



I DEPOSITI PROTEICI

sulle lenti a contatto

Negli ultimi anni sono stati messi a punto vari nuovi materiali per la produzione di lenti a contatto morbide; le innovazioni sono state finalizzate soprattutto a migliorare la trasmissione di ossigeno attraverso la lac, a contenerne la disidratazione durante le ore di porto e a

gli aspetti inducono significative complicanze e aumentano il drop-out tra gli utilizzatori di lenti a contatto.

Il tirocinio di Simone Santacatterina ha preso in considerazione le proprietà morfologiche e ottiche di lac in idrogel e in silicone idrogel, verificando la

Sedici portatori, con età media di 23 anni, sono stati scelti per un test di 3 settimane con vari tipi di lac, sia in materiale idrogel che in silicone idrogel. Verificata la correlazione con l'accumulo proteico.

ridurre l'accumulo di depositi sulla sua superficie. I depositi proteici sulle lac sono responsabili sia di una diminuzione del comfort del portatore che di un'aumento dell'adesione batterica; entrambi

correlazione tra i materiali e l'accumulo proteico che si è realizzato sulle lac applicate. Il suo studio è stato condotto su lenti a contatto utilizzate da portatori con caratteristiche lacrimali preceden-

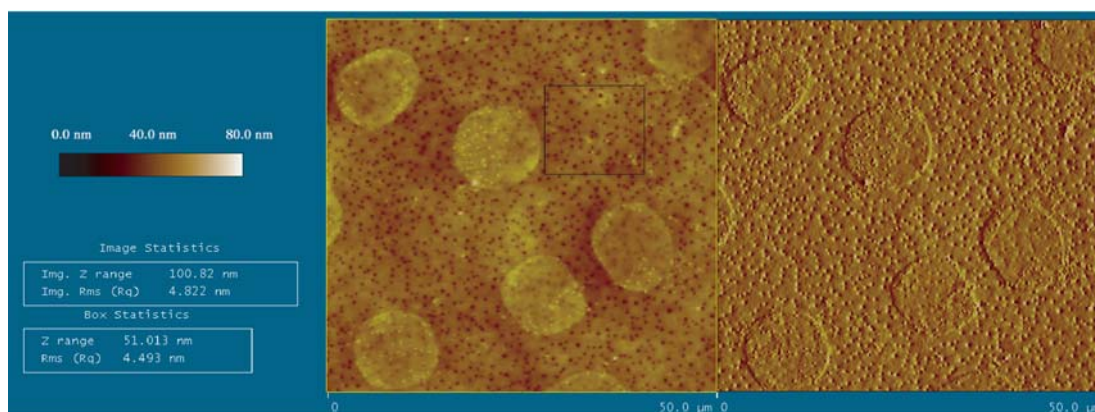


Figura 1. Analisi AFM superficiale topografica del Balafilcon A allo stato idratato (50 x 50 μ).

terza da portare per un periodo di tre settimane (porto solo diurno); durante le tre settimane di porto, i soggetti hanno con-

temente testate; i soggetti sono stati selezionati escludendo chi era interessato da secchezza oculare o aveva caratteristiche che lo controindicassero all'uso delle lenti a contatto.

Sono stati scelti 16 portatori (8 uomini e 8 donne) con età media 23,3 anni (SD 3,4 e range 19-29 anni), tutti in buona salute, non interessati da terapie farmacologiche che potessero alterare i dati sperimentali. Tra le lenti a contatto utilizzate nello studio (tutte commercializzate in Italia) alcune erano in materiale idrogel (Vifilcon A, Omaficon A) e

altre in silicone idrogel (Lotraficon B, Lotraficon A, Galyfilcon A, Balafilcon A).

A ognuno dei soggetti selezionati sono state consegnate 3 coppie di lenti: la prima coppia da portare per 4 ore consecutive, la seconda da portare per 24 ore consecutive (a porto continuo giorno e notte) e la

una soluzione contenente thimerosal, clorexidina e soluzione salina isotonica, affinché l'azione disinfectante fosse efficace ma non interferisse con l'accumulo di proteine sulle superfici delle lac.

E' stato assegnato un numero identificativo a ogni portatore, tramite il quale un ricercatore esterno (non direttamente coinvolto nell'analisi dei risultati) ha assegnato le lenti a contatto ai vari soggetti. L'opportuna gestione dell'assegnazione ha permesso di realizzare tutte le combinazioni possibili.

