienti principalmente da biomasse utilizzate per il riscaldamento domestico, sia nei paesi in via di sviluppo che in quelli sviluppati, contribuendo notevolmente all'esposizione della popolazione all'inquinamento dell'aria.

1.4 Propagazione nell'occhio

Gli occhi, a causa della loro posizione anatomica, sono esposti direttamente al mondo esterno. Nonostante siano dotati di importanti meccanismi di protezione naturali come le palpebre, le ciglia, le sopracciglia e il film lacrimale, possono entrare in contatto con agenti inquinanti in diverse modalità. ^(1,2)

Gli agenti inquinanti possono entrare in contatto con gli occhi attraverso il trasporto meccanico diretto. Questo può avvenire quando particelle o sostanze irritanti presenti nell'ambiente entrano in contatto immediato con la superficie degli occhi. ^(2,6)

Gli agenti inquinanti possono anche penetrare nel corpo attraverso le vie respiratorie. Una volta assorbiti dal sistema respiratorio, questi possono raggiungere il sistema circolatorio e, da lì, vari tessuti e organi. Questo tipo di esposizione può essere particolarmente dannosa, poiché gli inquinanti possono entrare nel flusso sanguigno e, successivamente, raggiungere gli occhi. ^(15,16)

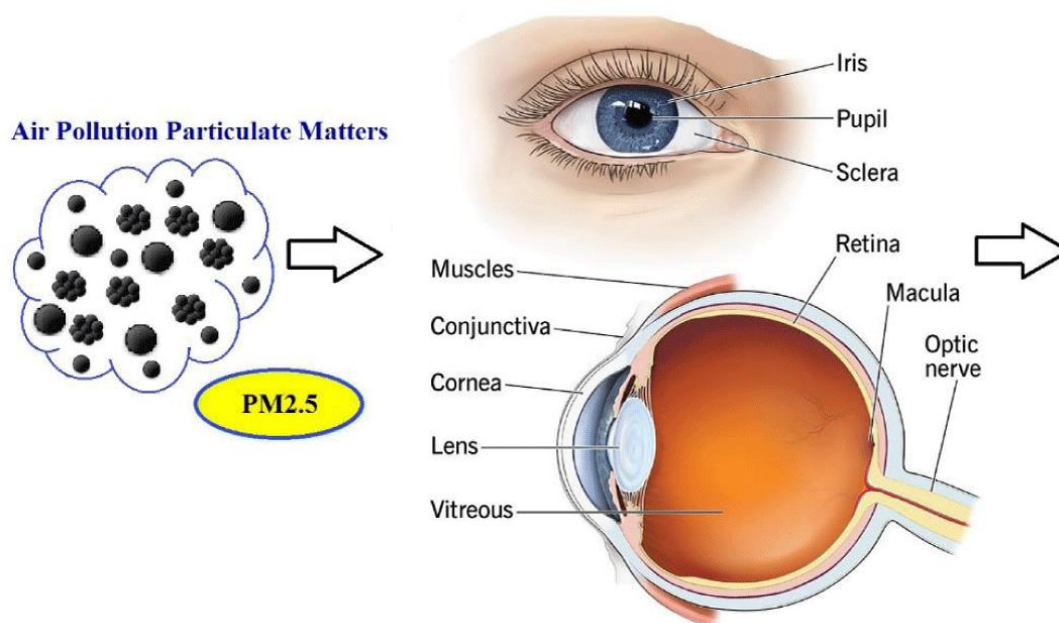
L'aria è un mezzo attraverso cui gli agenti microbici possono muoversi nell'ambiente. Le piante, i frammenti cellulari, i funghi, i batteri, i parassiti e le spore possono essere parte dei componenti di quello che viene definito bioaerosol (particelle biologiche sospese nell'aria). ⁽¹¹⁾ Le particelle sospese nell'aria, incluse le polveri sottili, possono agire come veicolo o vettore per numerosi virus presenti nell'atmosfera. Le particelle sospese di dimensioni ultrafini (PM_{2.5}) destano particolare preoccupazione in quanto possono essere inalate e penetrare nei tessuti, ed essere inoculate. Oltre a ciò, esse assorbono anche i microorganismi spesso a loro associati. Alcuni componenti delle particelle possono agire anche da nutrimento per batteri, aumentando così il loro possibile effetto tossico. Studi hanno dimostrato che le PM_{2.5} e PM₁₀

possono penetrare la cornea ed entrare nella camera anteriore dell'occhio, causando stress ossidativo e una conseguente infiammazione di cellule e tessuti. ⁽⁶⁾ In particolare, a dimostrazione di ciò, in alcuni studi è stata riscontrata nell'umore acqueo di alcune persone affette da crisi glaucomatociclitica ⁽⁶⁾ (una sindrome rara caratterizzata da ricorrenti attacchi di glaucoma acuto ad angolo aperto, associati ad una modesta iridociclite) la presenza di alcune infezioni virali, come quelle causate dal citomegalovirus, il virus della varicella-zoster, il virus dell'herpes simplex e *Helicobacter pylori*, insieme a mediatori immunitari, molecole coinvolte nella regolazione della risposta immunitaria. ⁽⁶⁾ Questi agenti sono stati considerati come il possibile fattore scatenante dell'evento iniziale della malattia. È noto che la diffusione dei virus è correlata all'inquinamento atmosferico, e che l'inquinamento atmosferico può causare disordini immunitari. Pertanto, è plausibile che le particelle di PM possano agire come vettore per i virus, soprattutto quando si parla di lunghe esposizioni, causando infezioni e infiammazioni, o provocando una risposta immunitaria che, in questo caso, porta all'aumento della pressione intraoculare nell'occhio umano, ma più in generale all'infiammazione cronica e allo stress ossidativo. ⁽⁶⁾ Oltre ai virus, possiamo trovare i microscopici artropodi appartenenti alla famiglia Pyroglyphidae, noti come acari della polvere. Presenti nella polvere domestica con dimensioni che vanno dai 200 ai 300 μm , le specie più comuni di acari della polvere includono *Dermatophagoides pteronyssinus* e *Blomia tropicalis*. ⁽¹²⁾ Questi rilasciano allergeni che danneggiano la pelle e gli occhi, provocando una risposta immunitaria nel corpo e sono collegati a diverse malattie umane, come la congiuntivite. Infine, non vanno trascurati i metalli pesanti come piombo, ferro, mercurio e arsenico. ⁽¹²⁾ Questi metalli, principalmente presenti nella polvere stradale, generano radicali liberi dell'ossigeno che danneggiano le cellule, portando alla loro morte. In particolare, quelli presenti nella polvere vulcanica sono sotto inchiesta poiché contengono la forma divalente del ferro, altamente reattiva e dannosa per i polmoni e gli occhi. La polvere contiene anche particelle di elementi radioattivi, come il radon, generato attraverso i processi di estrazione mineraria contenuto in grande quantità anche nelle ceneri vulcaniche insieme all'uranio il quale può generare radiazioni e danneggiare i tessuti epiteliali.

1.5 Impatto generale sulla salute oculare

L'occhio, a causa del suo diretto contatto con l'ambiente esterno, è uno degli organi più vulnerabili agli inquinanti atmosferici. Nel corso degli ultimi decenni, è stato molto ben documentato e studiato l'impatto dell'inquinamento atmosferico, sia outdoor che indoor, come

precedentemente descritti, sulla superficie oculare. Tuttavia, sono sempre più evidenti le prove di un possibile impatto negativo diretto anche sul segmento posteriore dell'occhio. ^(1,2) Partendo quindi dalla superficie oculare ecco un possibile elenco dei danni e delle patologie.



- Malattie della superficie oculare: Alcuni dei sintomi che possono manifestarsi sulla superficie oculare comprendono rossore, irritazione, bruciore, lacrimazione e secchezza. Ricerche condotte nelle grandi città hanno dimostrato che alte concentrazioni di NO e NO₂ e PM₁₀ e PM_{2.5} sono associati a un aumento di gravi congiuntiviti. La malattia congiuntivale causata dall'inquinamento atmosferico può presentarsi come cambiamenti nella superficie oculare che spesso causano un notevole disagio bruciore. L'esposizione costante all'inquinamento atmosferico può causare una trasformazione cellulare, inclusa l'ipertrofia delle cellule caliciformi nell'epitelio congiuntivale umano. Inoltre, l'inquinamento atmosferico può aggravare la sindrome dell'occhio secco. Il malfunzionamento del film lacrimale è ritenuto essere causato da due meccanismi correlati: iperosmolarità e instabilità del film lacrimale. L'iperosmolarità delle lacrime può causare cambiamenti sulla superficie oculare inducendo una serie di eventi infiammatori nell'epitelio oculare, che portano all'espressione di mediatori infiammatori nel film lacrimale. Il conseguente danno all'epitelio provoca la morte cellulare tramite apoptosi, perdita di cellule caliciformi e riduzione della produzione di mucina, portando all'instabilità del film lacrimale. Questa instabilità interrompe successivamente l'iperosmolarità della superficie oculare, intensificando un circolo vizioso.

Altri studi hanno dimostrato che fumo in particolare di tabacco in ambienti chiusi può aumentare il livello di PM_{2.5} fino a 10 volte rispetto ai valori registrati nelle abitazioni di non fumatori. L'esposizione prolungata alle PM_{2.5} induce stress ossidativo nelle cellule epiteliali corneali umane trasformate e modifica il contenuto di citochine delle lacrime; inoltre, causa l'infiammazione della superficie oculare e la sindrome dell'occhio secco. ⁽¹⁾

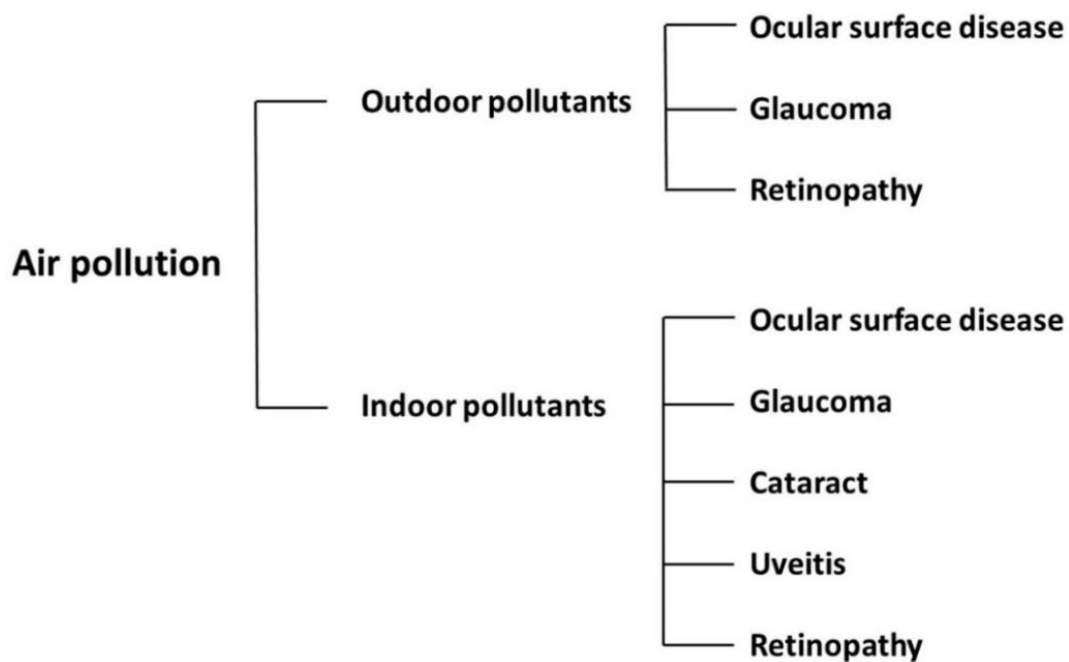
- Cataratta: La cataratta è una condizione dell'occhio che comporta l'opacizzazione del cristallino, la lente naturale dell'occhio, che può portare a una visione offuscata o sfocata. L'age-related nuclear cataract è una delle varietà più comuni e si riferisce a una cataratta che si sviluppa nella parte centrale del cristallino, nota come nucleo. La produzione e l'esposizione a fumo e particolato derivante dalla combustione, in particolare del tabacco, ma anche da combustibili e materiali organici, specialmente in ambienti chiusi, è stata dimostrata essere associata all'insorgere della cataratta, in particolare della cataratta nucleare legata all'età. ⁽¹⁾

