



ZVEZA ZA TEHNIČNO KULTURO SLOVENIJE

»56. SREČANJE MLADIH RAZISKOVALCEV SLOVENIJE«

**VPLIV SVETLOBNEGA SEVANJA  
RAČUNALNIŠKIH EKRA  
NA ABSORBANCO OČESNIH BELJAKOVIN**

Raziskovalno področje: Interdisciplinarno (biologija in zdravstvo)  
Raziskovalna naloga

II. gimnazija Maribor

Avtor: Niko Mlinarič

Mentorja: Katja Holnthaner Zorec,

dr. Boštjan Vihar

**Maribor, 2022**

## KAZALO VSEBINE

---

KAZALO VSEBINE.....	1
POVZETEK .....	2
ABSTRACT .....	2
ZAHVALA.....	3
1. UVOD .....	4
1.1 Raziskovalno vprašanje .....	12
1.2 Hipoteze in njihova razlaga .....	12
2. MATERIAL IN METODA DELA .....	13
3. REZULTATI .....	18
4. RAZPRAVA .....	22
5. ZAKLJUČEK .....	26
6. DRUŽBENA ODGOVORNOST .....	28
7. UPORABLJENA LITERATURA.....	29

### Kazalo slik:

Slika 1: STRUKTURNI FORMULI KOLAGENA IN ŽELATINE (POVZETO PO WANG, 2017).....	6
Slika 2: ANATOMIJA ČLOVEŠKEGA OČESA (LASTNA SLIKA) .....	7
Slika 3: GRAFIČNI PRIKAZ VALOVNIH DOLŽIN ELEKTROMAGNETNEGA VALOVANJA (JAPELJ, 2020) ...	9
Slika 4: SIVA MRENA, NASTALA ZARADI SVETLOBNEGA SEVANJA (THOMPSON, 2015) .....	10
Slika 5: GRAFIČNI PRIKAZ POTEKA EKSPERIMENTA.....	13
Slika 6: OBSEVANJE BIOLOŠKIH MATERIALOV (LASTNA FOTOGRAFIJA) .....	16
Slika 7: KONTROLNI POSKUS (LASTNA FOTOGRAFIJA) .....	16
Slika 8: SPEKTROMETRIČNA ANALIZA VZORCEV. LEVO RAČUNALNIK, DESNO SPEKTROMETER (LASTNA FOTOGRAFIJA) .....	17

### Kazalo grafov:

Graf 1: ABSORBANCA KOLAGENA PO 24 IN 48 URAH TER 1 TEDNU POSKUSA .....	18
Graf 2: ABSORBANCA ŽELATINE PO 24 IN 48 URAH TER 1 TEDNU POSKUSA.....	19
Graf 3: ABSORBANCA PREPARATA LEČ IN STEKLOVINE PO 1 TEDNU POSKUSA.....	20
Graf 4: POVPREČNE ABSORBANCE VZORCEV S STANDARDNIMI ODKLONI PRI 400 NM VALOVNE DOLŽINE PO 1 TEDNU POSKUSA .....	21

## POVZETEK

---

V raziskovalni nalogi smo merili absorbanco vidne svetlobe bioloških materialov (kolagena I, želatine ter preparata iz leč in steklovine prašičjih oči). Pripravljene materiale smo izpostavili računalniškemu ekranu, ki je seval modro svetlobo pri 465 nm valovne dolžine, za 24 in 48 ur ter en teden. S primerjavo absorbanco obsevanih in ne obsevanih vzorcev, ki smo jih izmerili s spektrometrom, smo želeli ugotoviti vpliv sevanja modre svetlobe na optične lastnosti, saj gre dandanes za pereč problem, ko smo ljudje vsakodnevno izpostavljeni elektronskim ekranom, ki večinsko sevajo ravno nizko valovno modro svetlobo z visoko vsebnostjo energije, ki povzroča denaturacijo beljakovin. Ugotovili smo, da je razlika v absorbancah bila največja pri preparatu iz leč prašičjih oči in je znašala 0,100 Au, najmanjša pa pri želatini, saj je znašala 0,003 Au. Razlike v absorbancah so bile zaradi kratkega časa obsevanja, šibkega ekrana in relativno energijsko revne (v primerjavi z UV) modre svetlobe majhne.

Ključne besede: absorbanca, spektrometrija, kolagen I, želatina, leča, steklovina, modra svetloba

## ABSTRACT

---

In research paper we measured absorbance of visible light of biological materials (collagen I, gelatine, pig lens and vitreous specimen), which were induced by exposing the prepared materials to a computer screen, radiating blue light with wavelength of 465 nm for 24 and 48 hours and a week. By comparing the absorbances of irradiated and unirradiated samples, measured by spectrometer, we were willing to find out the influence of blue light radiation on material degradation, what is nowadays a serious problem as people are every day exposed to screens, radiating the shortwave blue light, with high amounts of energy which is a cause of protein denaturation. We found out that the difference in absorbance was the biggest in pig lens specimen, which was 0,100, and the lowest value was in gelatine, which was 0,003. Differences in absorbances were low because materials were irradiated for short period of time with low density screen, that was radiating low energy (compared to UV) blue light.

Key words: absorbance, spectrometry, collagen I, gelatine, lens, vitreous, blue light

## ZAHVALA

---

Za pomoč in nasvete pri izdelavi raziskovalne naloge, tako praktičnega kot tudi teoretičnega dela, bi se radi zahvalili mentorici in somentorju. Prav tako se jima zahvaljujemo za vse spodbudne besede, vse posredovano znanje ter čas in trud, ki sta ga vložila v mentorstvo.

Zahvala gre lektorju, ki je poskrbel za jezikovno in slogovno pravilnost naše raziskovalne naloge.

Posebna zahvala gre našemu razredniku za vse opravičene izostanke od pouka zaradi izvajanja meritev in eksperimentalnega dela v šolskem laboratoriju.

## 1. UVOD

---

Poškodbe in bolezni očesa oz. čutila za vid se pojavljajo vedno pogosteje. Razlog za to je med drugim tudi poplava nekvalitetnih in za človeške oči neprimernih umetnih svetil na trgu, pa tudi visoka izpostavljenost zaslonom pametnih telefonov in računalnikov, s čigar svetlobo smo obdani zajetno količino časa, ki se je v času pandemije korona virusa za vse učence, dijake in študente ter nekatere zaposlene znatno povečala. Raziskava med Američani je pokazala, da je v minulem letu vsaka oseba v prostem času preživela povprečno štiri ure dnevno pred računalniškim zaslonom. V ta čas šolsko in službeno delo z računalnikom ni bilo všteto (Zalani, 2021). V raziskovalni nalogi smo se osredotočili na dve glavni temi, to sta vidni aparat in svetloba. Raziskali smo materiale, ki so v največji meri prisotni v človeškem očesu. Vzorce materialov smo za natanko določen čas izpostavili računalniškemu ekranu, ki je oddajal svetlobo vnaprej izbranega tipa. Zagotovili smo tudi kontrolni poskus, ki ne bo izpostavljen nobenemu dodatnemu umetnemu svetilu. Po preteku časa smo v vzorcih kvantitativno določili spremembo absorbanca z uporabo spektroskopije.

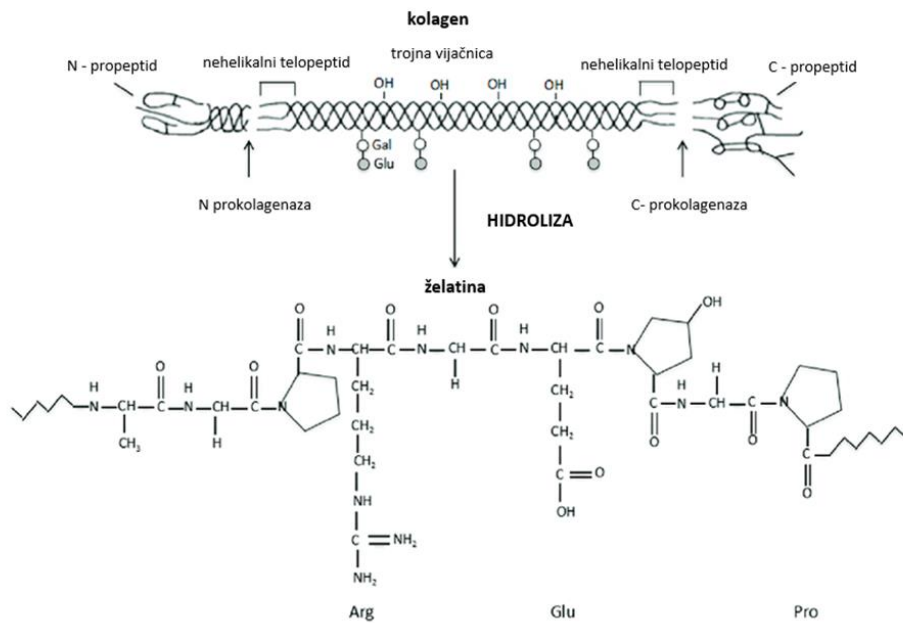
Beljakovine oz. proteini so skupina organskih makromolekul, ki so sestavljene iz manjših monomerov, tj. aminokislin. Le-te so zgrajene iz kiralnega ogljikovega atoma, kamor so vezani aminska ( $-NH_2$ ) in karboksilna funkcionalna skupina ( $-COOH$ ) ter radikal, po katerem se aminokislina razlikuje med sabo in določa vlogo in značaj same aminokislina. Proteine sestavlja 20 različnih aminokislin, ki se med sabo povezujejo s peptidnimi vezmi med aminsko skupino ene in karboksilno skupino druge aminokislina. Proces se imenuje kondenzacija, saj se pri tem odcepi molekula vode. Zgradbo molekul lahko opišemo v štirih strukturnih nivojih. Združevanje aminokislinskih zaporedij v polipeptide predstavlja primarno strukturo beljakovin. S sekundarno zgradbo je definirana prostorska struktura polipeptida, ki je omejena na dve razsežnosti. Poznamo dve glavni vrsti, in sicer  $\alpha$ -vijačnica in  $\beta$ -prepognjen list. Pri prvi gre za valjasto strukturo, stabilizirano s pomočjo vodikovih vezi med aminsko in karboksilno funkcionalno skupino, pri drugi pa je polipeptidna veriga iztegnjena, vezi pa se tvorijo med predeli iste ali druge aminokislina. Terciarna struktura predstavlja kompaktno globularno ali nitasto enoto, govorimo torej o treh razsežnostih. Stabilizira se zaradi privlačnih sil (disulfidne, vodikove, ionske, Van der Waalove) med radikali različnih aminokislinskih delov polipeptida. Položaj vsake polipeptidne podenote proteina določa kvartarna zgradba. Opisuje povezovanje podenot med sabo in tvorjenje oligomernih proteinov. Proteini z več podenotami imajo pomembnejšo biološko vlogo pri različnih življenjskih procesih. Zaradi vpliva različnih zunanjih dejavnikov kot so visoka temperatura, nizek pH, slanost itd., lahko pride do spremembe tridimenzionalne oblike proteina, čemur pravimo denaturacija. Pride do prekinitve vezi, ki vzdržujejo terciarno zgradbo, kar se odraža v spremembi