E' stata scelta (quando consentito dalla parame-

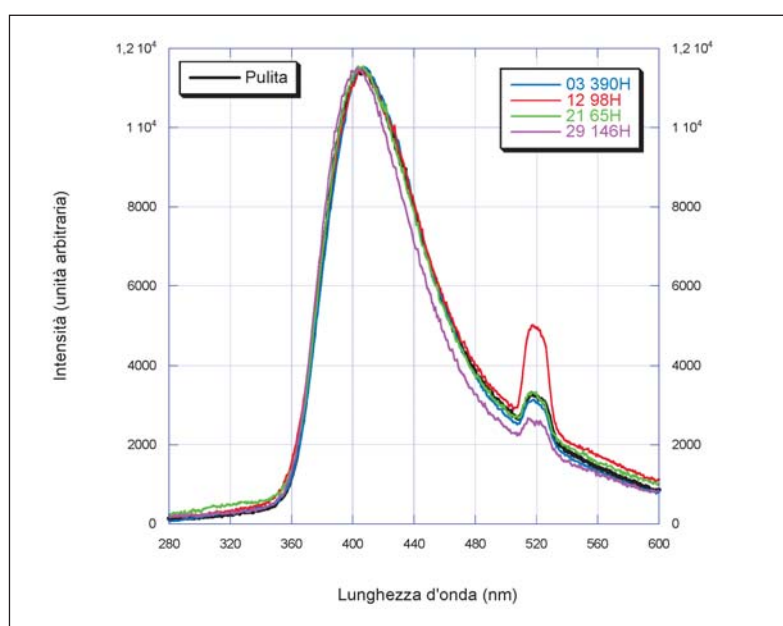


Figura 2. Spettro di emissione in fotoluminescenza del Galyfilcon A dopo tre settimane di utilizzo; le linee colorate indicano vari portatori, le ore di porto (H) di ognuno sono precisate in legenda.

tria del prodotto) la curvatura delle lac più idonea e il potere sferico necessario; nell'occhio destro si affidava al portatore una lac in idrogel e nel sinistro una lac in silicone idrogel. Dopo il porto e la riconsegna delle lac, Simone San-

tacatterina ha eseguito l'analisi della loro superficie (sia allo stato secco che idratato) in tre modalità: con il microscopio a forza atomica (AFM), le misure di fotoluminescenza e i coloranti chimici.

L'utilizzo del microscopio a forza atomica per valutare topograficamente le lenti a contatto, per migliorarne le tecniche di produzione e per controllare la loro qualità è assai cresciuto negli ultimi anni.

Simone Santacatterina ha condotto l'analisi delle

rio delle aree circostanti (vedi figura 1).

L'analisi quantitativa degli accumuli proteici in funzione del tipo di materiale e del tempo di porto, condotta tramite misure di fotoluminescenza, è stata possibile perché le proteine, a differenza dei biopolimeri, dei lipidi, delle membrane cellulari e dei saccaridi, presentano una fluorescenza intrinseca con una banda di emissione centrata a circa 330 nm dovuta alla presenza di amminoacidi

I depositi superficiali risultano distribuiti uniformemente già dopo 24 ore di porto. Sul Balafilcon A si sono notate le "isole" idrofile prodotte dal trattamento di plasma-ossidazione.

superfici delle lac in regime di tapping, una modalità in cui il cantilever viene fatto oscillare ad una frequenza prossima a quella di risonanza e, alla fine di ogni oscillazione, la punta tocca il campione fornendo le informazioni necessarie alla costruzione della topografia. Questa analisi ha anzitutto evidenziato che i depositi superficiali sono distribuiti omogeneamente già dopo 24 ore di porto; ha inoltre permesso di realizzare una topografia superficiale delle lenti, ottenere informazioni quantitative sulla loro rugosità, ricavare indicazioni sulla tendenza alla disidratazione dei vari materiali. Per esempio, analizzando le superfici delle lac in contrasto di fase si sono evidenziate sul materiale Balafilcon A una serie di isole regolari e separate, espressione di un trattamento di plasma-ossidazione (effettuato all'origine sulla superficie di questo materiale) che rende tali isole idrofile al contra-

aromatici con residui quali fenilalanina, tirosina e triptofano. Ad esempio nel lisozima (una delle proteine più importanti e abbondanti nel film lacrimale precorneale) il triptofano è presente per il 6.06%, la fenilalanina per 1.96% e la tirosina per il 5.98%; il triptofano risulta tra questi tre amminoacidi il più fluorescente (vedi figura 2).

I risultati dell'analisi mostrano un evidente aumento di fotoluminescenza in funzione delle ore di porto nei materiali ionici come il Vifilcon A.

