

Adsorbimento delle proteine nelle lac morbide: analisi e confronto tra vari materiali

Archimede Gentile*, **Simone Santacatterina****,
Silvia Tavazzi***, **Silvio Maffioletti******

* Dottore in Ottica e Optometria - Docente a contratto presso Università degli Studi del Molise, Corso di Laurea in Ottica e Optometria, 86090 Pesche-Isernia (Italy)

** Dottore in Ottica e Optometria - Tutor di Laboratorio presso Università degli Studi di Milano Bicocca, Dipartimento di Scienza dei Materiali, 20125 Milano (Italy)

*** Ricercatore di Fisica - Università degli Studi di Milano Bicocca, Dipartimento di Scienza dei Materiali, 20125 Milano (Italy)

**** Ottico-optometrista - Docente a contratto presso Università degli Studi di Milano Bicocca, Dipartimento di Scienza dei Materiali, 20125 Milano (Italy)

Introduzione

Il deposito di sostanze derivanti dal film lacrimale sulle lenti a contatto (lac) è una condizione clinica che induce riduzione del comfort, diminuzione della qualità della visione e incremento della risposta infiammatoria. Negli ultimi anni numerosi studi hanno riguardato l'adesione dei depositi proteici sulle lac, che rimane tuttora un problema solo parzialmente risolto e può portare a intolleranza del portatore e al drop out delle lac stesse¹⁻².

Questo studio è finalizzato a osservare e quantificare i depositi sulle lenti a contatto in idrogel e in silicone idrogel in funzione del loro tempo di utilizzo, delle proprietà del materiale (carica ionica e rugosità superficiale) e delle caratteristiche lacrimali del portatore. Sono inoltre stati messi a confronto i livelli di comfort espressi dai portatori che hanno partecipato alla ricerca.

Metodi sperimentali

Lo studio è stato condotto sulle lenti a contatto utilizzate da 32 soggetti (16 uomini e 16 donne) con un'età media di 24.4 anni (SD 4.4, range 20-38).

Nella fase preliminare tutti i partecipanti sono stati informati, sia verbalmente che in forma scritta, circa le modalità richieste per l'uso delle lenti a contatto (tempo di utilizzo giornaliero, utilizzo di sostituti lacrimali, ecc); la loro valutazione soggettiva è stata raccolta tramite specifici questionari, sui quali essi registravano giornalmente le loro osservazioni. L'assegnazione delle lenti a contatto ai vari portatori è stata gestita da un ricercatore non direttamente coinvolto nell'analisi dei risultati; le lac, tutte reperibili sul mercato, sono state fornite in parametri compatibili con le geometrie corneali dei portatori, ai quali è stata assegnata una lac in materiale idrogel per l'occhio destro e una lac in silicone idrogel per l'occhio sinistro.

Quattro delle lenti a contatto utilizzate nello

studio erano in materiali idrogel (Methafilcon A, Alphafilcon A, Vifilcon A, Omafilcon A) e quattro in silicone idrogel (Lotrafalcon B, Lotrafalcon A, Galyfilcon A, Balafilcon A). A ogni partecipante sono state consegnate 3 paia di lac: il primo paio per un utilizzo di 4 ore, il secondo paio per 24 ore di utilizzo continuo giornaliero e notturno, il terzo paio per un utilizzo solo diurno di tre settimane.

Nel corso delle tre settimane di porto i partecipanti hanno utilizzato una soluzione salina isotonica di thymerosal (0,001%) e clorexydina (0,005%) con effetti batteriostatici e battericidi ma priva di azione attiva sulla rimozione dei depositi proteici.

L'analisi della superficie dei materiali è stata condotta con il microscopio a forza atomica (AFM - Atomic Force Microscopy) sia nello stato secco che in quello idratato in modalità 'tapping' dove il cantilever (la sonda dello strumento) oscilla con una propria frequenza di risonanza e, in seguito a ogni oscillazione, tocca la superficie del materiale da analizzare. Questo sistema fornisce informazioni sulla topografia superficiale del materiale, analizzando la variazione dell'ampiezza di oscillazione del cantilever. La forza di contatto è sufficientemente ridotta (circa 10⁻⁹ N) così che non danneggi la superficie del materiale. La tecnica di analisi con l'AFM ha permesso di esaminare la rugosità della superficie e di studiare la tendenza alla disidratazione dei diversi tipi di lenti a contatto.

L'analisi quantitativa dei depositi proteici sui differenti materiali è stata condotta tramite spettroscopia ottica nella regione UV-Vis, con misurazioni della trasmittanza e della fotoluminescenza. In particolare sono state monitorate le bande di assorbimento ottico degli anelli aromatici di amminoacidi residui a 280 nm e la banda di emissione centrata a 330 nm. La misurazione dell'assorbimento è stata condotta ad incidenza normale e a temperatura ambiente, utilizzando

Adsorbimento delle proteine nelle lac morbide: analisi e confronto tra vari materiali

uno spettrometro Perkin-Elmer Lambda 900 con una sezione del fascio luminoso pari a circa 50 mm². Il metodo offre misurazioni quantitative e può essere analizzato per analisi comparative.