- Uveite: È stato dimostrato che l'esposizione cronica alle specie reattive dell'ossigeno presenti specialmente nel fumo di sigaretta aumenta l'espressione di TLR4 (Toll-Like Receptor 4) nei macrofagi umani, promuovendo l'attivazione di NF-κB (Nuclear Factor kappa B) e la produzione di interleuchina (IL)-8. Concentrazioni aumentate di IL-8, riscontrate nell'umor acqueo (AqH) nell'uveite, agiscono insieme a IL-6 e TNF-α (Tumor Necrosis Factor alpha) per facilitare la migrazione e l'attivazione dei macrofagi che attaccano l'uvea. ⁽¹⁾

In particolare, i due studi che saranno trattati in maniera approfondita nel terzo capitolo evidenziano la correlazione tra esposizione all'inquinamento atmosferico e particolato e l'insorgere di due patologie retiniche: la degenerazione maculare legata all'età (secca, anche definita non essudativa o atrofica) e il glaucoma.

La degenerazione maculare legata all'età (AMD), nella sua forma secca, è causata da un deterioramento dei fotorecettori presenti nella macula che provoca una perdita progressiva della visione centrale e periferica. Tale condizione genera immagini sfocate e confuse, una riduzione nella percezione del contrasto tra colori e una scarsa distinzione dei piccoli dettagli. La progressione della malattia comporta uno scotoma centrale, ovvero una macchia scura al centro del campo visivo. Secondo i ricercatori, nelle fasi iniziali della malattia compaiono dei depositi sottoretinici nell'epitelio pigmentato, risultato di una non completa digestione dei dischi del segmento esterno da parte delle cellule dell'epitelio stesso. Da ciò consegue una grande perdita di cellule epiteliali che genera la morte dei fotorecettori e l'occlusione della coriocalpillare, la rete vascolare che fornisce nutrimento e ossigeno all'epitelio pigmentato. ⁽¹⁴⁾

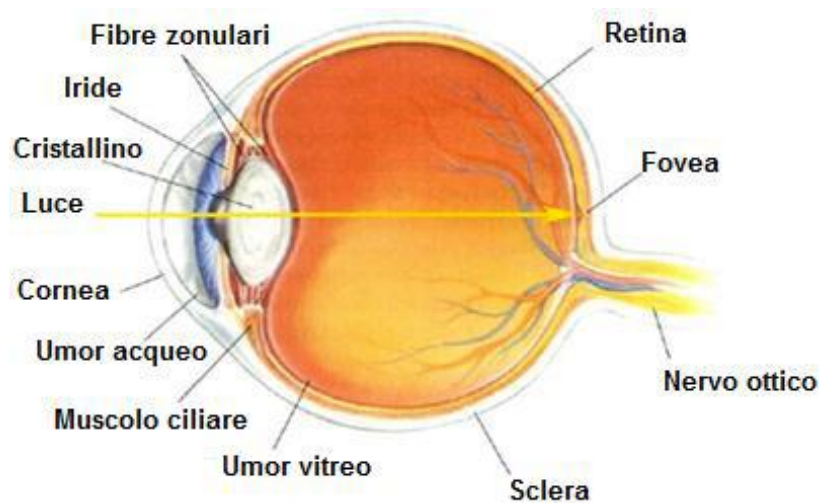
I glaucomi sono un gruppo di patologie retiniche diverse tra loro, accomunate dalla presenza di un danno cronico al nervo ottico. Tramite esame del fondo oculare, lo si può riscontrare osservando lo strato delle fibre nervose e la "testa" del nervo. Nello studio esaminato, si collega l'insorgenza del glaucoma a una degenerazione delle cellule neuronali retiniche. Il glaucoma può provocare lesioni e danni alla vista irreversibili e, in alcuni casi, ipovisione o cecità. Negli stadi avanzati si ha una visione definita "tubolare" causata da una ridotta visione periferica, a differenza di quella centrale. Ad oggi, i meccanismi attraverso i quali queste patologie si manifestano sono ancora in fase di studio; tuttavia, sono stati individuati alcuni fattori di rischio, come un'elevata pressione intraoculare, età, familiarità, spessore della cornea centrale e fattori vascolari. ^(2,6)



CAPITOLO II

ANATOMIA OCULARE

2.1 L'occhio



L'apparato visivo è costituito principalmente da tre componenti fondamentali: il bulbo oculare, il nervo ottico e gli accessori oculari. Gli accessori oculari comprendono le pareti della cavità orbitaria, i muscoli estrinseci, la fascia che avvolge il bulbo oculare, il tessuto adiposo che circonda l'orbita, le sopracciglia e le palpebre, la congiuntiva e l'apparato lacrimale. L'occhio stesso è una struttura sferica con un diametro anteroposteriore medio di circa 24 mm e un peso di circa 7-9 g. È un organo estremamente complesso che svolge un ruolo cruciale nella nostra percezione visiva. Il processo inizia quando la luce proveniente dall'ambiente attraversa la cornea, una superficie trasparente che permette il passaggio della luce all'interno dell'occhio. La pupilla, regolata dal diaframma dell'occhio, si adatta per controllare l'intensità della luce, restringendosi o allargandosi in base alla quantità di luce disponibile. Successivamente, la luce passa attraverso il cristallino, che si adatta continuamente per focalizzare gli oggetti a diverse distanze. Questo processo, chiamato accomodazione, assicura che le immagini siano nitide sulla retina, il tessuto sensibile alla luce situato nella parte posteriore dell'occhio. Una volta che la luce raggiunge la retina, viene

trasformata in segnali elettrici dai fotorecettori, coni e bastoncelli. Questi segnali vengono quindi trasmessi al cervello attraverso il nervo ottico, dove vengono elaborati e interpretati, consentendoci di percepire il mondo circostante in modo chiaro e dettagliato. Questo processo avviene istante per istante, permettendoci di vedere e comprendere il mondo intorno a noi in modo continuo. Il globo oculare, situato all'interno dell'orbita, è protetto e sostenuto dalla cavità ossea detta orbita, formata dalle ossa facciali del cranio. I muscoli oculari estrinseci, che formano la struttura esterna dell'occhio, si ancorano sulla superficie esterna del bulbo oculare e hanno il compito di controllare i movimenti oculari. Questi muscoli sono innervati dai nervi cranici III (oculomotore), IV (trocleare) e VI (abducente). Il bulbo oculare è composto da tre tonache concentriche, cioè strati sovrapposti che rivestono l'occhio dall'esterno verso l'interno. Questi strati 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 membrana più superficiale è la tonaca fibrosa, che in un piccolo segmento anteriore a contorno circolare è trasparente e prende il nome di cornea. Nella parte rimanente è opaca e viene denominata sclera posteriormente e permette il passaggio del nervo ottico attraverso la lamina cribrosa e si lega alla sua guaina. Questo strato è costituito, a livello istologico, da una membrana connettivale ricca di collagene e fibre elastiche. Sulla sua superficie sono presenti fori che consentono il passaggio di rami venosi, arteriosi e nervosi che forniscono nutrimento e innervazione alle diverse strutture del bulbo oculare. La funzione principale della sclera è quella di proteggere le strutture più interne del bulbo oculare, mantenere la sua forma sferica e regolare la pressione esercitata dai liquidi intraoculari. La cornea, che chiude anteriormente il bulbo oculare, è una membrana fibrosa in continuità con la sclera. La sua parte anteriore è in contatto con il film lacrimale e l'aria, mentre quella posteriore è in contatto con l'umor acqueo, delimitando anteriormente la camera anteriore dell'occhio. La cornea è trasparente e avascolare, caratterizzata da un profilo "prolato", il che significa che presenta un appiattimento dal centro alla periferia. La parte convessa anteriore conferisce alla cornea un potere refrattivo di circa 48 diottrie, mentre la parte posteriore, concava, ha un valore di -5 diottrie. Complessivamente, il valore diottrico corneale medio si aggira intorno alle 43

diottrie. Non essendo vascularizzata, la cornea ottiene il suo nutrimento dal film lacrimale, dall'umor acqueo e dai capillari del limbus.