Nelle lac in silicone idrogel quali il Lotrafilcon A e Lotrafilcon B, che presentano un'emissione intrinseca del materiale proprio nella regione di interesse, si osserva invece una diminuzione dell'intensità del picco a circa 330 nm aumentando le ore di porto.

Ciò può essere attribuito a due fattori: la minore efficienza quantica dei depositi proteici rispetto

all'emissione propria del materiale oppure il deterioramento dello strato superficiale della lac a seguito dell'uso; un'univoca interpretazione richiederebbe un'ulteriore analisi AFM e il confronto tra gli spettri di assorbimento e di eccitazione della fotoluminescenza.

Con l'analisi in fotoluminescenza è stato inoltre riscontrato un lieve spostamento del massimo dell'emissione verso lunghezze d'onda minori, da cui si deduce un possibile cam-

biamento della polarità che dipende dalla denaturazione dei depositi.

La parte chimica dell'analisi delle lac è stata dedicata alla messa a punto di una tecnica sperimentale per far reagire le proteine con molecole contenenti opportuni coloranti, al fine di studiare la distribuzione dei depositi sulle superfici delle lac. A questo scopo sono stati selezionati due reagenti commerciali che hanno dimostrato di potersi legare direttamente alle proteine e di essere fotoluminescenti, il Sypro Ruby e il Sypro Rose.

Il loro impiego secondo la metodologia standard ha però provocato un accumulo di reagente nella matrice di alcuni polimeri utilizzati per l'esperimento; ciò ha reso necessario l'utilizzo di un derivato del benzofurazano, che è fortemente fluorescente solo dopo aver reagito con i gruppi amminici primari delle proteine (vedi figura 3).

E' stato possibile ottenere un'analisi colorimetrica e fluorimetrica delle lac su cui erano depositate delle proteine solo operando ad alta concentrazione del

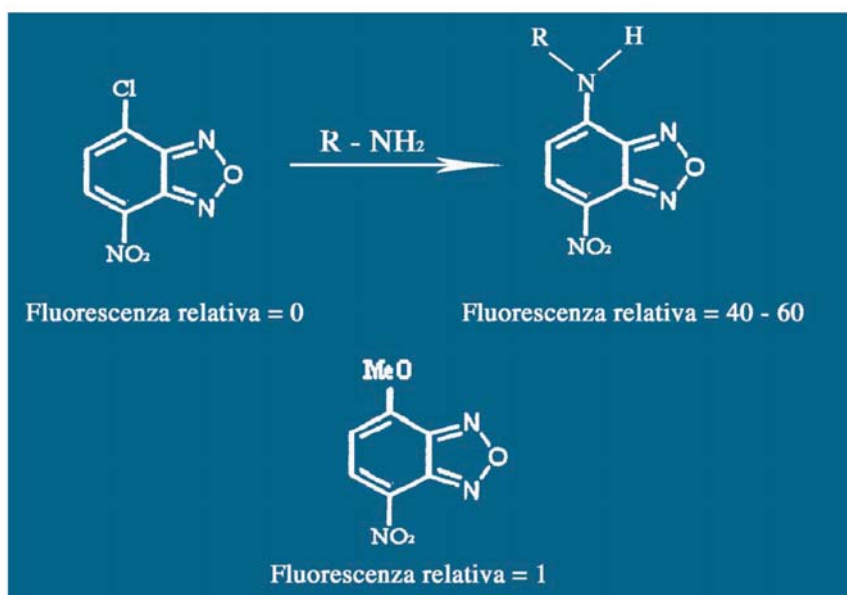


Figura 3. La formula di struttura del benzofurazano e la sua struttura modificata dopo reazione con i gruppi amminici primari delle proteine.

reagente (0,1M) e per tempi di reazione di circa 24 ore; con concentrazioni più basse (10⁻³M) non si è osservata alcuna reazione.

IDENTIKIT DELL'AUTORE

La tesi di laurea di Simone Santacatterina è stata presentata nella sessione tesi del 17 marzo 2005, presieduta dal prof. Alessandro Borghesi nella sala lauree dell'edificio U5 dell'Università degli Studi di Milano Bicocca.



Simone Santacatterina è nato ad Angera e vive a Ispra (VA), dove svolge la propria attività professionale. Ha svolto il tirocinio universitario nel 2004-05 presso il Dipartimento di Scienze dei Materiali dell'Università degli Studi di Milano Bicocca, seguito dal prof. Antonio Papagni, dalla dott. Silvia Tavazzi e dal dott. Marcello Campione (relatori interni e responsabili didattico-organizzativi dell'attività programmata).