oblike proteina, kot tudi v njegovi funkcionalnosti. Po prenehanju delovanja dejavnikov se lahko beljakovine povrnejo v prvotno stanje (renaturacija), pogostokrat pa je denaturacija ireverzibilen proces, v katerem beljakovina ni več zmožna opravljati svoje biološke funkcije (Pain, 2006).

Posamezna beljakovina v človeškem telesu opravlja svojo biološko funkcijo. Kristalini so majhna družina beljakovin, ki v leči človeškega očesa prevzemajo funkcijo oksidacije oz. čiščenja ter s tem zagotavljanja transparentnosti le-te, od tod tudi njihovo ime. Pri sesalcih poznamo tri tipe kristalinov, to so  $\alpha$ -,  $\beta$ - in  $\gamma$ -kristalini, katerih prostorska zgradba še ni natančno določena. Imenovane beljakovine imajo glavno vlogo pri preprečevanju nastanka katarakte (sive mreene). Zaradi izpostavljenosti svetlobni energiji je tveganje za denaturacijo povečano, posledično tudi za očesna obolenja, saj se ne obnavljajo (Horwitz, 2000).

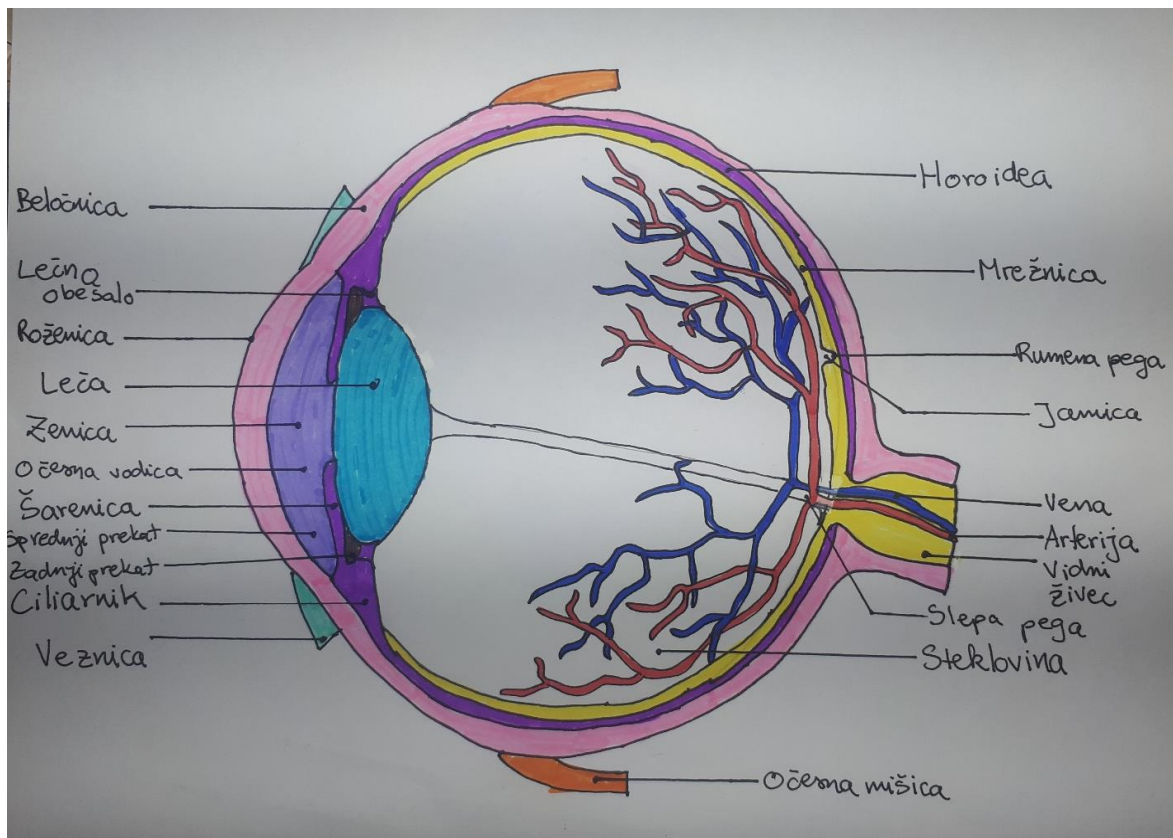
Družina kolagenov obsega 28 različnih tipov proteinov, ki jih označujemo z rimskimi številkami (I-XXVIII). Primarna struktura kolagenov obsega zaporedje med 662 in 3152 aminokislin, ki so nato zviti v  $\alpha$ -vijačnice, le-te se povezujejo v skupine po 3. Trojna vijačnica ima obliko palice, vendar je zelo fleksibilna. Tri najpomembnejše lastnosti kolagenov so termična stabilnost, mehanična trdnost in zmožnost vključevanja v specifične reakcije z drugimi biomolekulami. Omenjene lastnosti omogočajo močne vodikove vezi. Višjo strukturo kolagenov lahko opišemo kot vlaknasto. Kolageni so v veliki meri zastopani v človeškem telesu; tako v skeletu, kot tudi v koži, dihalih, vidnem aparatu in drugod. V očesni leči so prisotni tipi kolagena I – IV, slednji v največji meri (Shoulders, 2009).

Če kolagen bazično ali kislinsko hidroliziramo (razcepimo s pomočjo vode na manjše aminokislinske podenote), dobimo biopolimer, imenovan želatina. Postopek prikazuje slika 1. Je prosojna, brezbarvna in brez okusa, običajno v obliki praška. Optično je izredno aktiven, uporablja pa se v farmaciji, prehrabni industriji kot strjevalno sredstvo in kozmetiki. Geliranje nastopi, če jo ohladimo na sobno temperaturo (za razliko od kolagena). Gel je transparenten, elastičen in toplotno reverzibilen. Zaradi trdne strukture je v zadnjih letih predmet preučevanja tkivnega inženirstva (Wang, 2007).



SLIKA 1: STRUKTURNI FORMULI KOLAGENA IN ŽELATINE (POVZETO PO WANG, 2017)

Človeški možgani prejmejo največji informacij o zunanjem okolju z vidom, ki ga zagotavljajo oči. Njihova anatomija in fiziologija je precej zapletena, saj gre za utečen sistem, ki prepušča svetlobo skozi več različnih bioloških materialov (roženica, leča in steklovina) do mrežnice, kjer nastane slika opazovanega predmeta, ki jo možgani interpretirajo s pomočjo vidnega živca, kot prikazuje slika 2. Zaznavo barv kot tudi gledanje v mraku nam omogočata dve vrsti čutnih celic, čepnice in paličnice. Obliko leče in posledično ostrenje slike omogočajo mišice ciliarnika.



SLIKA 2: ANATOMIJA ČLOVEŠKEGA OČESA (LASTNA SLIKA)

Očesna leča je bikonveksne oblike in se nahaja med steklovino in roženico, pritrjena pa je s tankimi vezivnimi nitmi, ki se pahljačasto širijo in pripenjajo na ciliarnik. Sestavlja jo lečni epitel in lečne niti, ki jih ovija ovojnica (zgoščena membrana, tudi lečna kapsula). Poleg kristalinov jo sestavlja več tipov kolagena (tudi I), laminin in druge beljakovine. Odebeljen osrednji del leče imenujemo jedro leče. Nima žil in živcev, kar pomeni, da izmenjava snovi (hranilne snovi, dihalne pline, produkte metabolizma) poteka z difuzijo iz okolice. Premer leče meri pribl. 9 mm, debelina pa se giblje med 3,7 in 4,4 mm. Lečne niti so elastične, razvijajo se celo življenje, po 30. letu starosti pa zaradi dehidracije postanejo neelastične, kar zmanjša možnost akomodacije leče, kar popravljamo z uporabo očal. Leča in roženica sestavljata optični sistem očesa. Leča spreminja svojo obliko tako, da se slike opazovanih predmetov izoblikujejo v centralni vidni točki; je zbiralna leča, ki svetlobne žarke lomi in jih usmerja na rumeno pego (Kaplan, 2007).