La tonaca vascolare, nota anche come uvea, si trova tra la sclera e la retina ed è una membrana ricca di vasi sanguigni. Questa tonaca è suddivisa in tre parti: l'iride, il corpo ciliare e la coroide. La coroide è la parte posteriore e più estesa dell'uvea. Si trova tra la faccia interna della sclera e lo strato più superficiale della retina. Questo tessuto è pigmentato e altamente vascularizzato, ma relativamente povero di tessuto connettivo. La sua principale funzione è quella di fornire nutrimento alla maggior parte delle strutture oculari. La coroide è pigmentata di un colore bruno-ruggine, il che le permette di assorbire parte dell'energia luminosa che ha attraversato la retina, evitando riflessioni sulla superficie sclerale. Posteriormente, la coroide si ispessisce formando il corpo ciliare, che inizia all'iride e si estende fino all'ora serrata, il punto di transizione con la coroide retrostante. Il corpo ciliare ha diverse funzioni importanti: produce e riassorbe l'umor acqueo, il liquido che riempie la camera anteriore dell'occhio e contribuisce al mantenimento della pressione intraoculare; inoltre, controlla l'accomodazione, ovvero la capacità dell'occhio di mettere a fuoco l'immagine sulla retina, regolando la curvatura del cristallino. La camera anteriore dell'occhio, situata anteriormente al cristallino, è riempita dall'umor acqueo, un liquido trasparente e povero di proteine. Questo liquido è secreto dall'epitelio ciliare e svolge diverse funzioni cruciali: sostiene il cristallino, contribuisce al mantenimento della forma globosa dell'occhio e fornisce nutrimento alle strutture interne dell'occhio. L'umor acqueo è composto principalmente da acqua e acido ialuronico, con la partecipazione di altre sostanze nutritive. La parte più anteriore della tonaca vascolare è costituita dall'iride, l'unica componente dell'uvea visibile attraverso la cornea. L'iride è la parte colorata dell'occhio, che appare come un disco forato al centro. Questo foro centrale costituisce la pupilla, il cui diametro può variare in base alla quantità di luce presente nell'ambiente. La contrazione e l'espansione della pupilla sono controllate dalla muscolatura dell'iride, regolando così la quantità di luce che entra nell'occhio e permettendo di adattarsi a diverse condizioni luminose. ⁽¹³⁾

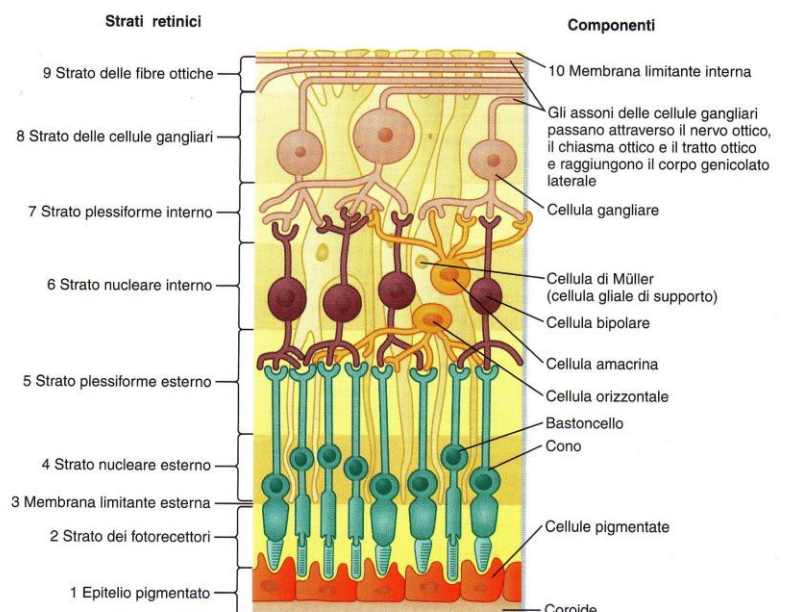
2.2 La retina

La retina rappresenta lo strato più interno del bulbo oculare ed è altamente sensibile alla luce. Nonostante la sua posizione periferica, appartiene al sistema nervoso centrale. È composta da diversi strati di neuroni, incluse le cellule bipolari, i fotorecettori, le cellule orizzontali, le cellule amacrine e le cellule gangliari, tutte tra loro interconnesse tramite sinapsi. Questi

neuroni sono responsabili della conversione delle immagini in impulsi elettrici neurali, che vengono poi trasmessi alla corteccia visiva per la percezione visiva. Osservando il fondo dell'occhio attraverso la pupilla, è possibile vedere che la retina è attraversata da arterie e vene che emergono dal disco ottico. Questo disco ottico è il punto in cui gli assoni delle cellule gangliari si uniscono per formare il nervo ottico, lasciando l'occhio. La presenza di arterie e vene nel fondo dell'occhio fornisce un'indicazione importante sulla salute della retina e può essere valutata durante un esame oftalmologico. La retina può essere suddivisa in due zone distinte: la parte ottica e la parte cieca. La parte ottica della retina è la zona abilitata alla visione, estendendosi dal punto di entrata del nervo ottico nel bulbo fino al margine pupillare dell'iride. È caratterizzata dalla presenza di numerosi strati di cellule, tra cui i fotorecettori, che sono responsabili della captazione della luce e della trasduzione dell'energia luminosa in segnali elettrici.

La parte cieca della retina è la zona non abilitata alla visione, poiché è priva di fotorecettori. La parte ottica della retina è composta da due foglietti: uno esterno che costituisce l'epitelio pigmentato e uno interno che forma la retina propriamente detta. Quest'ultima è composta da tre strati di cellule nervose, ordinati dall'interno dell'occhio verso lo strato dell'epitelio pigmentato. Questi strati includono quelli dove sono contenuti gli interneuroni come le cellule multipolari, cellule bipolari ed anche quello dove vi sono i fotorecettori. Ogni strato è ulteriormente suddiviso, contribuendo a una struttura complessa della parte ottica della retina, che comprende complessivamente 10 strati, i cui nomi e ordine dalla superficie esterna verso quella interna sono:

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. ⁽¹³⁾



2.3 Epitelio retinico pigmentato

L'epitelio pigmentato retinico umano è uno strato di cellule specializzate collocato nella parte posteriore dell'occhio, localizzato immediatamente al di sotto della coroide. Questo strato svolge diverse funzioni che sono cruciali per il corretto funzionamento della retina e per un'efficace codifica e trasmissione dell'informazione visiva. L'epitelio pigmentato ha un ruolo importante nella protezione e supporto delle cellule dei fotorecettori, fornendo loro sostegno e nutrimento.

Il gruppo di cellule che va a costituire questo strato è caratterizzato da una struttura per lo più a base esagonale, ma talvolta anche a quattro o otto lati, e sono unite le une alle altre da giunzioni strette, formando una vera e propria barriera che costituisce la barriera emato-retinica. Tra i ruoli svolti vi è quello di trasportare i nutrienti primari ai fotorecettori tramite i capillari che giungono dalla sottostante coroide, fornendo il giusto fabbisogno di ossigeno alla retina per la fototrasmissione e la neurotrasmissione.

La circolazione retinica, che ha origine dall'arteria oftalmica, si divide in tre tipi: superficiale, intermedio e profondo. La circolazione coroideale, invece, fornisce sangue agli strati esterni della retina, compresi dall'epitelio pigmentato allo strato plessiforme esterno, anche se in modo indiretto.

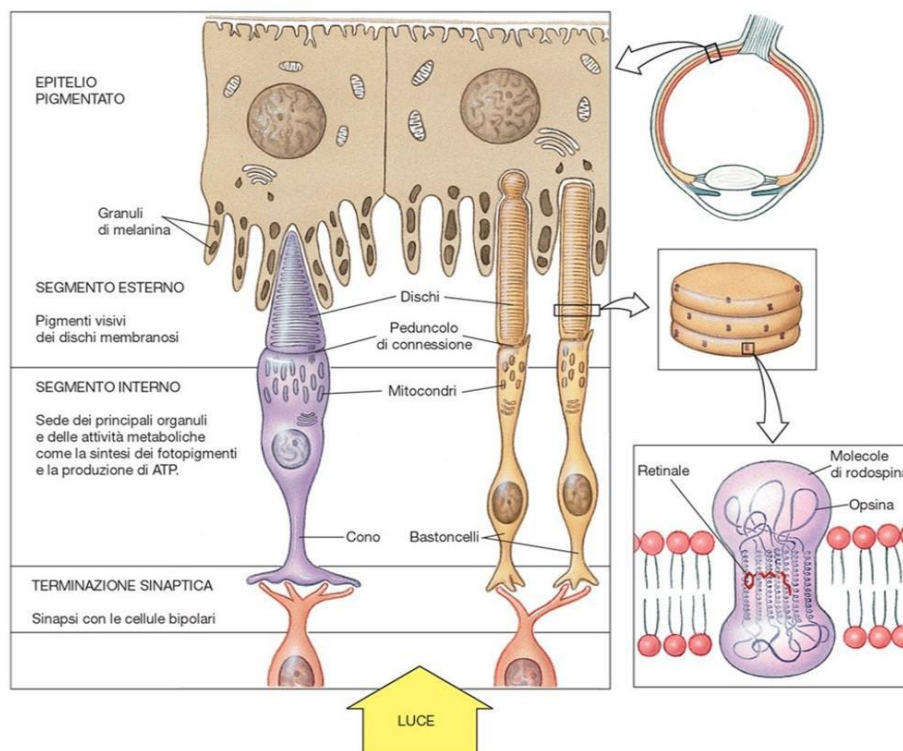
Le cellule dell'epitelio pigmentato sono inoltre contraddistinte dalla presenza di propaggini ciliate rivolte verso l'interno che si estendono nello strato dei fotorecettori. Questi prolungamenti, dotati di pigmento, circondano e ospitano le porzioni esterne dei fotorecettori, svolgendo un importante ruolo nella preservazione dell'apparato di fototrasduzione. Il pigmento contenuto in modo significativo nelle cellule dell'epitelio è la melanina la quale conferisce un colore nero e rende opaca la cavità posteriore. Grazie a ciò, l'epitelio è coinvolto nell'assorbimento della luce diffusa, impedendo che questa raggiunga i fotorecettori. Il pigmento rende così la cavità posteriore una vera e propria camera oscura, impedendo la diffusione di raggi luminosi che andrebbero a disturbare la percezione visiva.

Grazie alla sua vicinanza con i fotorecettori invaginati all'interno di esso, l'epitelio svolge anche un'altra funzione importante, permettendo ai fotorecettori di essere nuovamente sensibili allo stimolo luminoso. La parte dei fotorecettori che assorbe la luce, i dischi membranosi che si trovano nel segmento esterno, contiene il pigmento fotosensibile, ma ha una vita limitata di circa dodici giorni. Alla base del segmento esterno vi è la necessità di formare continuamente nuovi dischi. Quelli vecchi vengono spostati all'epitelio pigmentato

che agisce come una di "stazione di riciclaggio", dove i dischi vengono eliminati per fagocitosi, riutilizzando però le parti più utili.

A seguito della fototrasduzione, il trans retinale 11 si dissocia dall'opsina e si diffonde nel citosol del segmento esterno, dove è convertito a retinolo 11 trans e trasportato nell'epitelio pigmentato tramite una proteina chaperon, l'IRBP (interphotoreceptor binding protein). È qui che viene riconvertito tramite degli enzimi in retinale 11 cis e ricondotto dalla proteina chaperon nel segmento esterno del fotorecettore, dove va a ricombinarsi con l'opsina. Tutto questo denota la grande importanza dell'epitelio pigmentato retinico, soprattutto nella salvaguardia dei fotorecettori, i quali andrebbero incontro a seri danneggiamenti se le cellule di questo strato non fossero perfettamente funzionanti, causando notevoli disagi alla visione.

(13)



2.4 Fotorecettori

I fotorecettori, cellule essenziali e altamente specializzate, sono gli elementi recettoriali del sistema visivo e sono deputati alla trasduzione dell'energia luminosa in potenziali elettrici. Queste cellule sono collocate nella parte più interna della retina e richiedono che la luce attraversi varie strutture trasparenti prima di raggiungerle, tranne la fovea, circondata dalla macula lutea, che riceve direttamente i raggi luminosi ed è rinomata per la sua alta acuità visiva.

Esistono due principali tipi di fotorecettori: coni e bastoncelli, ognuno con caratteristiche strutturali e funzionali distinte. I bastoncelli, disposti su una fila semplice, a palizzata e paralleli tra loro, sono adatti per la visione in condizioni di scarsa luminosità o notturna, mentre i coni, inseriti a ogni intervallo di gruppi di bastoncelli, sono specializzati per la visione diurna e contribuiscono alla percezione del colore.