Le misure di fotoluminescenza (PL-Photoluminescence) sono state eseguite con uno strumento dotato di una lampada allo Xenon, un doppio monocromatore e un rivelatore (CCD-Charge Coupled Device) raffreddato ad azoto liquido. La risoluzione spettrale è migliore di 1 nm e gli spettri di emissione sono stati corretti tenendo conto della risposta spettrale dello strumento.

Risultati

I risultati di fotoluminescenza e spettroscopia mostrano una banda di assorbimento centrata a 280 nm (Fig. 1) e una banda di emissione a 330 nm (Fig. 2), caratteristiche degli anelli aromatici componenti gli aminoacidi di interesse in questo studio. Alcune bande appaiono più pronunciate in certi materiali e meno in altri materiali, indicando un differente adsorbimento proteico. Inoltre le bande appaiono di intensità crescente in funzione del tempo d'uso delle lenti a contatto. Nei risultati di fotoluminescenza è stata osservata un lieve spostamento nella posizione del massimo dell'emissione verso una più bassa lunghezza d'onda; ciò è attribuibile a un cambiamento della polarità causata probabilmente dalla denaturazione delle proteine.

L'analisi AFM (Fig. 3) mostra che la rugosità della superficie dipende dai metodi di costruzione delle lac. I dati mostrano un aumento della rugosità quando le lenti a contatto sono analizzate allo stato secco, eccetto per le lenti in Galyfilcon A. Una distribuzione omogenea di depositi è stata osservata già dopo 24 ore di porto continuo nei materiali ionici. Alle lenti in Alphafilcon A (unico materiale non ionico pro-

sente tra i materiali idrogel) non è stata possibile l'esecuzione di molte misure poichè dopo soli 5 minuti tali lenti a contatto (a causa dell'aumento della temperatura indotto dallo strumento) mostravano una significativa deformazione causata dalla disidratazione.

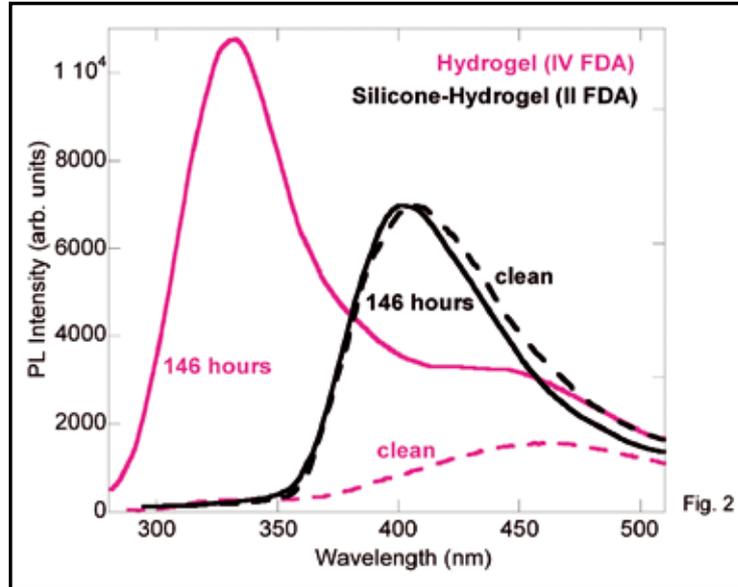


Fig. 2: Intensità di fotoluminescenza (PL) alle varie lunghezze d'onda prodotta da lac hydrogel nuove (clean) e dopo 146 ore di porto (linee rosse) e da lac in silicone-hydrogel nuove (clean) e dopo 146 ore di porto (linee nere).

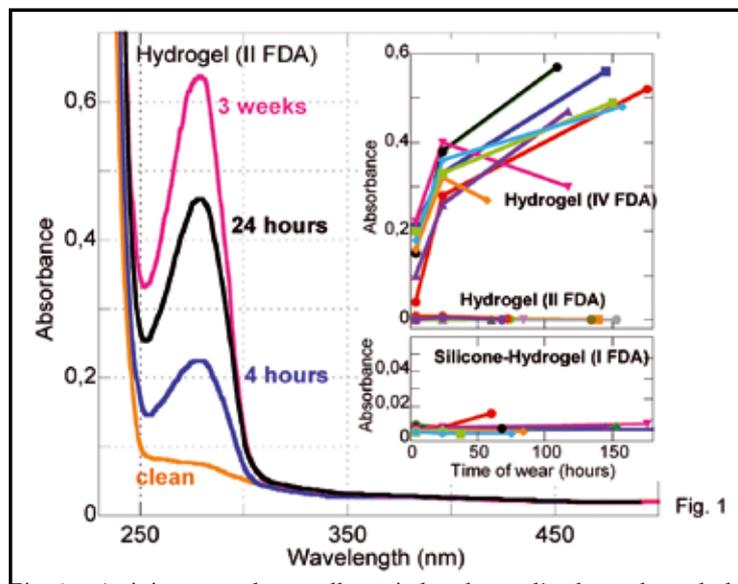


Fig. 1: A sinistra assorbanza alle varie lunghezze d'onda prodotta da lac hydrogel II FDA nuove (clean) e dopo 4 ore, 24 ore e tre settimane di porto. A destra evoluzione dell'assorbanza nel tempo di lac hydrogel (IV FDA), lac hydrogel (II FDA) e lac in silicone hydrogel.