Steklovina leži v notranjosti očesnega zrkla in je obdana s tanko membrano. Ker je večinoma sestavljena iz vode je brezbarvna, zdrizasta in želatinasta. Poleg vode jo gradi še hialuronska kislina in kolagen. Njene funkcije so zagotavljanje oblike, opore, trdnosti in lomljenje svetlobnih žarkov, saj ima drugačen lomni količnik od zraka. Tudi steklovina nima lastnih žil, torej izmenjuje snovi z očesno



ovojnico. Nemoten vid zagotavlja enakomeren pritisk steklovine na mrežnico. S časom se stara in mestoma zgošča, kar povzroča slabšanje vida (Robinett, 2008).

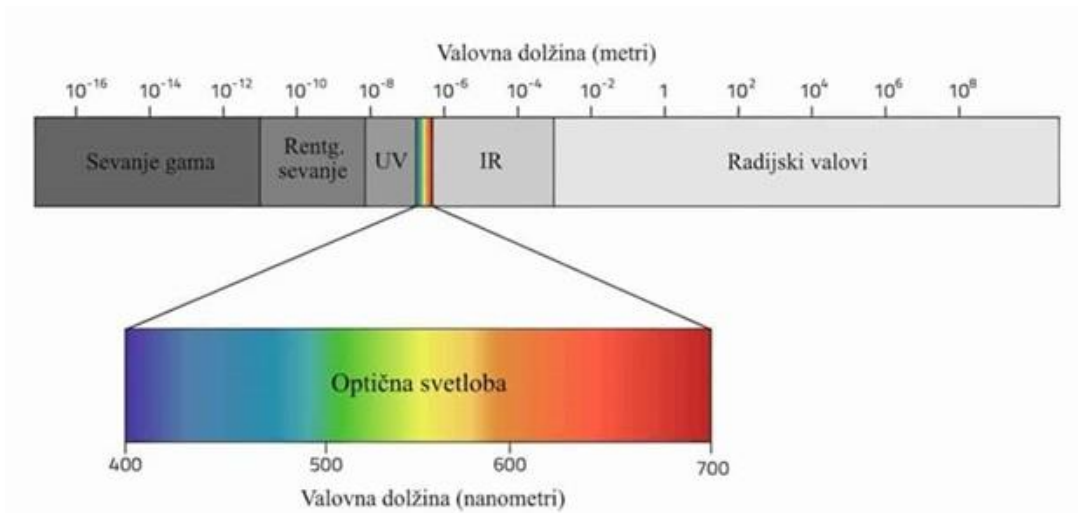
Svetloba je transverzalno elektromagnetno valovanje pri vrsto valovnih dolžinah oz. frekvencah. Celoten spekter elektromagnetnega valovanja je zelo širok, obsega pa valove dolžin v velikostnem razredu od  $10^3$  (radijski valovi) do  $10^{-15}$  (gama valovi) metrov. Elektromagnetno sevanje opisuje nihanje električnih in magnetnih polj, ki prenašajo energijo s hitrostjo svetlobe (300 000 km/h v vakuumu). Svetlobo lahko opišemo tudi kot pretakanje fotonov, skupkov energije brez mase, ki potujejo z lastnostmi valovanja s svetlobno hitrostjo skozi prostor. Foton je najmanjša količina energije, ki lahko potuje, njegovo energijo pa opiše enačba:

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

Energijo fotona (E) torej izračunamo kot produkt Planckove konstante ( $h = 6,62 \times 10^{-34}$  J) in frekvence fotona ( $\nu$ ) oz. kot produkt Planckove konstante in hitrosti svetlobe v vakuumu ( $c = 300\,000$  km/h), ki ga delimo z valovno dolžino fotona ( $\lambda$ ).

Glede na enačbo lahko zaključimo, da je energija fotona in s tem svetlobe obratno sorazmerna z valovno dolžino le-te; večja kot je valovna dolžina, nižja je energija. Veda, ki se ukvarja s preučevanjem svetlobe se imenuje optika. Svetloba ima pet osnovnih značilnosti, in sicer jakost, frekvenco, valovno dolžino, polarizacijo, fazo in orbitalni kotni moment. (Kumar, 2004).

Spekter vidne svetlobe se od preostalega elektromagnetnega spektra, ki ga prikazuje slika 3, razlikuje po dejstvu, da ga lahko zazna človeško oko. Človeško oko lahko zazna relativno ozek del elektromagnetnega spektra, med 400 in 700 nm. Sevanje krajše od 400 nm se imenuje ultravijolično (UV) sevanje, sevanje daljše od 700 nm pa infrardeče (IR), nobenega od slednjih pa človeško oko ni sposobno zaznati. Seveda meje detekcije niso fiksne, saj lahko v različnih starostnih obdobjih zaznamo tudi svetlobna valovanja izven teh omejitev, torej se spreminja širina spektra svetlobe, ki jo zaznamo kot vidno (Sloney, 2016).



SLIKA 3: GRAFIČNI PRIKAZ VALOVNIH DOLŽIN ELEKTROMAGNETNEGA VALOVANJA (JAPELJ, 2020)

Modra svetloba je tip elektromagnetnega sevanja, ki ima valovno dolžino daljšo od vijolične in krajšo od zelene svetlobe, torej med 420 in 490 nm, kar jo uvršča v vidni spekter svetlobe (Augusteyn, 2004).

Ta tip svetlobe zaradi svoje kratke valovne dolžine vsebuje relativno visoko količino energije (v primerjavi z ostalim delom vidnega spektra) v posameznem fotonu, kar se sklada z enačbo, ki smo jo predstavili. (Leung, 2017).

Modra svetloba je v veliki meri prisotna v vsakdanjem življenju, saj jo oddajajo zasloni elektronskih naprav kot so mobilni telefoni, tablični, namizni in prenosni računalniki, prisotna pa je tudi v sončni svetlobi ter LED in fluorescentnih svetilih. Dobro znano je dejstvo, da uporaba tovrstne svetlobe pred spanjem moti cirkadiani ritem človeškega organizma, saj zavira izločanje hormona melatonina, v praksi pa se slednje kaže kot nespečnost oz. insomnija (Tosini, 2015).

Zaradi velike količine energije ima prav tako negativne učinke na fiziologijo očesa, saj različna očesna tkiva to energijo absorbirajo, npr. retina in leča, zato so vedno pogostejša očala, katerih leče vsebujejo ti. "blue blockerje", ki preprečujejo absorpcijo energije in jo odbijajo (Leung, 2017).

Siva mrena je skalitev očesne leče, kot posledica denaturacije proteinov in odločilno vpliva na vid obolelega. Gre predvsem za denaturacijo  $\alpha$ -,  $\beta$ - in  $\gamma$ -kristalinov, ki so odgovorni za vezavo in odstranjevanje odpadnih snovi leče. Ko dani kristalini propadejo, jih ne nadomestijo novi, posledica pa je nalaganje odpadnih snovi na leči, kar se vidi kot skalitev leče. Ko se leča popolnoma skali, bolniki vidi zelo slabo ali megleno, pri zelo gosti skalitvi pa lahko oseba zaznava le še svetlobo (ne oslepi

popolnoma). Poznamo več vrste sive mreine, skupni simptomi so zamegljen vid in bleščanje, predvsem ponoči, zmanjšana ostrina vida, manjša razlika v kontrastih, povečanje kratkovidnosti in dvojni vid. Vse so popolnoma ozdravljive le s kirurškim posegom, izognemo pa se jim lahko v veliki meri s preventivo (Thompson, 2015).



SLIKA 4: SIVA MREINA, NASTALA ZARADI SVETLOBNEGA SEVANJA (THOMPSON, 2015)

Raziskava, narejena med prebivalci ZDA leta 2020, je pokazala, da pojavnost sive mreine med prebivalci raste s starostjo; pojavljati se začne po 40. letu že pri 3 % prebivalcev. Do 60. leta starosti pojavnost zraste na 15 % bolnikov. Po 75. letu starosti za simptomi sive mreine trpi že skoraj 50 % Američanov, od 80. leta dalje pa pojavnost znaša slabih 70 % (NIH, 2020).

Odločili smo se za metodo, s katero smo merili spremembe v prosojnosti materiala. To je spektroskopija, s katero smo izmerili absorbanco obsevanih in kontrolnih vzorcev v spektru vidne svetlobe, izračunali povprečje in obe vrednosti primerjali po vsaki meritvi absorbance. Prehod elektronov iz osnovnih v višje energijske nivoje omogočajo fotoni vidne svetlobe z valovnimi dolžinami od 400 do 800 nm, saj imajo dovolj energije. To stanje imenujemo vzbujeno stanje molekul, ki je zelo kratko, saj se elektroni hitro vrnejo nazaj v osnovno stanje. Energijska razlika prehoda elektrona se v okolico izgubi v obliki toplote, tudi svetlobe. Merilo za intenzivnost absorpcije v UV in vidnem spektru je absorbanca (A), prepustnost (T) pa je bolj značilna za spektre IR spektroskopije. Odnos med absorbanco in koncentracijo podaja Beer-Lambertov zakon (Abram, 2006):

$$A = -\log T = -\log \frac{I}{I_0} = \log \frac{I_0}{I} = c\epsilon l$$

Enačba pokaže, da absorbanco ( $A$ ) izračunamo kot negativni desetiški logaritem transmitance ( $T$ ) oz. kot pozitivni kvocient intenzitete vpadne svetlobe ( $I_0$ ) in intenzitete prepuščene svetlobe ( $I$ ). Izračunamo jo lahko tudi kot produkt koncentracije snovi vzorca ( $c$ ), absorpcijskega koeficienta ( $\epsilon$ ) in intenzitete prepuščene svetlobe ( $I$ ). Absorbanca je brez enote, uveljavila se je oznaka Au (absorbance unit). Graf, ki prikazuje odvisnost absorbance oz. prepustnosti od valovne dolžine, imenujemo spekter.