I bastoncelli sono più numerosi e assenti nella fovea. Entrambi i tipi di fotorecettori sono avascolari, ricevendo il loro apporto di sangue dalla coroide, e condividono una struttura di base simile, composta da segmento esterno, che conferisce loro la forma caratteristica da cui deriva il nome, il segmento interno e la terminazione sinaptica. Nel segmento esterno, la membrana cellulare si ripiega a formare dei dischi impilati, in cui è presente il pigmento visivo. I bastoncelli hanno un segmento esterno più lungo e contengono una maggiore quantità di pigmento, che nel loro caso specifico è la rodopsina e presenta un massimo di assorbimento a 500 nm. Nel segmento esterno dei coni è invece presente la iodopsina, che ha tre fotopigmenti sensibili a diverse lunghezze d'onda: per il blu (420 nm), il verde (531 nm) e il rosso (558 nm).

Si stima che il numero di recettori nella retina sia di 5-6 milioni per i coni e 120-140 milioni per i bastoncelli. In particolare, la densità dei coni presenta un picco in corrispondenza del centro della fovea (foveola) mentre è bassa in tutto il resto della retina; viceversa, vale per i bastoncelli, che sono inoltre completamente assenti nella foveola. ⁽¹³⁾

2.5 Processo di fototrasduzione

La luce interagisce con i pigmenti visivi presenti nella parte esterna dei coni e dei bastoncelli nell'occhio. Questi segmenti esterni sono altamente sensibili alla luce grazie alla loro elevata concentrazione di pigmenti visivi, che sono in grado di assorbire la luce. Ogni pigmento è una molecola di dimensioni ridotte che si lega covalentemente a una proteina di membrana di dimensioni più grandi. Nei fotorecettori, ci sono molte di queste proteine di membrana grazie a un sistema complesso di dischi sovrapposti che aumentano notevolmente l'area totale della membrana cellulare. Questi dischi formano una serie continua di pieghe nella membrana esterna dei fotorecettori.

La rodopsina, il pigmento contenuto nei bastoncelli, è composta dalla proteina opsina e dall'11-cis retinale, una forma di vitamina A. È il retinale che ha la capacità di assorbire la luce. All'interno dei bastoncelli si trovano tre tipi di canali: quelli che consentono l'ingresso di ioni Na^+ e Ca^{2+} (regolati dai nucleotidi ciclici o cGMP), quelli che permettono all'ione K^+ di

uscire dalla cellula e i canali voltaggio-dipendenti per il calcio, che regolano il rilascio del neurotrasmettitore e si trovano vicino alla regione di sinapsi.

Al buio, i livelli di guanosina monofosfato ciclico (cGMP) sono elevati nel citoplasma del segmento esterno del bastoncello, e i canali CNG e quelli per il K^+ sono aperti. L'ingresso di ioni sodio nella cellula causa la depolarizzazione della membrana plasmatica, portando il potenziale di membrana a un valore di -40mV. La depolarizzazione causata dall'apertura dei canali di sodio è responsabile dell'attivazione dei canali di calcio voltaggio-dipendenti, consentendo l'ingresso di ioni calcio nella cellula. Questo calcio intracellulare attiva l'esocitosi delle vescicole contenenti il neurotrasmettitore, il glutammato. Il glutammato, a sua volta, agisce sulle cellule bipolari adiacenti, legandosi ai propri recettori e avviando una risposta in queste cellule. Di conseguenza, al buio, si verifica un rilascio costante del neurotrasmettitore sulle cellule bipolari.

Quando c'è luce, l'11-cis retinale presente nella rodopsina assorbe l'energia del fotone, subendo una isomerizzazione da 11-cis retinale a retinale tutto-trans e staccandosi dall'opsina. Questo cambiamento strutturale nel retinale provoca una modifica strutturale nell'opsina, che diventa metarodopsina II. La metarodopsina II attiva quindi una proteina chiamata trasducina, che è una proteina G. La trasducina, a sua volta, attiva un enzima chiamato fosfodiesterasi, che riduce la concentrazione del secondo messaggero, il guanosina monofosfato ciclico (cGMP). La diminuzione del cGMP porta alla chiusura dei canali CNG, riducendo l'ingresso di sodio. Di conseguenza, il potenziale di membrana diventa più negativo, causando un'iperpolarizzazione della membrana del bastoncello. Questo porta alla chiusura dei canali di calcio voltaggio-dipendenti, riducendo l'ingresso di calcio e quindi il rilascio di glutammato sulle cellule bipolari. La chiusura dei canali è proporzionale all'intensità della luce incidente.

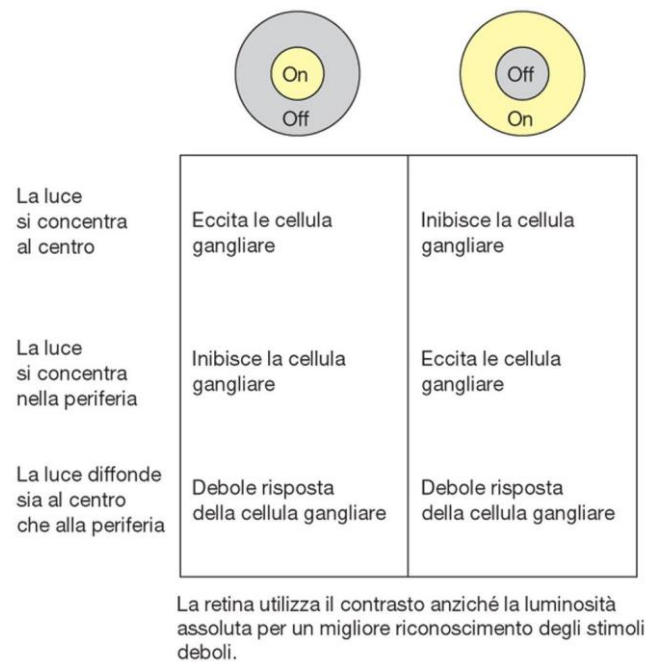
Dopo l'attivazione della rodopsina (metarodopsina II) dalla luce, questo processo viene interrotto dalla fosforilazione della rodopsina attivata, grazie all'azione di un enzima chiamato rodopsina chinasi. La rodopsina fosforilata viene quindi legata da una proteina chiamata arrestina, che impedisce il suo legame con la trasducina, bloccando così ulteriormente la cascata di segnali. In questo momento, il guanosina monofosfato ciclico (GMPC) prodotto dalla guanilato ciclasi si accumula nella cellula. Il GMPC lega i canali ionici permeabili al sodio e al calcio, favorendo la loro riapertura e portando alla fine del potenziale del recettore. Successivamente, il retinale viene trasportato all'epitelio pigmentato per essere riconvertito nella sua forma 11-cis. Una volta convertito, il retinale ritorna al bastoncello, dove viene nuovamente legato all'opsina, avviando così un nuovo ciclo di trasduzione del segnale visivo.

(13)

2.6 Cellule gangliari ed interneuroni

La retina svolge un ruolo cruciale nella modifica ed elaborazione dei segnali luminosi captati dai fotorecettori prima di trasmetterli al sistema nervoso centrale. L'output di questi processi retinici è rappresentato dall'attività dei neuroni in uscita dalla retina, le cellule gangliari. A differenza dei fotorecettori, che rispondono alla luce con modificazioni graduali del potenziale di membrana, le cellule gangliari trasmettono le loro informazioni sotto forma di "treni" di scariche di potenziali d'azione. Gli assoni di queste ultime si uniscono e vanno a formare il nervo ottico, raggiungendo il corpo genicolato laterale, il collicolo superiore ed altri nuclei del tronco dell'encefalo. Le cellule gangliari sono l'ultimo ed anche più complesso livello dell'elaborazione retinica. I segnali dei fotorecettori vengono trasmessi alle cellule gangliari tramite tre classi di altre cellule retiniche definite interneuroni: le cellule bipolari, le cellule orizzontali e le cellule amacrine contenute nello strato dei granuli interni. Paradossalmente, queste cellule sono disposte in una posizione più prossima al cristallino e anteriormente rispetto ai fotorecettori. Di conseguenza, la luce attraversa gli strati retinici dei neuroni, che sono amielinici e quindi abbastanza trasparenti, prima di giungere ai fotorecettori. È inoltre da notare che nella zona della fovea i corpi cellulari dei neuroni sono disposti lateralmente in modo da permettere ai fotorecettori di essere direttamente colpiti dalla luce, garantendo così un'immagine più nitida possibile. Gli interneuroni vanno inoltre a sommare i segnali provenienti da diversi fotorecettori. Le cellule gangliari, che non sono mai inattive, hanno un'attività spontanea che viene modulata dalle afferenze provenienti dai diversi interneuroni. Queste afferenze si originano da un gruppo di fotorecettori vicini tra loro in una determinata piccola area della retina, che costituisce il campo recettivo della cellula gangliare. Questi campi hanno due caratteristiche: sono approssimativamente circolari e ognuno di essi è suddiviso in due aree circolari distinte, una interna detta centro e una esterna detta periferia. Le cellule gangliari rispondono a una differenza di illuminazione tra queste due aree. Sulla base di questo, vengono distinte le cellule gangliari centro-ON, che vengono eccitate in risposta a un fascio di luce diretto al centro del campo recettivo; viceversa, avviene per le cellule centro-OFF. Ciò rende queste cellule molto sensibili ai contrasti di luminosità e poco sensibili all'illuminazione diffusa che provoca la sovrapposizione delle risposte on e off. Ne consegue che la retina utilizza il contrasto, e non l'intensità assoluta, per distinguere gli oggetti nell'ambiente. Le cellule centro-on ed off sono presenti in numero quasi uguale; ogni fotorecettore invia il proprio segnale ad entrambe, creando così due vie parallele per

l'elaborazione del segnale visivo. I campi recettivi variano di dimensione da una zona all'altra della retina: nella fovea, dove l'acuità visiva è massima, i campi recettivi sono molto più piccoli, il che significa che ogni cellula gangliare riceve informazioni da un piccolo gruppo di fotorecettori, mentre nella periferia avviene il contrario. La frequenza di scarica delle cellule gangliari varia a seconda delle diverse illuminazioni del centro e della periferia, e il segnale trasmesso ai centri superiori è proporzionale alle variazioni di luminosità sul campo recettivo.