Adsorbimento delle proteine nelle lac morbide: analisi e confronto tra vari materiali

Discussione e conclusioni

Depositi sulle lac in idrogel: ionicità e PVP

In generale, i depositi proteici sono principalmente influenzati dalla carica ionica del materiale della lente a contatto, come riportato in letteratura³. Il materiale ionico contenente più del 50% d'acqua (IV gruppo FDA) mostra un più alto adsorbimento di proteine. Oltre alle caratteristiche ioniche del materiale, si evidenzia che le lac in PVP (PoliVinilPirrolidone) adsorbono la minore quantità di proteine, ma sono più soggette ai depositi lipidici⁴. Nelle lac in idrogel, la quantità di depositi proteici aumenta al prolungarsi delle ore di utilizzo, soprattutto nell'arco di tempo tra le 4 e le 24 ore.

Depositi sulle lac in silicone idrogel

Le lac in silicone idrogel hanno una ridotta affinità con le proteine; in alcuni casi non sono state notate differenze tra i depositi presenti sulle lenti a contatto usate per 4 ore e quelle usate per 3 settimane.

Rugosità superficiale, depositi e comfort

Nè l'adsorbimento delle proteine, nè il discomfort soggettivo sono significativamente collegati con la morfologia della superficie.

Silicone idrogel e rossore limbare

Dopo 3 settimane, le osservazioni con la lampada a fessura mostrano una riduzione del rossore limbare dell'occhio sinistro, un effetto che è attribuibile agli alti valori di trasmissibilità all'ossigeno (Dk/t) delle lac in silicone idrogel.

Tempo di utilizzo e comfort

Dopo 4 ore di utilizzo, il comfort espresso dai partecipanti è minore per le lenti che hanno ac-

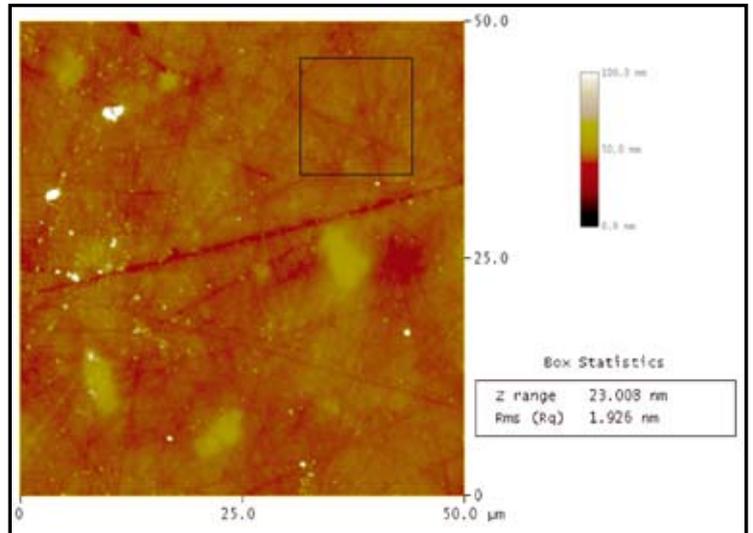


Fig. 3: Analisi AFM della rugosità della superficie di lac in silicone idrogel I FDA.

cumulato maggior quantità di depositi proteici. Questa correlazione è presente in tutti i tipi di lenti a contatto che mostrano una banda di adsorbimento a 280 nm, ma scompare nelle lenti a contatto portate per 24 ore e per 3 settimane indicando che il segmento anteriore dell'occhio si adatta attraverso una diminuzione della sensibilità corneale; inoltre dopo un certo tempo di utilizzo la distribuzione omogenea e regolare dei depositi sulla lente a contatto induce meno attrito, riducendo la sensazione di fastidio.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano il prof. Antonio Papani per l'assistenza e il dott. Marcello Campione per l'analisi AFM.

Poster presentato al V Convegno di Assottica, Firenze, 30 settembre - 1 ottobre 2007.

Riferimenti

1. C. Maissa et al., *Optom. Vis. Sci.* 75 (1998) 69;
2. M.F. Refojo et al., *Contact Lens J.* 3 (1997) 23;
3. G. Minno et al., *Optom. Vis. Sci.* 68 (1991) 865;
4. L. Jones et al., *CLAO J.* (1997) 23.