V in vitro poskusu, ki ga je opravil Jariashvili s kolegi, so kolagen tipa I, ki se nahaja v človeški koži, izpostavili UVC sevanju pri 254 nm valovne dolžine, denaturacijo pa so s CD metodo merili po 4, 17 in 66 urah. Ob prvem merjenju je bila denaturacija že zaznana, ob zadnjem pa je denaturiral celoten vzorec (Jariashvili, 2012).

Sionkowska je v in vitro poskusu UV sevanju pri 254 nm valovne dolžine izpostavila vzorce kolagena, ki jih je po preteku 2, 4, in 8 ur analizirala z uporabo diferenčne dinamične kalorimetrije (DSC) in vrstične elektronske mikroskopije (SEM). Ugotovljeno je bilo, da se je po obsevanju s časom spreminjala temperatura vzorcev, kot tudi njihova površina (Sionkowska, 2000).

V in vitro poskusu, ki sta ga opravila Schafheimer in King, sta vzorec  $\gamma$ -kristalina, ki je najbolj zastopan v človeškem očesu, izpostavila UVB sevanju pri 300 nm valovne dolžine. Denaturacijo sta merila z UV spektroskopijo pri absorbanci 280 nm in CD metodo po 2 urah trajanja eksperimenta (Schafheimer, 2013).

O vplivu vidne svetlobe na denaturacijo optične poti v očesu v literaturi nismo našli podatkov. Podobne poskuse na drugih tipih tkiv so opisujejo raziskave, predstavljene v nadaljevanju.

Redke študije so se ukvarjale z obsevanjem človeških tkiv z vidno svetlobo (predvsem modro). Pourang s kolegi je z LED modro svetlobo valovne dolžine 450 nm obseval keratinocite in človeške kožne fibroblaste 290 ur (približno 12 dni). Rezultati so pokazali, da se je obsevanim celicam zmanjšala možnost preživetja, zmanjšala se je količina mRNA kolagena I in elastaze. Spremembe so bile zaznane tudi v morfologiji mitohondrijev, membranskem potencialu in potemnitvi melanocit. (Pourang, 2021).

Opravljena je bila raziskava, ki se je ukvarjala s kvantifikacijo toksičnega rentgenskega sevanja (valovne dolžine okoli 10 nm), do katerega pride pri posegu CT angiografije pri otrocih, ki je del zdravljenja retinoblastoma (oblika raka na mrežnici). Vzorec je obsegal 16 oseb s povprečno starostjo 27 mesecev. Posegi so skupno šteli 35 tretmajev v obsegu dveh let. Ugotovili so, da je bil prag, ki označuje začetek nastanke katarakte, presežen po izvedbi osmega tretmaja (Obesso, 2019).

Podobno raziskavo so opravili na osebju intervencijske kardiologije, ki je vsakodnevno izpostavljeno kratko valovnim rentgenskim žarkom. Opazovali so spremembe na leči, čas izpostavljenosti pa so za vsak osebek v vzorcu posebej izračunali na podlagi vprašalnika in zasebnega intervjuja in je znašal od nekaj mesecev do skoraj dvajset let. Pojavnost zameglitve zadnjega dela leče je bila približno polovična pri izpostavljenih osebah in manj kot 10 % pri kontrolnih osebkih (Ciraj-Bjelac, 2010).

## 1.1 RAZISKOVALNO VPRAŠANJE

---

Kako vpliva sevanje modre svetlobe računalniškega ekrana na absorbanco kolagena I, želatine, preparata leč in steklovine prašičjih oči?

## 1.2 HIPOTEZE IN NJIHOVA RAZLAGA

---

**Hipoteza 1:** Obsevanje z modro svetlobo bo povzročilo spremembe optičnih lastnosti bioloških materialov (kolagen I, želatina, preparat leč in steklovine prašičjih oči), ki se bodo povečevale z daljšim časom obsevanja.

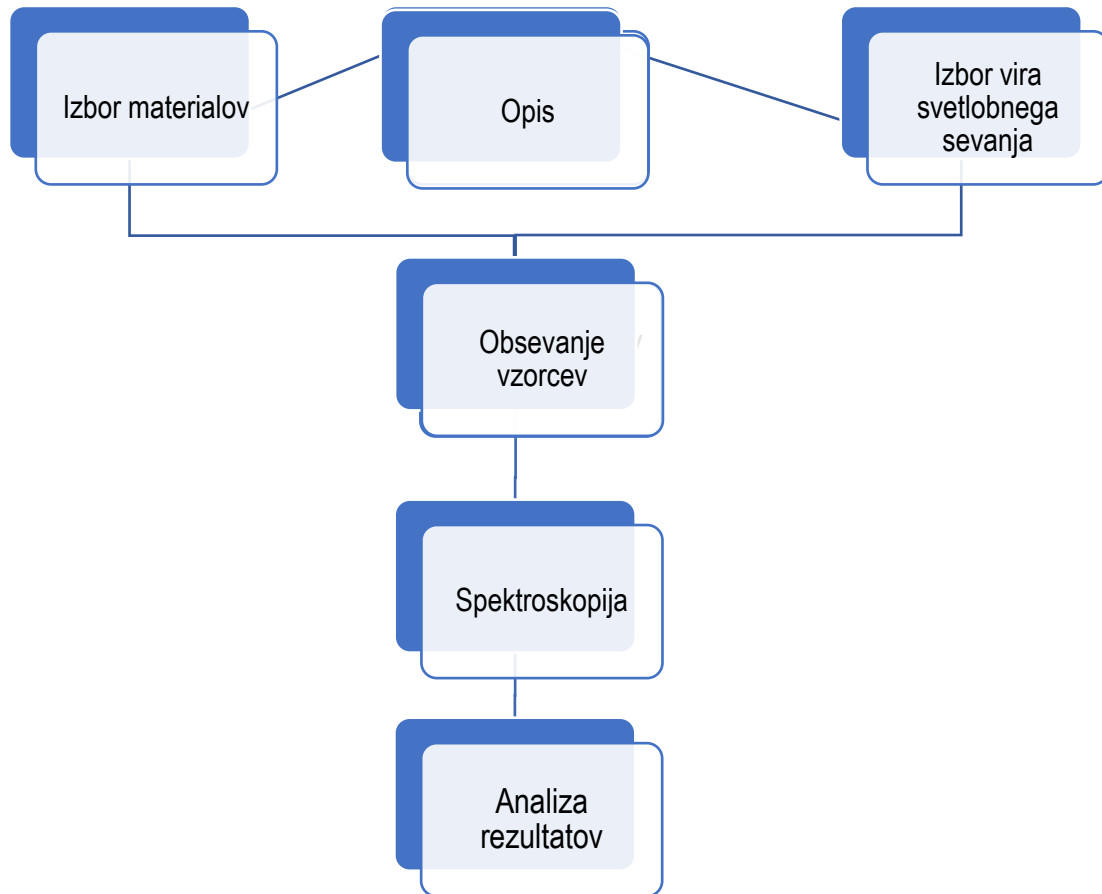
**Hipoteza 2:** Pri kolagenu bo vselej v enakem časovnem intervalu ugotovljena večja sprememba absorbance kot pri želatini, saj energija svetlobe ne more bistveno vplivati na že razpadle aminokislinske dele želatine, ki so nastale zaradi hidrolize kolagena.

**Hipoteza 3:** Pri preparatu iz leč prašičjih oči bo vselej v enakem časovnem intervalu ugotovljena večja sprememba absorbance kot pri preparatu iz steklovine prašičjih oči, saj je delež proteinov v leči večji kot v steklovini, ki je zato posledično bolj naklonjena denaturaciji in ostalim strukturnim spremembam.

## 2. MATERIAL IN METODA DELA

---

Potek eksperimentalnega dela grafično prikazuje spodnji hodogram.



SLIKA 5: GRAFIČNI PRIKAZ POTEKA EKSPERIMENTA

Cilj poskusa je bil ugotoviti, ali pride po obsevanju z modro svetlobo v izbranih bioloških materialih do spremembe absorbance v primerjavi s kontrolnimi vzorci, ki sevanju ne bodo izpostavljeni. Biološke materiale smo vnaprej pripravili in jih izpostavili računalniškemu ekranu, ki je seval modro svetlobo. Po pretečenih časovnih intervalih smo vzorce spektrometrično analizirali tako, da bomo izmerili njihovo absorbenco in jo primerjali s kontrolnim poskusom. Za računalniški ekran smo se odločili, ker smo sevanju le-teh izpostavljeni vsakodnevno, metodo spektrometrije pa smo izbrali po prebiranju literature.