La separazione dell'informazione in due vie parallele migliora le prestazioni del sistema visivo, poiché ogni cellula gangliare segnala sia rapidi aumenti che diminuzioni del livello di illuminazione. Ad esempio, le cellule centro-ON scaricano a bassa frequenza in condizioni di poca luce, e un aumento repentino della loro frequenza di scarica indicherebbe un incremento della luminosità; viceversa avviene per le centro-OFF. Esistono anche cellule gangliari specializzate nell'elaborazione di altre caratteristiche delle immagini visive, come il colore, la forma e il movimento. Ogni zona della retina possiede diversi sottogruppi di cellule gangliari, su cui convergono i segnali originati dagli stessi fotorecettori: le cellule M (magnocellulari) e le cellule P (parvocellulari), entrambe contenenti sia cellule gangliari centro-ON che OFF. Le cellule M svolgono un'analisi delle caratteristiche dello stimolo, mostrando una forte risposta agli input rappresentati da grandi oggetti in movimento. Queste cellule hanno campi recettivi molto ampi, corpi cellulari voluminosi ed estesi alberi dendritici. D'altra parte, le cellule P sono significativamente più piccole e si specializzano nell'analisi del colore, delle forme e dei dettagli più fini. Hanno quindi campi recettivi ridotti e sono sensibili a specifiche lunghezze

d'onda. Si può pensare che l'informazione visiva, mentre attraversa la retina, segua due percorsi distinti: uno diretto, dove l'informazione viaggia direttamente dai fotorecettori alle cellule bipolari e poi alle cellule gangliari; ed uno indiretto, dove intervengono le cellule orizzontali tra i fotorecettori e le cellule bipolari, mentre le cellule amacrine si trovano tra le cellule bipolari e le cellule gangliari. L'informazione generata dai fotorecettori, soprattutto i coni localizzati al centro del campo recettivo, stabiliscono contatti sinaptici diretti con le cellule bipolari adiacenti, che a loro volta trasmettono il segnale direttamente alle cellule gangliari. Tuttavia, i coni presenti nella periferia del campo recettivo trasmettono prima alle cellule orizzontali. Queste ultime, dotate di estesi alberi dendritici, trasmettono informazioni da fotorecettori distanti alle cellule bipolari. Successivamente, queste cellule bipolari passano l'informazione alle cellule gangliari retiniche tramite le cellule amacrine, che agiscono da ponte interconnettendo le due tipologie cellulari. Le cellule bipolari sono di estrema importanza affinché il segnale originatosi nei fotorecettori possa proseguire il suo “viaggio”. Solitamente questo tipo di cellule riunisce uno stesso ordine di fotorecettori, ad esempio: bastoncelli o coni specializzati per la luce blu. Una cellula bipolare può ricevere informazioni da molti (15,45) fotorecettori. Molte cellule bipolari convergono su un singolo neurone gangliare. Così come le cellule gangliari, anche le cellule bipolari hanno dei campi recettivi il cui meccanismo è basato sull'antagonismo centro-periferia. Quando si attivano i coni localizzati nel centro del campo recettivo, le cellule bipolari di tipo centro-on si depolarizzano, viceversa avviene per quelle centro-off che si iperpolarizzano. Le proprietà dei campi recettivi delle cellule bipolari rispecchiano molto quelle delle cellule gangliari. Il glutammato, il neurotrasmettitore che viene liberato dai coni, inibisce iperpolarizzando le cellule bipolari centro-on ed eccita depolarizzando le cellule bipolari centro-off. In condizioni scotopiche abbiamo che i coni sono depolarizzati (potenziale di membrana intorno ai 40 mV) ciò fa sì che i canali Ca^{2+} a voltaggio dipendente posti nelle terminazioni sinaptiche siano aperti e che quindi ioni calcio possano entrare andando a innescare la liberazione di glutammato. Il rilascio costante del neurotrasmettitore fa perdurare la cellula centro-on in uno stato di iperpolarizzazione. Quando il cono invece viene colpito dalla luce questo si iperpolarizza provocando la conseguente chiusura dei canali Ca^{2+} . Questo riduce l'ingresso di calcio nella cellula ed anche la quantità di glutammato liberato, per questo la cellula bipolare si depolarizza. I coni localizzati nella periferia del campo recettivo di una cellula bipolare stabiliscono sinapsi con un'altra classe di interneuroni, le cellule orizzontali. I nuclei delle cellule orizzontali sono molto vicini a quelli delle cellule bipolari. La loro attività è esclusivamente di controllo, svolgendo funzioni di modulazione e mediando interazioni di

inibizione laterale tra i fotorecettori e le cellule bipolari. La loro mediazione è anche alla base della risposta preferenziale per una direzione di movimento dello stimolo, propria di alcune cellule gangliari. Esse non stabiliscono connessioni sinaptiche dirette con le cellule bipolari, ma entrano in contatto con i coni che controllano il centro del campo recettivo della stessa cellula bipolare centro-on. Quando la zona periferica viene illuminata, la cellula orizzontale depolarizza il cono posto al centro del campo recettivo, con conseguente iperpolarizzazione della cellula bipolare. ⁽¹³⁾

CAPITOLO III

DANNI RETINICI

3.1 Introduzione al capitolo

L'esposizione al particolato atmosferico è diventata una preoccupazione sempre più rilevante nel campo della salute pubblica, con evidenze crescenti che suggeriscono un'associazione tra inquinamento atmosferico e la salute oculare. Come già discusso nei capitoli precedenti, l'occhio, per la sua posizione anatomica, è particolarmente vulnerabile, dato che è direttamente esposto all'ambiente esterno e, di conseguenza, a tutti i possibili agenti inquinanti. Negli ultimi decenni, numerosi studi sono stati condotti per valutare l'impatto negativo dell'inquinamento atmosferico sulla salute dell'occhio, concentrandosi principalmente sulla superficie oculare e sul segmento anteriore. ⁽¹⁾ Tuttavia, sono stati condotti pochi studi riguardanti le possibili conseguenze dell'inquinamento atmosferico su una parte essenziale per l'elaborazione dell'informazione visiva: la retina. Nonostante sia ancora abbastanza scarsa, la letteratura su questo fenomeno sta emergendo in maniera sempre più consistente. In questo capitolo, esamineremo due studi significativi che hanno una rilevanza diretta per la presente ricerca focalizzata principalmente sull'evidenziare possibili conseguenze dovute all'esposizione a breve e lungo termine all'inquinamento ed al particolato atmosferico sull'occhio umano e sulle cellule retiniche. Il primo studio si è concentrato sull'analisi degli effetti dell'esposizione al particolato atmosferico sulle cellule dell'epitelio pigmentato retinico umano, mentre il secondo studio ha esaminato gli effetti dell'esposizione al particolato atmosferico sulla funzione visiva e sulla degenerazione delle cellule neuronali retiniche, entrambi mirando a esaminare ulteriori conseguenze per la salute. Questa analisi fornirà un contesto cruciale per comprendere l'impatto dell'inquinamento atmosferico sulla fisiologia oculare, sulla patogenesi di alcune malattie e per identificare possibili meccanismi attraverso cui il PM può influenzare la salute della retina.

3.2 Danni all'epitelio retinico pigmentato

Lo studio pubblicato nel 2023 sull'International Journal of Environmental Research and Public Health si proponeva di indagare i possibili legami tra l'esposizione all'inquinamento atmosferico e a determinati agenti inquinanti, come le polveri sottili, e l'insorgenza di severe patologie oculari e retiniche. Tra le ipotesi iniziali dello studio condotto da Sunyoung et al. vi era quella che l'esposizione a lungo termine alle PM potesse innescare e aumentare l'infiammazione, generando un conseguente stress nel reticolo endoplasmatico delle cellule retiniche. In particolare, lo studio si è focalizzato sull'osservazione di una eventuale risposta infiammatoria nelle cellule del reticolo endoplasmatico nelle cellule dell'epitelio pigmentato retinico umano, ARPE-19.⁽¹⁵⁾ Tali cellule sono un modello di cellule dell'epitelio pigmentato retinico umano, utilizzato comunemente in studi di ricerca biomedica e particolarmente nel campo della biologia e delle patologie oculari. Queste cellule proliferano naturalmente in laboratorio senza induzioni. Le cellule originarie sono state prelevate dalla retina di un ragazzo di diciannove anni morto in un incidente stradale.⁽²²⁾

Le ipotesi dello studio nascono anche da studi precedenti che avevano già confermato come l'esposizione al particolato potesse indurre la produzione di ROS disfunzione mitocondriale nell'epitelio pigmentato.⁽¹⁵⁾

Per valutare i possibili effetti infiammatori, di stress e i danni generati dall'esposizione al particolato nelle cellule retiniche, sono stati dapprima preparati dei campioni di particolato che sono stati successivamente utilizzati per trattare le cellule. Il campione di particolato utilizzato nello studio consisteva in particelle di PM₁₀ (così come classificate secondo i parametri europei). Le particelle, dopo essere state separate e sedimentate, sono state mescolate nuovamente in una soluzione di tampone fisiologico fino al raggiungimento di una concentrazione di 100 mg/ml. Successivamente, la sospensione realizzata è stata suddivisa in piccole porzioni (aliquote) che sono state conservate a una temperatura di venti gradi Celsius fino al momento in cui sono state utilizzate.

Prima di ogni esperimento, le sospensioni di particolato sono state sottoposte a sonicazione per venti minuti e agitate con un vortex per un minuto per minimizzare eventuali aggregazioni. Le cellule ARPE-19 sono state coltivate in una piastra per coltura cellulare da sei pozzetti, a una densità di 5.0×10^5 cellule per pozzetto, ed incubate per quarantotto ore. Gli esperimenti sono stati condotti trattando le cellule con diverse somministrazioni a varie concentrazioni di PM₁₀, tra 0 e 2000 µg/ml, per due ore per valutare la risposta infiammatoria e per quattro o otto ore per esaminare le risposte legate allo stress del reticolo endoplasmatico.

I ricercatori hanno utilizzato un approccio combinato di saggi e protocolli biochimici e tecniche di biologia molecolare. La vitalità cellulare, vale a dire la capacità delle cellule di rimanere vive o sopravvivere in determinate condizioni, è stata valutata utilizzando il protocollo o saggio MTT, che permette di valutare l'attività metabolica cellulare. Inoltre, l'espressione delle proteine correlate allo stress del reticolo endoplasmatico è stata analizzata mediante la tecnica del Western blot. L'analisi dell'espressione degli mRNA infiammatori e correlati allo stress del reticolo endoplasmatico è stata eseguita utilizzando la qRT-PCR, con il gene di riferimento 36B4 utilizzato per la normalizzazione. I livelli di calcio intracellulare (Ca^{2+}) sono stati quantificati mediante misurazioni di fluorescenza.

3.2.1 Stress del reticolo endoplasmatico

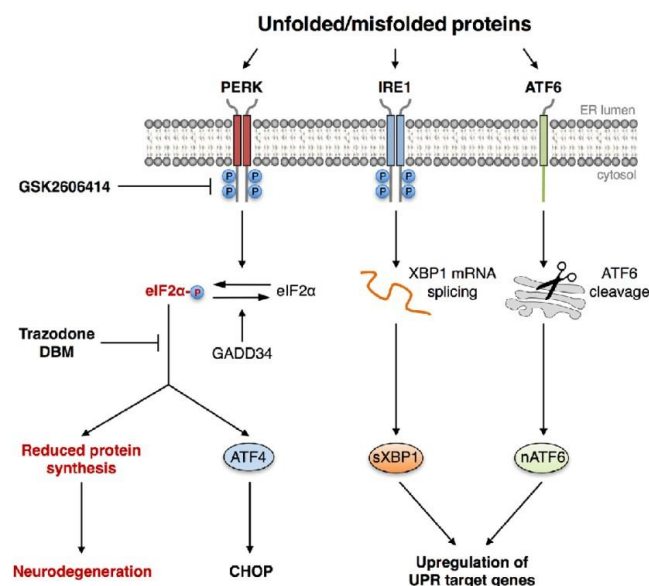
Il reticolo endoplasmatico è un fondamentale organo cellulare ed è coinvolto in svariate funzioni biologiche essenziali ⁽²³⁾. Tra queste, la più importante è la proteostasi, vale a dire il mantenimento dell'omeostasi delle proteine all'interno della cellula tramite un insieme di processi che comprendono: la sintesi delle nuove proteine, il loro corretto ripiegamento e funzionalità, la modifica e il controllo, il trasporto verso la loro destinazione finale, e la degradazione o autofagia delle proteine danneggiate o non funzionali ⁽²³⁾. Inoltre, il reticolo endoplasmatico è un grande sito di deposito di calcio intracellulare, il quale è essenziale per il corretto mantenimento della struttura ripiegata delle proteine e nei meccanismi e modificazioni post-traduzione. Un malfunzionamento del reticolo endoplasmatico è correlato a un aumento dei livelli di calcio intracellulare e a una conseguente induzione dell'ipossia ⁽¹⁵⁾. Quando il reticolo endoplasmatico non funziona correttamente, può accumularsi un eccesso di proteine mal ripiegate o non funzionali nel lume. Questo provoca uno stress ^(15, 23). Le proteine mal ripiegate vengono rimosse dal sistema di ripiegamento, trasferite dal reticolo endoplasmatico al citosol e degradate nel proteasoma ubiquitina-dipendente attraverso una serie di vie collettivamente note come degradazione associata al reticolo endoplasmatico (ERAD) ⁽²³⁾. Tuttavia, l'accumulo persistente di proteine mal ripiegate porta allo stress del reticolo endoplasmatico, che può indurre una risposta adattiva chiamata risposta alle proteine mal ripiegate (UPR, Unfolded Protein Response) ⁽²³⁾. La UPR è un meccanismo mediante il quale le cellule controllano l'omeostasi proteica del reticolo endoplasmatico. ⁽²³⁾ In condizioni normali, la risposta UPR non è attiva; tuttavia, sotto particolari condizioni di stress, come l'ipossia, può essere attivata a causa dell'accumulo di proteine mal ripiegate ⁽²³⁾. L'attivazione della risposta UPR coinvolge tre vie di segnalazione: PERK (protein kinase R (PKR)-like

endoplasmic reticulum kinase), ATF6 (activating transcription factor 6) e IRE1 (Inositol-requiring kinase 1). Queste vie svolgono un ruolo essenziale nel ripristinare l'omeostasi proteica ai livelli osservati nelle cellule non sottoposte a stress ⁽²³⁾.

- PERK: una volta attivata, questa chinasi fosforila il fattore di inizio della traduzione proteica nel citoplasma (eIF2 α). Questo inibisce la sintesi di nuove proteine, riducendo così il sovraccarico di proteine mal piegate nel reticolo endoplasmatico. Le PERK agiscono anche da feedback negativo defosforilando eIF2 α e contribuendo, una volta ristabilita l'omeostasi, al ripristino della regolare sintesi proteica. Tra i meccanismi indotti dalle PERK vi è l'apoptosi cellulare tramite l'espressione delle proteine CHOP ⁽²⁴⁾.

- ATF6: viene trasportato e processato nel Golgi, poi traslocato nel nucleo dove induce l'espressione di proteine cruciali per garantire che le proteine appena sintetizzate siano piegate e funzionino correttamente. ⁽²⁴⁾

- IRE1: inizia lo splicing non convenzionale dell'mRNA codificando un fattore di trascrizione (XBP1) al fine di aumentare la trascrizione di geni coinvolti nel corretto ripiegamento delle proteine, nella secrezione e nella degradazione associate al reticolo endoplasmatico. ⁽²⁴⁾



3.2.2 Risposta infiammatoria

L'infiammazione è un processo biologico complesso che può coinvolgere diverse vie di segnalazione. Tra queste, quelle analizzate nello studio comprendono la via MAPK e NF- κ B. I percorsi di segnalazione da MAPK (mitogen-activated protein kinase) e NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) sono comuni nelle vie di segnalazione

infiammatoria. La loro attivazione è causata da citochine proinfiammatorie come IL-6, IL-8 (interleuchina 6 ed 8) ed TNF-alfa (fattore di necrosi tumorale-alfa), che portano poi alla risposta infiammatoria. ⁽²⁵⁾

Infiammazione e morte cellulare sono meccanismi distinti ma altamente interconnessi e regolati reciprocamente, importanti al fine di mantenere l'omeostasi negli organismi. Molte evidenze suggeriscono che le MAPKs possono partecipare nell'attivazione e nella regolazione dell'attività trascrizionale dell'NF-κB. ⁽²⁶⁾

Le MAPKs sono una famiglia di proteine chinasi presenti negli eucarioti e specifiche per alcuni amminoacidi (serina e treonina). Le MAPKs sono coinvolte nella mediazione delle risposte cellulari derivanti da vari stimoli come mitogeni, stress osmotico, shock termico e citochine infiammatorie. Questi complessi proteici regolano svariate funzioni cellulari come la proliferazione, l'espressione di determinati geni, la differenziazione, la mitosi, la sopravvivenza cellulare ed infine l'apoptosi. Vi sono tre diversi sottogruppi di MAPKs che condividono tra loro diverse caratteristiche come l'attivazione dopo una doppia fosforilazione, struttura e siti di riconoscimento del substrato simili. Nei mammiferi sono conosciute: le ERKs (Extracellular signal-regulated kinases), JNKs (c-Jun N-terminal kinases) e le p38MAPKs (p38 mitogen-activated protein kinases). In genere, le ERKs sono attivate da fattori di crescita e mitogeni, mentre lo stress cellulare e citochine infiammatorie attivano le JNKs e le p38MAPKs. Una volta attivati, questi complessi portano ad una cascata di fosforilazioni che culminano nella regolazione dell'espressione di specifici geni. ^(27, 28)

Le NF-κBs sono una famiglia di complessi proteici di fattori di trascrizione che vanno a controllare la trascrizione del DNA, la produzione di citochine e la sopravvivenza cellulare. Le NF-κBs sono presenti in quasi tutte le cellule animali e sono coinvolte nelle risposte cellulari legate a stimoli generati da stress, citochine, radicali liberi, metalli pesanti, radiazione ultravioletta ed antigeni batterici e virali. Le NF-κBs hanno un ruolo fondamentale nella regolazione della risposta immunitaria all'infezione. Questi complessi vanno a indurre la trascrizione di citochine, fondamentali per la comunicazione intercellulare durante la risposta infiammatoria, aiutano la cellula a reagire in condizioni di stress e sfavorevoli ed in molti casi promuovono la sopravvivenza cellulare impedendo l'apoptosi. ⁽³⁰⁾

Il fattore NF-κB è attivato dal TNF e dalle interleuchine IL-1 ed in condizioni normali si trova all'interno del citoplasma della cellula legato ad una proteina inibitoria (IκB). Attraverso un segnale opportuno che giunge ai recettori di membrana cellulare, la proteina inibitoria viene fosforilata e l'NF-κB viene reso disponibile. Una volta attivato il complesso viene traslocato nel nucleo dove si lega a specifiche sequenze del DNA chiamate elementi di

risposta. Il complesso DNA/NF- κ B poi recluta altre proteine come i coattivatori e l'RNA polimerasi che trascrive il DNA in mRNA. Questo viene poi esportato nel citosol e tradotto in proteine. Il processo porta a cambiamenti nelle funzioni della cellula, come ad esempio la produzione di citochine pro-infiammatorie. Inoltre, NF- κ B attiva la trascrizione dell'mRNA che codifica la sua subunità inibitrice I κ B, fornendo così un feedback negativo. ⁽²⁹⁾

3.2.3 Osservazioni

I ricercatori hanno scoperto che l'esposizione a PM innescava una serie di eventi che culminavano poi nell'attivazione dell'asse MAPK/NF- κ B. In particolare, hanno osservato che l'esposizione al particolato portava alla fosforilazione della famiglia di citochine MAPKs, inclusi i sottogruppi delle ERKs, JNKs e p38s. Questa fosforilazione attiva le MAPKs che, a loro volta, vanno a fosforilare l'I κ B α , la proteina che inibisce il complesso NF- κ B. La sua fosforilazione provoca l'attivazione del complesso, consentendone la traslocazione nel nucleo ed iniziando la trascrizione dei geni coinvolti nell'infiammazione.

Lo studio ha osservato anche che l'esposizione al particolato a concentrazioni superiori a 100 μ g/mL aumentava significativamente la fosforilazione di I κ B α e NF- κ B, segnando l'attivazione dell'asse NF- κ B. Per valutare le risposte infiammatorie conseguenti all'attivazione dell'asse MAPK/NF- κ B, i ricercatori hanno osservato l'espressione di mRNA che codificano per citochine infiammatorie come TNF- α e IL-6. Hanno scoperto che il trattamento con PM portava ad un aumento notevole dell'espressione di questi mRNA, suggerendo una sovrapproduzione di citochine infiammatorie.

Utilizzando un inibitore di ERKs in alcuni campioni prima dell'esposizione al particolato, hanno notato che la fosforilazione delle MAPKs diminuiva e così avveniva anche per gli mRNA legati alle citochine infiammatorie, confermando l'asse come via cruciale nell'infiammazione oculare indotta dalle polveri sottili.

Lo studio ha inoltre indagato sugli effetti dell'esposizione al particolato sullo stress del reticolo endoplasmatico nelle cellule dell'epitelio retinico pigmentato. Lo stress, come già scritto in precedenza, è una condizione che si verifica quando il reticolo endoplasmatico non riesce a piegare correttamente le proteine, portando all'attivazione della risposta UPR. Solitamente, lo stress del reticolo endoplasmatico avviene come risposta attivata da vari stimoli patologici come deplezione di calcio, ipossia, stress ossidativo o la produzione di proteine non funzionali, risultando nell'accumulo di proteine misfolded o unfolded nel lume del reticolo endoplasmatico.

I ricercatori hanno osservato gli mRNA legati ad alcune proteine correlate allo stress, tra queste CHOP. Hanno osservato che l'espressione di questi mRNA aumentava significativamente, indicando che l'esposizione a PM è la causa di stress per il reticolo endoplasmatico.

Gli autori hanno monitorato anche i livelli di calcio intracellulari, considerati come indicatori dello stress del reticolo endoplasmatico post esposizione a PM. È stato evidenziato che l'esposizione comporta un aumento significativo dei livelli intracellulari di calcio, compromettendo i meccanismi di piegamento delle proteine e la loro struttura. L'aumento dei livelli di calcio, insieme all'aumento dell'espressione di proteine correlate alla UPR come PERK, ATF, CHOP ed IRE1, suggerisce che l'esposizione a PM promuove questa via correlata all'ipossia.⁽¹⁵⁾

3.3 Danni ad interneuroni e cellule gangliari

Lo studio condotto da Liping Li et al. e pubblicato nel 2022 aveva l'obiettivo di investigare sugli eventuali effetti negativi dovuti all'esposizione alle polveri sottili sulla funzione visiva e sui neuroni della retina.⁽¹⁶⁾ Utilizzando un sistema di aerosol versatile, i topi sono stati esposti all'aria inquinata con elevate concentrazioni di particolato, PM_{2.5}, per sei mesi.