Zaradi cenovne nedostopnosti kristalinov za naše raziskovanje smo obsevanje le-teh bili primorani opustiti. Za obsevanje smo izbrali kolagen tipa I, ki nam je bil cenovno najbolj dostopen in je prav tako prisoten v očesni leči. Zaradi podobnosti s kolagenom in cenovne dostopnosti smo za obsevanje izbrali tudi želatino, ki smo jo uporabili pri konceptualni zasnovi poskusa in testiranju protokolov. Za bolj verodostojne rezultate na področju fiziologije očesa smo obsevali homogenat iz leč prašičjih oči in homogenat iz steklovine prašičjih oči.

Za eksperiment smo uporabili naslednji material:

- kolagen I, goveje vezi (Sigma Aldrich)
- 0,1 M HCl
- zmleta želatina (Dr. Oetker Kft.)
- destilirana voda
- prašičje oči
- penicilin (Thermo Fisher Scientific)
- streptomycin (Thermo Fisher Scientific)
- fiziološka raztopina

Oprema:

- prenosni računalnik (Lenovo Thinkpad E585)
- spektrometer (Thermo scientific Varioskan Flash)
- parafilm
- avtomatska pipeta (100 µl)
- mikrotitrne plošče (96 bazenčkov)
- kuhalnik
- čaša (100 mL)
- merilni valj (100 mL)
- steklena palčka za mešanje
- skalpel
- škarje
- delovna podloga
- tehtnica
- alkoholni flomaster

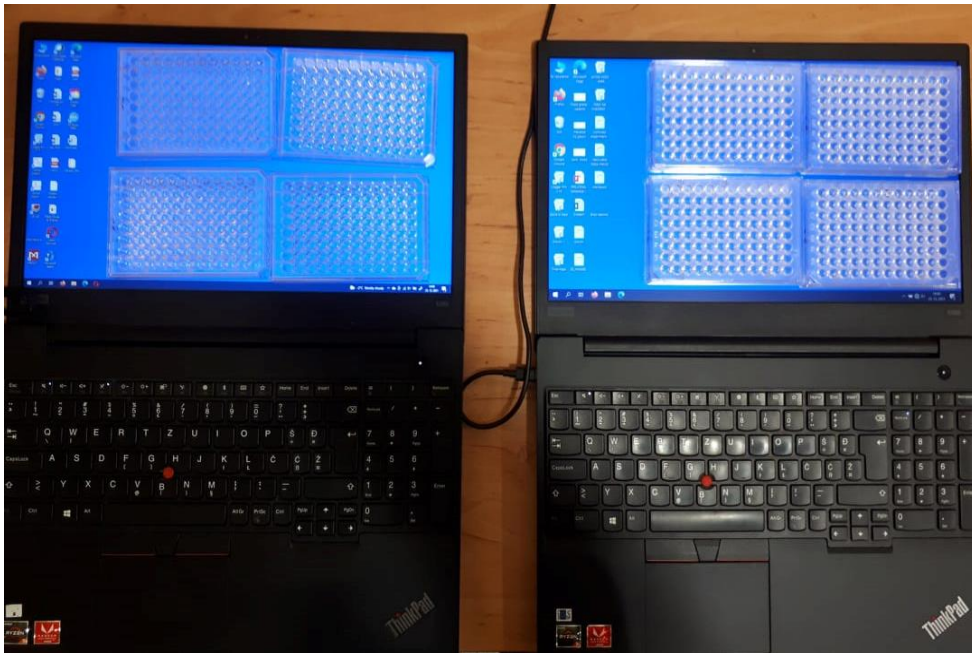
Za 2,0 % (masni delež) raztopino želatine smo odtehtali 1 g suhega materiala in ga raztopili v 49 g destilirane vode. Pripravek smo pri temperaturi 90 °C mešali 10 minut (navodila proizvajalca). Vroč pripravek smo z avtomatsko pipeto nanесли na dve mikrotitrski plošči, na vsaki smo zapolnili 48 bazenčkov, vsakega s 100 µl pripravka. Obsevali smo torej 48 bazenčkov, 48 bazenčkov pa je predstavljalo kontrolni poskus. Obe mikrotitrski plošči smo zaščitili s parafilmom in tako preprečili izsuševanje vzorcev ter jih ustrezno označili z alkoholnim flomastrom.

Za 1,0 % (masni delež) raztopino kolagena smo natehtali suh material in dolili 0,1 M HCl do končne koncentracije. Pripravek smo pokrit mešali 12 ur pri 50 °C, da se je raztopil. Neraztopljene delce smo odstranili z 10-sekundno centrifugacijo suspenzije pri 300 obratih na minuto. Supernatant smo nato odlili. Pripravek smo z avtomatsko pipeto nanесли na dve mikrotitrski plošči, na vsaki smo zapolnili 48 bazenčkov, vsakega s 100 µl pripravka. Obsevali smo torej 48 bazenčkov, 48 bazenčkov pa je predstavljalo kontrolni poskus. Obe mikrotitrski plošči smo zaščitili s parafilmom in tako preprečili izsuševanje vzorcev ter jih ustrezno označili z alkoholnim flomastrom.

Leče in steklovino smo najprej ločeno izolirali iz prašičjih oči, jih homogenizirali in obema materialoma dodali antibiotika penicilin in streptomycin v 1 % volumskem deležu. S tem smo preprečili morebitne bakterijske okužbe. Vsakega od dveh homogenatov smo napipetirali na dve mikrotitrski plošči. Obsevali smo torej 48 bazenčkov preparata leč in 48 bazenčkov preparata steklovine, 48 bazenčkov preparata leč in 48 bazenčkov preparata steklovine pa je predstavljalo kontrolni poskus. Vse mikrotitrski plošče smo zaščitili s parafilmom in tako preprečili izsuševanje vzorcev ter jih ustrezno označili z alkoholnim flomastrom.

Prenosni računalnik znamke Lenovo Thinkpad E585 smo odprli pod kotom 180 stopinj, vzorce smo postavili na ekran, na katerem smo s pomočjo računalniškega programa Slikar nastavili na modro barvo valovne dolžine 465 nm, z RGB koordinatami (0, 0, 255). Jakost svetlobnega sevanja ekrana je znašala  $500 \frac{cd}{m^2}$ .





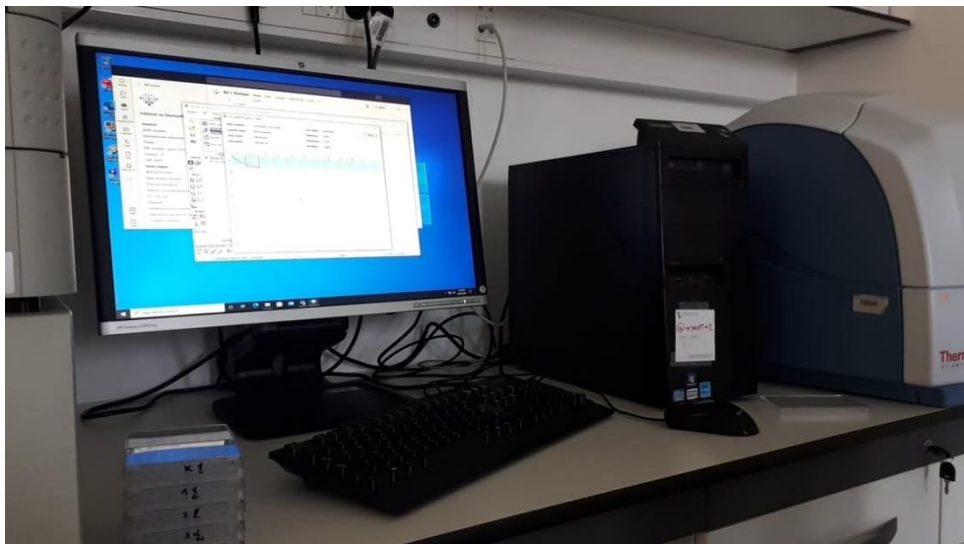
SLIKA 6: OBSEVANJE BIOLOŠKIH MATERIALOV (LASTNA FOTOGRAFIJA)



SLIKA 7: KONTROLNI POSKUS (LASTNA FOTOGRAFIJA)