I ricercatori hanno esaminato topi maschi di circa tre-quattro settimane d'età. Questi ultimi sono stati esposti ad aria inquinata da PM_{2.5} usando un sistema di concentrazione di aerosol (VACES) progettato per l'esposizione sistemica a lungo termine. Per lo studio sono stati utilizzati campioni di PM con una concentrazione tra 21.19 e 239.0 µg/m³.

Le osservazioni sono iniziate a giugno 2020 e sono andate avanti fino al novembre dello stesso anno per otto ore al giorno e per sei giorni alla settimana alternando con un ciclo luce-buio di dodici ore ciascuno. Nell'ambiente nel quale è stato svolto lo studio è stata mantenuta un'umidità relativa tra il 40% ed il 70% ed una temperatura tra i 20° C ed i 25° C.

I campioni di retina sono stati analizzati utilizzando svariate tecniche tra cui l'elettroretinografia, colorazione ematossilina-eosina, immunofluorescenza, western blot ed analisi dell'apoptosi.

I risultati raccolti dagli autori hanno indicato che l'esposizione all'inquinamento atmosferico e al particolato, in particolare al PM_{2.5}, è sicuramente la causa di disfunzione visiva e di patologie oculari come conseguenza di una degenerazione neuronale delle cellule retiniche dei topi esaminati. Questo è stato possibile asserirlo dopo aver riscontrato una ridotta risposta agli

stimoli luminosi tramite la valutazione con elettroretinografia sia in condizioni di visione fotopica che scotopica.

L'elettroretinografia è un esame non invasivo e consiste nella registrazione del potenziale elettrico composto prodotto dalla retina in risposta alla stimolazione visiva. Il potenziale di pochi mV si manifesta ai due lati opposti della retina e viene generalmente registrato applicando un elettrodo attivo all'occhio mediante una opportuna lente a contatto corneale ed uno indifferente a sufficiente distanza dal primo. Per la stimolazione luminosa sono di solito utilizzati flash ad elevata intensità e breve durata. Il tracciato tipico è solitamente rappresentato da un'onda multifasica la cui forma dipende dal contributo dei diversi componenti retinici. L'esame dunque va a registrare nel complesso quella che è la somma dell'attività data dai fotorecettori, dalle cellule bipolari e dell'epitelio pigmentato. ^(13, 16)

Una ridotta risposta potrebbe essere sicuramente data da una riduzione delle trasmissioni sinaptiche tra le cellule bipolari localizzate nello strato retinico dei granuli interni ed i coni ed i bastoncelli localizzati nello strato dei granuli esterni. Ciò è il risultato di un assottigliamento complessivo che è stato anche valutato da analisi istologiche specialmente dello strato dei granuli interni dove sono collocati gli interneuroni ma anche assottigliamento dello strato delle fibre nervose dovuto ad una perdita di cellule gangliari. ⁽¹⁶⁾

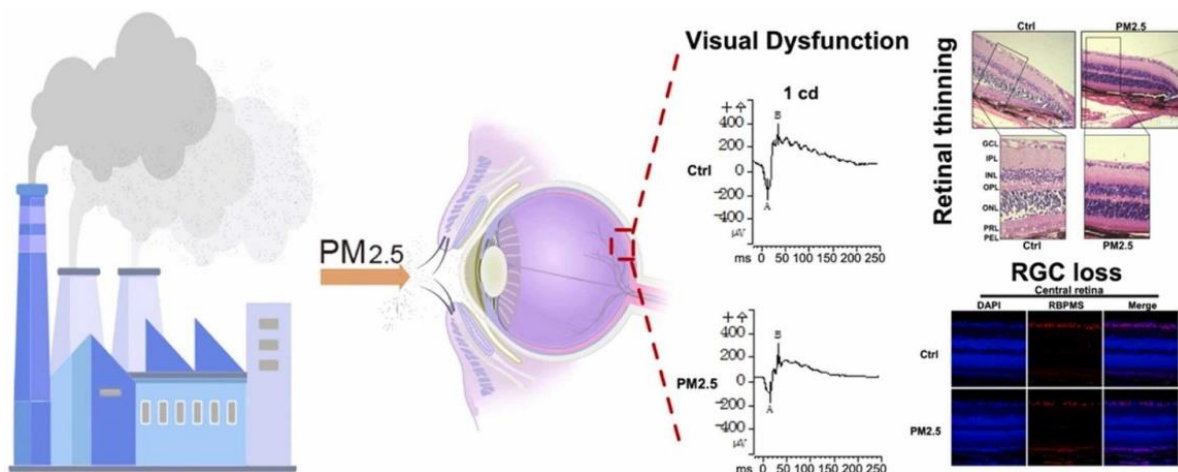
L'esposizione al particolato fine PM_{2.5} ha di fatto indotto il rilascio di citochine infiammatorie e dato il via all'attività astrocitica, evidenziata da livelli elevati di TNF- α (Tumor Necrosis Factor-alpha) e IL-1 β (Interleuchina-1 beta). Gli astrociti forniscono ai neuroni fattori di crescita e metaboliti, guidano gli assoni e rimuovono gli agenti tossici. La loro entrata in attività sembrerebbe quindi una risposta attuata dal sistema per cercare di arginare il danno neuronale e promuovere una riparazione dei tessuti compromessi. Una risposta elevata da parte degli astrociti potrebbe però risultare troppo aggressiva e provocare effetti ancora più dannosi, come avvenuto in questo studio dove l'attivazione degli astrociti ha mediato i processi infiammatori e il rilascio di citochine, portando ad una conseguente apoptosi neuronale e alla morte delle cellule retiniche residenti. ⁽¹⁶⁾

Oltre a ciò, lo studio ha evidenziato danni al DNA delle proteine e rilevato la presenza di marcatori di stress ossidativo, come la MDA, (Malondialdeide) un prodotto della degradazione dei lipidi danneggiati ossidativamente. È possibile che lo stress ossidativo abbia contribuito ad aumentare l'attività degli astrociti, che ha poi provocato la morte neuronale. ⁽¹⁶⁾

Gli autori hanno osservato, attraverso il western blot, l'espressione di varie proteine associate a processi infiammatori, apoptotici e di riparazione del DNA. Hanno, in particolare, rilevato un aumento dell'espressione di GFAP (proteina fibrillare acida della glia), TNF- α , cleaved IL-

1 β , Bax, p53, caspase-3, cleaved caspase-3 (fattori coinvolti nell'induzione dell'apoptosi), γ -H2AX, PARP1, cleaved PARP1 e PAR (fattori coinvolti nella riparazione del DNA danneggiato) nelle retine dei topi esposti alle PM. Questo li ha portati a dedurre che l'esposizione a PM_{2.5} induce il rilascio di citochine infiammatorie e causa possibile apoptosi e danni al DNA delle cellule retiniche.

Con questo studio su modello murino, i ricercatori hanno avuto modo di confermare dati raccolti da altre osservazioni avvenute nel 2020 e nel 2021, i quali evidenziavano clinicamente un assottigliamento dello strato delle fibre nervose della retina. Questo assottigliamento coinvolge anche lo strato dei granuli interni, dove sono presenti le cellule bipolari, lo strato plessiforme esterno, dove si verificano le sinapsi tra i fotorecettori (coni e bastoncelli) e le cellule bipolari e orizzontali, e lo strato dei granuli esterni, che contiene i nuclei dei fotorecettori. Questi dati sono stati rilevati nei residenti di aree urbane dove vi erano elevati livelli di PM_{2.5}, PM₁₀, NO₂ e NO_x. Lo studio ha quindi ulteriormente confermato che l'esposizione alle particelle sottili è associata a diversi effetti avversi alla salute. Alcune delle patologie che potrebbero essere causate da ciò includono il glaucoma, la degenerazione maculare legata all'età ed altre malattie oculari, innescate da un'inflammatione nel sistema nervoso e una degenerazione neuronale. ^(2, 16)



3.4 Possibili metodi di prevenzione

Alla luce degli studi che evidenziano gli effetti negativi dell'inquinamento atmosferico sulla salute oculare, e in particolare sulla tonaca nervosa, è fondamentale esaminare i possibili sistemi di prevenzione efficaci che potrebbero essere consigliati dall'ottico-optometrista e utilizzati. Questi sistemi possono ridurre l'incidenza di gravi patologie legate a questo

fenomeno e migliorare la qualità della vita delle persone esposte a elevate concentrazioni di polveri sottili e agenti inquinanti.

Come evidenziato dai due studi, spesso le patologie retiniche sono una conseguenza di stress e stress ossidativo generato da uno squilibrio di reazioni derivate da prodotti che hanno la capacità di distruggere le diverse strutture cellulari presenti. Diversi trattamenti con l'utilizzo di antiossidanti come la vitamina C, la vitamina E, i polifenoli e i carotenoidi hanno mostrato efficacia nel rallentare la progressione delle patologie, creando una protezione dai radicali liberi generati dallo stress ossidativo. Per attività ossidante s'intende il meccanismo con il quale vengono trasferiti elettroni o ioni idrogeno da una sostanza a un agente ossidante. La molecola che si priva dell'elettrone diventa instabile e reattiva, generando reazioni potenzialmente pericolose. In questo senso agiscono gli antiossidanti, che eliminano i prodotti intermedi evitando ulteriori reazioni. Queste molecole donano elettroni ai radicali liberi, stabilizzandoli e prevenendo danni cellulari. ⁽²³⁾

Se si indossano lenti a contatto, sebbene costituiscano comunque una prima barriera protettiva per l'occhio, possono comunque verificarsi conseguenze dovute all'inquinamento atmosferico, soprattutto sulla superficie oculare. Del particolato è nota la capacità di legarsi a numerosi metalli pesanti, i quali sono dannosi per i tessuti e organi del nostro corpo, occhi inclusi. Le PM e i metalli pesanti possono creare depositi ed essere assorbiti dalle lenti a contatto, con la potenziale capacità di generare cambiamenti nei parametri di queste, come l'indice di rifrazione e, ancora più importante, la loro permeabilità all'ossigeno. Studi hanno dimostrato che le lenti a contatto morbide possono legare e assorbire un notevole quantitativo di PM₁₀. Per questo motivo molti ricercatori mettono in guardia dall'indossare le LAC morbide, specialmente in aree urbane e geografiche dove l'inquinamento e le PM sono presenti in elevate concentrazioni, dal momento che possono causare danni alla fisiologia dell'occhio, irritare le palpebre, causare visione offuscata, graffiare la cornea causando dolore, rossore e infiammazione. ^(17,19)