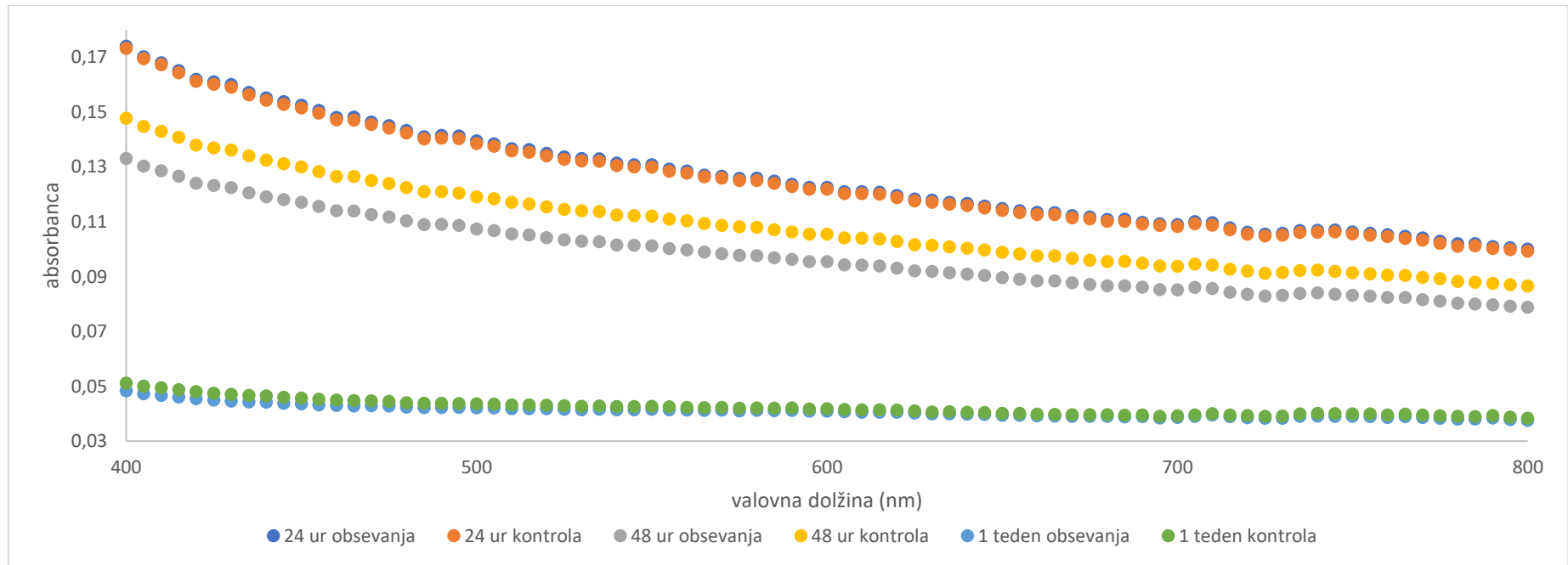
Po zastavljenem času obsevanja (24 in 48 ur ter en teden za kolagen in želatino ter en teden za preparat iz leč in steklovine) smo vzorce spektrometrično analizirali z uporabo spektrometra Thermo scientific Varioskan Flash, ki nam je omogočal hitro analizo številčnih vzorcev na posamezni mikrotitrski plošči. Spektrometrična analiza je bila opravljena v vidnem spektru svetlobe, tj. od 400 do

800 nm valovne dolžine z razkorakom po 5 nm. Za posamezni bazenček na mikrotitrski plošči smo torej dobili 80 vrednosti absorbanc, s katerimi smo kasneje izračunali povprečno vrednost absorbance pri vsaki analizirani valovni dolžini.



SLIKA 8: SPEKTROMETRIČNA ANALIZA VZORCEV. LEVO RAČUNALNIK, DESNO SPEKTROMETER (LASTNA FOTOGRAFIJA)

### 3. REZULTATI

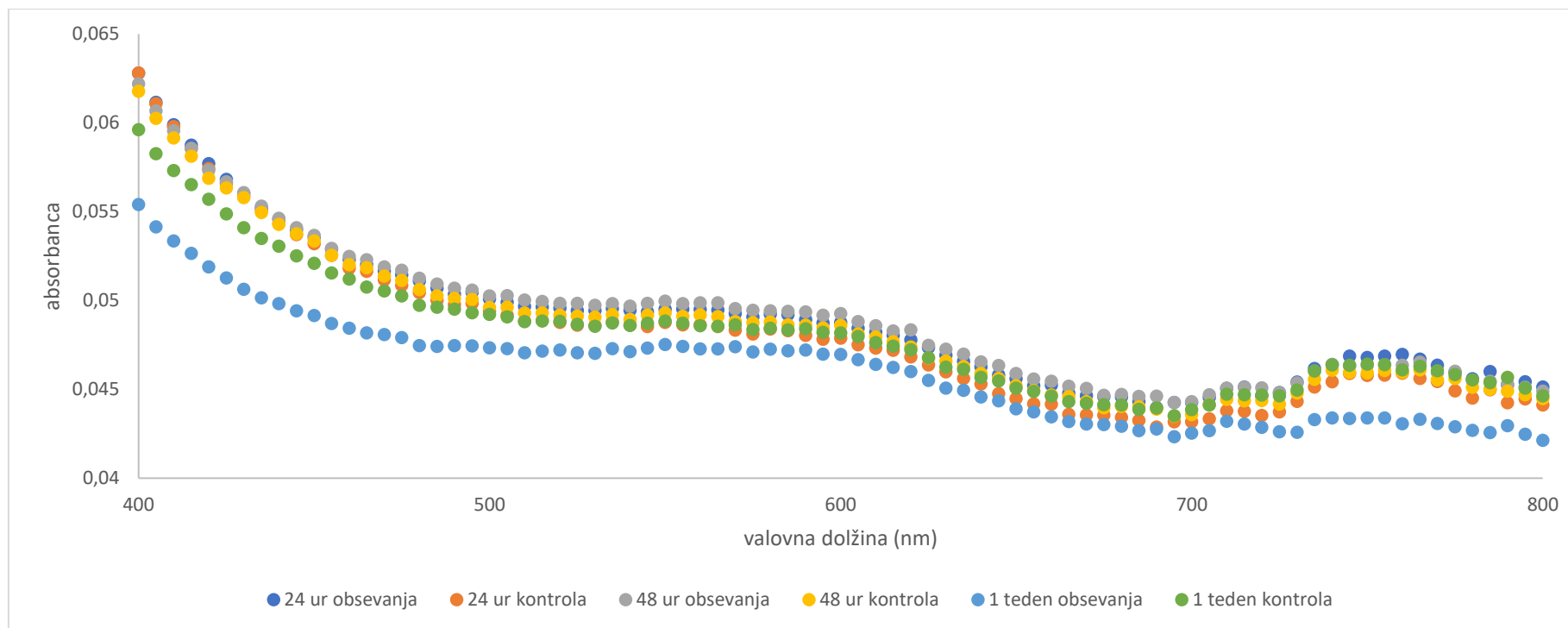


GRAF 1: ABSORBANCA KOLAGENA PO 24 IN 48 URAH TER 1 TEDNU POSKUSA

Po 24 urah obsevanja absorpcijski spektri materialov niso kazali pomembnih razlik v primerjavi s kontrolo. Po analizi smo nadaljevali z obsevanjem.

Po 48 urah obsevanja je razlika večja in opazna v celotnem spektru; največja je pri 435 nm valovne dolžine in znaša 0,014. Po spektroskopski analizi smo nadaljevali z obsevanjem vzorcev do izteka enega tedna.

Po celem tednu obsevanja je razlika v absorbanci največja pri 405 nm valovne dolžine in znaša 0,003.

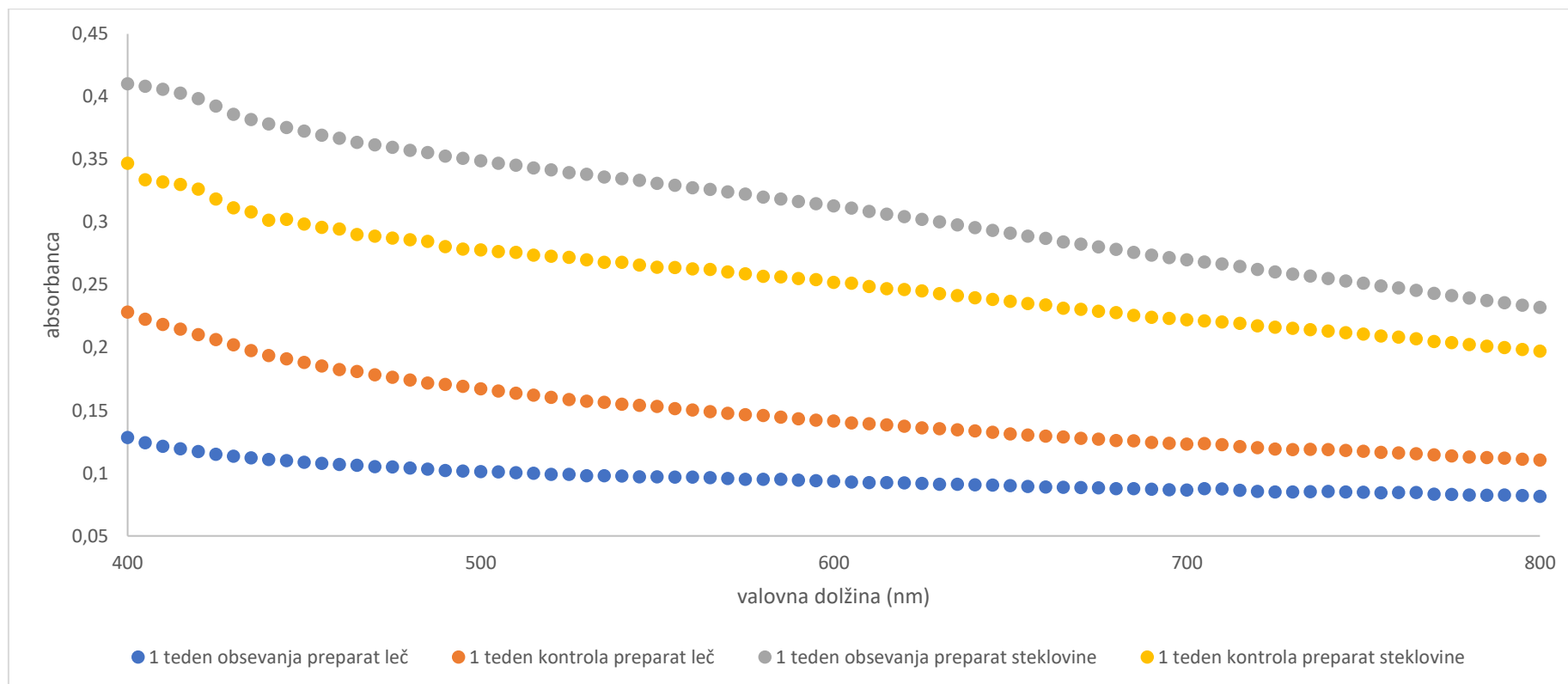


GRAF 2: ABSORBANCA ŽELATINE PO 24 IN 48 URAH TER 1 TEDNU POSKUSA

Absorbanci obsevane želatine in kontrolnega poskusa se med sabo nista znatno razlikovali po 24 urah, zato smo z obsevanjem nadaljevali še naslednjih 24 ur.

Razlike med obsevanim in kontrolnim vzorcem želatine niti po 48 urah v celotnem analiziranem spektru niso bile pomembne, zato smo obsevanje izvajali še naslednjih 5 dni.

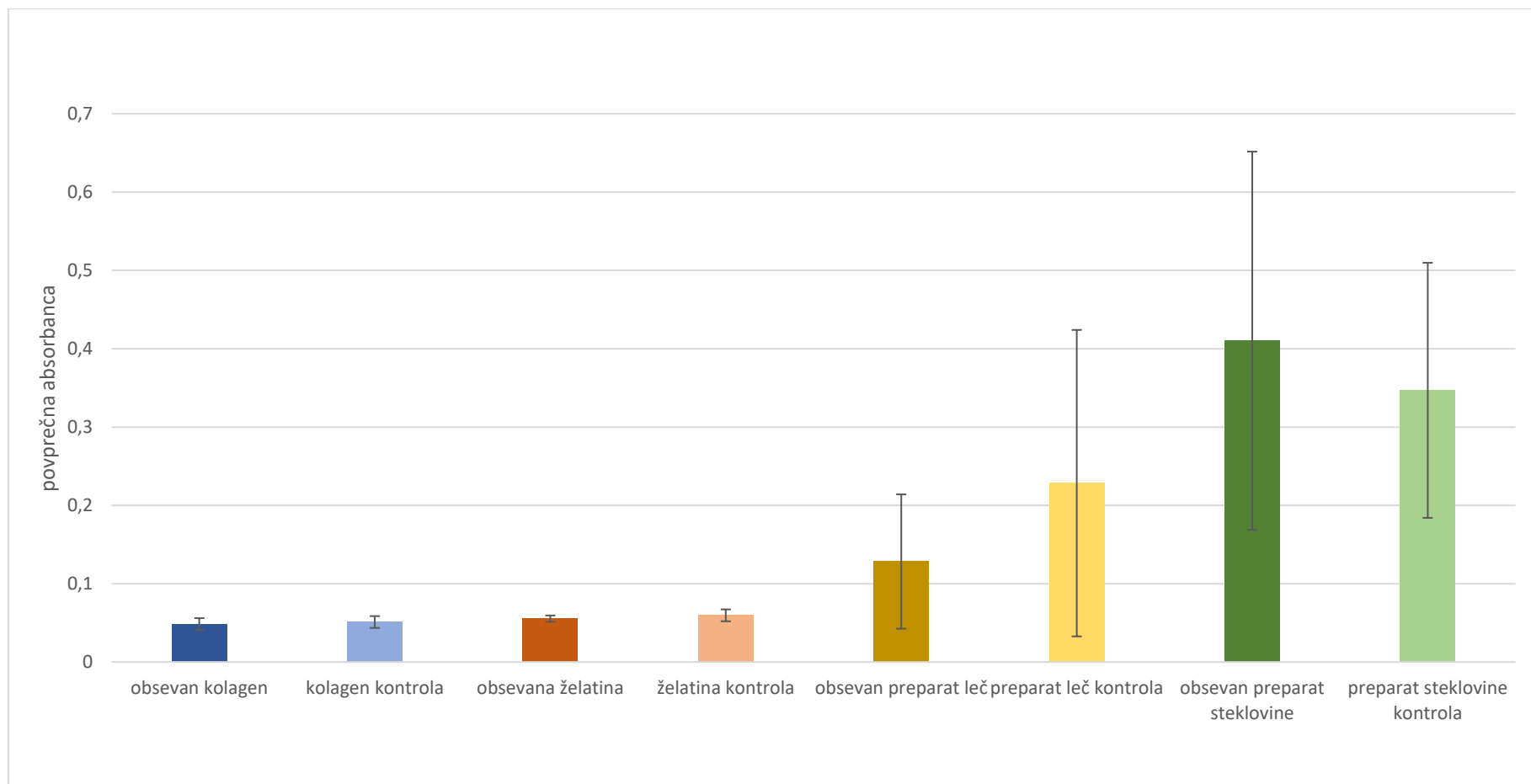
Po enem tednu obsevanja je razlika v absorbanci opazna; največja je pri 405 nm in znaša 0,004.



GRAF 3: ABSORBANCA PREPARATA LEČ IN STEKLOVINE PO 1 TEDNU POSKUSA

Absorbanci obsevanega preparata iz prašičjih leč in kontrolnega poskusa sta se po enem tednu kvantitativno najbolj razlikovali izmed vseh testiranih materialov. Največja razlika je bila izmerjena pri 410 nm valovne dolžine in je znašala 0,100.

Absorbanci obsevanega preparata iz prašičje steklovine in kontrolnega poskusa sta se po enem tednu opazno razlikovali. Največja razlika je bila izmerjena pri 440 nm valovne dolžine in je znašala 0,077.



GRAF 4: POVPREČNE ABSORBANCE VZORCEV S STANDARDNIMI ODKLONI PRI 400 NM VALOVNE DOLŽINE PO 1 TEDNU POSKUSA

Graf prikazuje povprečne absorbance analiziranih vzorcev s standardno deviacijo pri valovni dolžini 400 nm, kjer je bila izmerjena absorbanca najvišja pri vseh bioloških materialih. Vidimo, da je absorbanca kontrole vselej večja kot absorbanca obsevanih vzorcev, razen pri preparatu iz steklovine prašičjih oči.

#### 4. RAZPRAVA

---

Če primerjamo razlike v absorbancah med obsevanimi in kontrolnimi vzorci uporabljenih bioloških materialov, lahko zaključimo, da so le-te relativno nizke, saj je največja izmerjena razlika v absorbancah znašala 0,100 Au (preparat leč svinjskih oči). Čeprav je valovna dolžina sevanja modre svetlobe v vidnem spektru skoraj najkrajša (njeni fotoni imajo visoko energijsko vrednost) in razdalja med ekranom in obsevanimi vzorci praktično najkrajša (1 cm), so bili materiali sevanju računalniškega zaslona izpostavljeni relativno kratek čas. Najdaljši časovni interval je znašal en teden oz. 168 ur, kar bi v vsakodnevnem življenju pomenilo 21 delovnih dni (en mesec), če bi posameznik v službi dnevno preživel 8 ur pred računalniškim zaslonom na razdalji tik pred računalniškim ekranom, kar se seveda v praksi ne izvaja. Če bi bila degradacija materialov v tako kratkem času in na tako kratki razdalji intenzivnejša, bi se očesne bolezni, kot je npr. siva mrena pojavljale že v zgodnjih fazah življenja, ne šele v zgodnji starosti. Za večjo razliko v absorbancah bi bilo torej potrebno podaljšati čas obsevanja in uporabiti svetlobo s še nižjo valovno dolžino, npr. UV, ali pa celo katero drugovrstno sevanje iz spektra elektromagnetnega valovanja (rentgenski žarki ali celo gama žarki), bi pa to otežilo oz. onemogočilo interpretacijo in uporabno vrednost rezultatov na podlagi izkušenj iz vsakodnevnega življenja, saj gama žarkom nismo izpostavljeni, nikakor pa ne na razdalji manjši od enega centimetra.

Spreminjala se je tudi absorbanca vzorcem kontrolnega poskusa, kljub temu da so bili izpostavljeni enakim okolijskim dejavnikom, edina spremenljivka je bila odsotnost dodatnega obsevanja. Iz teh podatkov lahko sklepamo, da na biološke materiale vpliva tudi naravna svetloba, čeprav je vir (Sonce) le-te od zemeljskega površja oddaljen skoraj 150 milijonov kilometrov, seva pa z močjo okoli  $1000 \frac{W}{m^2}$  (Kerr, 2019). Degradaciji proteinov, ki so izpostavljeni le sončevemu sevanju (v očesu, koži ...) se nikakor ne moremo izogniti, četudi elektronske naprave popolnoma izločimo iz lastnega življenja, kar pa dandanes zaradi načina življenja praktično ni mogoče. Negativni vpliv ekranov, ki oddajajo modro svetlobo lahko nekoliko znižamo z uporabo ti. blue blockerjev oz. filtrov, ki blokirajo sevanje modre svetlobe. Le-ti se lahko namestijo direktno na ekran ali pa na predmete za izboljšanje vida, kot so očala ali kontaktne leče.