Da ciò ne consegue che, in determinati contesti, è preferibile l'utilizzo di lenti rigide gas permeabili, poiché è stato osservato che sulla loro superficie, soprattutto le PM_{2.5} tendono a depositarsi meno e inoltre la pulizia e il lavaggio tramite soluzione salina tamponata rimuove facilmente gran parte di questi depositi. Tra gli svantaggi, però, c'è che questa tipologia di lenti a contatto può risultare meno confortevole, soprattutto inizialmente, per alcuni portatori. Un'altra soluzione potrebbe essere quella di preferire l'utilizzo di lenti a contatto giornaliere, le quali, venendo cambiate frequentemente (e si spera anche smaltite in maniera appropriata), possono ridurre i rischi di interazione tra occhi e agenti inquinanti depositati. ^(17,19)

Ad ogni modo, è sempre meglio consultare l'optometrista contattologo affinché si scelga la tipologia di lenti a contatto e il materiale di queste a seconda delle proprie esigenze e del contesto nel quale vengono utilizzate. Un'ulteriore soluzione potrebbe essere quella di indossare occhiali da sole, ovviamente provvisti di filtri UV, per proteggere ulteriormente gli occhi e minimizzare l'esposizione diretta alla materia particolata. Un'altra opzione, seppur più drastica, potrebbe essere quella di evitare l'utilizzo delle lenti a contatto, preferendo invece una correzione con lenti oftalmiche, soprattutto in contesti con scarsa qualità dell'aria. ⁽¹⁷⁾

Se si preferisce comunque l'utilizzo di lenti a contatto, è importante indossarle correttamente e averne una cura e igiene appropriate. Il fumo e le particelle fini possono restare intrappolate nelle LAC, causando infiammazione e discomfort; ⁽¹⁹⁾ è per questo che è importante cambiare regolarmente le lenti a contatto, lavare e asciugare bene le mani, le ciglia e le sopracciglia prima di maneggiarle, e pulirle con una soluzione appropriata. In entrambe le opzioni, con o senza LAC, l'utilizzo di lubrificanti e soluzioni umettanti è altamente raccomandato. Questi prodotti aiutano a proteggere e mantenere la salute oculare in condizioni ambientali avverse, riducendo la secchezza oculare generata dagli agenti inquinanti, proteggendo la superficie oculare formando uno strato protettivo e riducendo così eventuali irritazioni, lavando via il particolato che tende a depositarsi e riducendo il rischio di infezioni e infiammazioni. Possono inoltre migliorare il comfort per i portatori di lenti a contatto particolarmente suscettibili. ^(17,19) Attualmente sono sempre più disponibili gocce oculari umettanti, gel oculari per un'idratazione prolungata e spray per occhi, i quali possono essere spruzzati anche sulle palpebre e rappresentano una valida soluzione per coloro che trovano difficile l'uso delle gocce. In contesti e città dove l'inquinamento atmosferico è drammaticamente elevato, come nelle grandi metropoli asiatiche, si rende necessaria un'ulteriore attenzione. È importante, infatti, monitorare la qualità dell'aria, indossare mascherine filtranti per ridurre l'inalazione di particolato e, in casi estremi, limitare il tempo trascorso all'esterno. È consigliabile restare in ambienti confinati per evitare l'inalazione e il contatto diretto con gli agenti inquinanti, facendo comunque attenzione a mantenere una buona qualità dell'aria indoor e, eventualmente, dotarsi di dispositivi per la purificazione dell'aria. ⁽¹⁷⁾

CONCLUSIONI

In questo lavoro di tesi, attraverso una revisione della letteratura, sono stati esaminati i danni retinici causati dall'esposizione prolungata all'inquinamento atmosferico, sia esterno che interno, con un'attenzione particolare alle polveri sottili. Sono state analizzate le strutture oculari, il loro funzionamento, e i processi interni, nonché le modalità con cui questi agenti inquinanti possono causare gravi danni alle funzioni visive. È emerso quanto il nostro sistema oculare, sebbene complesso e apparentemente perfetto, sia estremamente vulnerabile agli attacchi esterni e come i suoi processi possano essere drammaticamente alterati.

È compito dell'ottico-optometrista essere consapevole di questi potenziali rischi per poter consigliare efficacemente le possibili soluzioni, poiché la salvaguardia della salute e del benessere delle persone è una priorità fondamentale. L'inquinamento ha un impatto crescente sul nostro pianeta, sulla nostra salute e, in particolare, sulla salute degli occhi. È necessario sensibilizzare maggiormente la popolazione e sperare nell'implementazione di protocolli e misure atte a mitigare la situazione attuale. Pertanto, una corretta conoscenza e prevenzione risultano indispensabili.

BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

1. Lin, C.-C. et al. The Adverse Effects of Air Pollution on the Eye: A Review. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2022, 19, 1186. <https://doi.org/10.3390/ijerph19031186>
2. Markeviciute, A. et al. A Review of Ambient Air Pollution as a Risk Factor for Posterior Segment Ocular Diseases. *J. Clin. Med.* 2023, 12, 3842. <https://doi.org/10.3390/jcm12113842>
3. Gutman et al. *Annals of Intensive Care* (2023) 13:84 <https://doi.org/10.1186/s13613-023-01182-1>
4. Roberto Cazzolla Gatti et al. Machine learning reveals that prolonged exposure to air pollution is associated with SARS-CoV-2 mortality and infectivity in Italy. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115471>
5. Gennaro D'Amato et al. Inquinamento atmosferico e cambiamenti climatici, elementi per una strategia nazionale di prevenzione. Ministero della Salute, Direzione Generale della Prevenzione Sanitaria, 2019.
6. Acute exposure to air pollutants increase the risk of acute glaucoma. Li et al. *BMC Public Health* (2022) 22:1782 <https://doi.org/10.1186/s12889-022-14078-9>
7. Ambient (outdoor) air pollution, World Health Organization, 2022. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ambient-\(outdoor\)-air-quality-and-health](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ambient-(outdoor)-air-quality-and-health)
8. IQair. 2023 world air quality report. <https://www.iqair.com/it/newsroom/waqr-2023-pr>
9. EEA. European city air quality 2021 <https://www.eea.europa.eu/themes/air/urban-air-quality/european-city-air-quality-viewer>
10. Particulate Matter-Environmental Protection Agency. <https://www.epa.gov/pm-pollution/particulatematterpmbasics#:~:text=PM%20stands%20for%20particulate%20matter,seen%20with%20the%20naked%20eye>.
11. Comunian S. et al. Air Pollution and Covid-19: The Role of Particulate Matter in the Spread and Increase of Covid-19's Morbidity and Mortality. *Int J Environ Res Public Health*. 2020.
12. Al-Dousari, M. Z. Hashmi (eds.), *Dust and Health, Emerging Contaminants and Associated Treatment Technologies*, https://doi.org/10.1007/978-3-031-21209-3_5
13. *Fisiologia Umana. Un approccio integrato*, autore D. U Silverthorn.
14. Bowes Rickman C, Farsiu S, Toth CA, Klingeborn M. Dry age-related macular degeneration: mechanisms, therapeutic targets, and imaging. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013 Dec 13;54(14):ORSF68-80. doi: 10.1167/iovs.13-12757. PMID: 24335072; PMCID: PMC3864379.

15. Jeong, S.; Shin, E.-C.; Lee, J.-H.; Ha, J.-H. Particulate Matter Elevates Ocular Inflammation and Endoplasmic Reticulum Stress in Human Retinal Pigmented Epithelium Cells. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2023, 20, 4766. <https://doi.org/10.3390/ijerph20064766>
16. Liping Li et al. Ambient particulate matter exposure causes visual dysfunction and retinal neuronal degeneration. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.114231>
17. American Optometric Association. Guidance to Protect Eyes Against Exposure to Air Pollutants, 2023. <https://www.aoa.org/about-the-aoa/press-room/statements/statement-from-the-aoa-consumer-health-alert-air-pollutants?sso=y>
18. Ecosystems and Air Quality, Environmental Protection Agency, <https://www.epa.gov/eco-research/ecosystems-and-air-quality>
19. Zhizhang Dong, Xiaoyan Ding, (2018): Short-Term Deposition of PM_{2.5} Particles on Contact Lens Surfaces: Effect on Oxygen Permeability and Refractive Index.
20. Ehsanifar M, Ghadim BK. Exposure to Urban Air Pollution Particulate Matter and Ocular Disorders. *J Biomed Res Environ Sci.* 2022.
21. Napolitano, G.; Fasciolo, G.; Venditti, P. Mitochondrial Management of Reactive Oxygen Species. *Antioxidants* 2021, 10, 1824. <https://doi.org/10.3390/antiox10111824>
22. Definizione ARPE 19. <https://www.fishersci.com/shop/products/arpe19-retinal-epithelium-huma/502382088>
23. Chen X, Shi C, He M, Xiong S, Xia X. Endoplasmic reticulum stress: molecular mechanism and therapeutic targets. *Signal Transduct Target Ther.* 2023 Sep 15;8(1):352. doi: 10.1038/s41392-023-01570-w. PMID: 37709773; PMCID: PMC10502142.
24. Neuroprotective modulation of the unfolded protein response in Marinesco-Sjögren syndrome PERK signaling inhibition and beyond Restelli, Elena PhD,*; Masone, Antonio; Sallese, Michele; Chiesa, Roberto PhD.
25. Xiao K, Liu C, Tu Z, Xu Q, Chen S, Zhang Y, Wang X, Zhang J, Hu CA, Liu Y. Activation of the NF- κ B and MAPK Signaling Pathways Contributes to the Inflammatory Responses, but Not Cell Injury, in IPEC-1 Cells Challenged with Hydrogen Peroxide. *Oxid Med Cell Longev.* 2020 Jan 21;2020:5803639. doi: 10.1155/2020/5803639. PMID: 32411329; PMCID: PMC7204152.
26. Schulze-Osthoff K, Ferrari D, Riehemann K, Wesselborg S. Regulation of NF-kappa B activation by MAP kinase cascades. *Immunobiology.* 1997 Dec;198(1-3):35-49. doi: 10.1016/s0171-2985(97)80025-3. PMID: 9442376.

27. Pearson G, Robinson F, Beers Gibson T, Xu BE, Karandikar M, Berman K, Cobb MH (Apr 2001). "Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions". *Endocrine Reviews*. 22 (2): 153–83. doi:10.1210/edrv.22.2.0428. PMID 11294822
28. Shi JH, Sun SC. Tumor Necrosis Factor Receptor-Associated Factor Regulation of Nuclear Factor κ B and Mitogen-Activated Protein Kinase Pathways. *Front Immunol*. 2018 Aug 9;9:1849. doi: 10.3389/fimmu.2018.01849. PMID: 30140268; PMCID: PMC6094638.
29. NFKB1 nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1 [Homo sapiens] - Gene - NCBI, su ncbi.nlm.nih.gov.
30. Gilmore TD. Introduction to NF-kappaB: players, pathways, perspectives. *Oncogene*. 2006 Oct 30;25(51):6680-4. doi: 10.1038/sj.onc.1209954. PMID: 17072321.