Pri vzorcih kolagena I je največja razlika v absorbancah med obsevanimi in kontrolnim vzorci znašala le 0,003 po celotnem tednu obsevanja. Do degradacije materiala je sicer prišlo, vendar v nizkih velikostnih razredih. Razlogi za to so kratek čas obsevanja, svetlobno sevanje s premajhno energijsko vrednostjo in nizka jakost sevanja. Rezultati izvedenega eksperimenta s strani Jariashvillija in kolegov iz leta 2012, v katerem so obsevali kolagen I, ki so ga pridobili iz tetiva podgane, obsevali z UV svetlobo

pri 254 nm valovne dolžine, nakazujejo, da nizko valovno sevanje vodi do obsežnega cepljenja peptidnih vezi. Po 17 urah obsevanja sekundarne zgradbe ni bilo več moč določiti. Rezultate so pridobili z uporabo SDS-PAGE metode oz. poliakrilamidne gelske elektroforeze v prisotnosti natrijevega lavrilsulfata (Jariashvili, 2012). Sklepamo lahko, da je tudi v našem poskusu prišlo do cepljenja peptidnih vezi med aminokislinami, vendar v manjšem obsegu, saj je naše svetlobno valovanje imelo nižjo energijsko vrednost. Ko kolagen zaradi prekinitve peptidnih vezi razpade, kot tak ne opravlja več bioloških (strukturnih) funkcij (Ricard-Blum, 2011).

Prav tako je bila tudi vzorci želatine razlika v absorbanci med obsevanimi in kontrolnimi nizka, znašala je 0,004 Au, kar je le nekoliko več kot pri kolagenu I. Ker je razlika nizka ne moremo sklepati, da je pomembna, saj ne moremo popolnoma izključiti morebitnih napak pri poskusu. Optične spremembe materiala so bile izmerjene v majhni vrednosti. Razlogi so enaki kot pri kolagenu; nizka energija svetlobnega sevanja, nizka jakost svetila in prekratek čas obsevanja. Literatura opisuje več poskusov obsevanja želatine, ki se med sabo razlikujejo po vrsti sevanja. V primerjavi materiala po obsevanju z gama žarki in EB (electron beam) sevanjem so merili spremembe v viskoznosti pri določeni temperaturi, ki so bile vidne, vendar primerljive za obe vrsti sevanja. Obe omenjeni vrsti sevanja imata zelo visoko energijsko vrednost, precej višjo od sevanja modre svetlobe, ki je bila uporabljena v našem eksperimentu. V nadaljnji študiji so se osredotočili na spremembe v spojini želatine in polisaharidov, ki jih povzroča ionizirajoče sevanje. Rezultati so pokazali, da je prišlo do tvorjenja kompleksov med proteini in polisaharidi. Do spremembe v želatini je prišlo zaradi intramolekularnega križanja znotraj gela, ki je naraščala s količino energije, ki ji je bil material izpostavljen (Bessho, 2006). Ne moremo trditi, da je tudi v našem eksperimentu prišlo do enakih strukturnih sprememb, saj je naša svetloba vsebovala manj energije. Če bi eksperiment podaljšali za daljše časovno obdobje, bi morebitno povečanje razlik lažje ovrednotili. Pričakovali smo, da bo razlika v absorbanci med obsevanimi in kontrolnimi vzorci pri kolagenu višja kot pri želatini, saj je želatina strukturno že razbita na manjše aminokislinske dele, ki niso več funkcionalni kot pri kolagenu, je pa tudi bolj transparentna, kar zmanjšuje absorbanco. Dodatno, pred izvedbo poskusa smo želatino skuhali po navodilih proizvajalca tik do vretja, iz česar lahko sklepamo, da je prišlo še do dodatne denaturacije in cepljenja peptidnih vezi zaradi toplotne energije. Z daljšim eksperimentom bi tudi razlike med kolagenom in želatino lažje primerjali in z večjo gotovostjo trdili, kateri material degradira hitreje oz. intenzivneje.

Razlike v absorbanci med obsevanimi in kontrolnimi vzorci preparata leč prašičjih oči je po enem tednu obsevanja znašala največ izmed vseh preučevanih bioloških materialov, in sicer 0,100 Au. Če bi podaljšali čas obsevanja, izbrali intenzivnejše svetilo in nižje valovno dolžino, bi razlika v absorbanci



bila še izrazitejša, kar je razvidno iz prej predstavljenih poskusov. Lečo gradijo beljakovine, večinski delež pripada kolagenom in kristalinom, kar pomeni, da je istočasno degradiralo več različnih bioloških materialov, ne le kolagen, kot v enem izmed naših poskusov. Denaturacija in posledično disfunkcionalnost lečnih beljakovin vodi v zameglitev le-te, čemur pravimo siva mrena. Za čas trajanja našega poskusa kvalitativna razlika v motnosti preparatov ni bila zaznana, kar lahko pripišemo kratkemu časovnemu intervalu obsevanja. Siva mrena se pri ljudeh začne pojavljati kasneje v starosti, zato enotedensko obsevanje z modro svetlobo ni dovolj. Na slabšanje prosojnosti leče negativno vpliva tudi oksidativni stres. Lutein in zeksantin sta edina predstavnika karotenoidov v leči, funkcija obeh pa je absorbcija modre svetlobe in posledično zaščita ostalih proteinov, lipidov in DNA molekul v leči pred oksidacijo (Zhao, 2018).

Že opravljenih eksperimentov, ki bi očesno lečo ali preparat le-te izpostavili svetlobnemu sevanju med prebiranjem literature nismo zasledili, smo pa zasledili raziskave, ki so preučevale nagnjenost k očesnim obolenjem pri osebah, ki so rentgenskemu sevanju pogosteje izpostavljene (osebje intervencijske kardiologije in otroci med procesom CT angiografije). Pri prvih so opazovali spremembe ne leči in jih primerjali s časom izpostavljenosti sevanju. Zameglitev leče je bila opažena pri polovici oseb, ki so bili rentgenskim žarkom izpostavljeni v povprečju več let, kar je občutno več od časa trajanja našega eksperimenta (Ciraj-Bjelac, 2010). V drugem primeru so med otroci, ki so imeli diagnozo retinoblastoma, merili količino energije, ki so ji bolniki izpostavljeni pri CT posegih. Ugotovili so, da je prag za nastanek katarakte presežen že po opravljenem osmem tretmaju (Obesso, 2019). Rezultati obeh raziskav za našo niso posebej relevantni, saj gre za obsevanje z večjo energijo v daljšem časovnem intervalu, sklepamo pa lahko, da bi v daljšem času prišlo do večje degradacije preparata leč prašičjih oči.

Razlika v absorbanci med obsevanimi in kontrolnimi vzorci preparata steklovine prašičjih oči je po enem tednu obsevanja znašala 0,077, kar je primerljivo s preparatom leč oči istovrstnih oseb. Tudi v tem primeru velja, da bi bile razlike v absorbanci večje, če bi intenzivnejšemu viru svetlobe z nižjo valovno dolžino za dlje časa izpostavili isti material. Steklovina se s časom stara in mestoma zgošča, kar slabša kvaliteto vida. Kvalitativne razlike zgoščevanja preparata za čas trajanja eksperimenta niso bile opazne. 99 % steklovine gradi voda, poleg nje pa še kolagen in hialuronska kislina. Ker jo sestavlja manjši delež proteinov kot lečo, je nižja razlika v absorbanci pričakovana, saj je na voljo manj materiala, ki bi lahko denaturiral oz. kako drugače spremenil svojo strukturo in posledično funkcijo zaradi povečane količine energije. Zgoščevanje leče zaradi zunanjih okolijskih dejavnikov vodi v spremembe lomnega količnika le-te, kar je problematično, saj se svetlobni žarki po prehodu iz zraka

do steklovine zaradi drugačnega lomnega količnika lomijo drugače in slika posredno ne nastaja več na mrežnici (Kovačič, 2003). Literatura navaja, da je med razlogi za to tudi svetlobno sevanje vidnega spektra, saj povzroča konformacijske spremembe makromolekul v steklovini, ki posledično vplivajo na disociacijo kolagena in hialurona (Sebag, 2008). Tudi v našem primeru lahko sklepamo na disociacijo kolagena in hialurona, saj je v vidnem spektru modra svetloba energijsko skoraj najbolj bogata, bolj je le še vijolična.

Možnih virov napak v opravljenem eksperimentu ni veliko. Izpostaviti je potrebno pojavnost mehurčkov v uporabljenih bioloških materialih, ki vplivajo na merjenje absorbance. Pri želatini in preparatu steklovine se niso pojavljali, bolj problematična sta bila kolagen I in preparat leč. Pri prvem so se mehurčki pojavljali pri samem pipetiranju, ki pa smo jih lahko obvladovali in odstranili. V preparatu leč prašičjih oči se pri nekaj vzorcih mehurčkom nismo mogli izogniti, saj zaradi majhnega števila leč preparata nismo mogli popolnoma homogenizirati. Take vzorce smo iz analize rezultatov izločili, preprečili pa bi jih lahko z večjim številom leč, ki bi omogočalo popolno homogenizacijo preparata. Druga pomanjkljivost je bila prosojnost preparata steklovine, saj se prosojni in neprosojni materiali razlikujejo v absorbanci. Ob izoliranju le-te je ni bilo mogoče ločiti od ciliarnika, ki je črne barve in je bil prisoten v nekaj vzorcih, ki pa smo jih iz analize rezultatov izločili. Preventivno bi lahko ciliarnik ločili od steklovine z uporabo centrifuge, z uporabo katere bi se ciliarnik posedel na dno, preparat steklovine pa bi pipetirali pri vrhu.

Uporabljena metoda spektroskopije v vidnem delu spektra se je izkazala za dobro, saj te metode nismo zasledili v nobeni literaturi za določanje sprememb v strukturi beljakovin. Za reprezentativne rezultate omenjena metoda potrebuje večje število vzorcev, kar posledično vpliva na časovno bolj potratno obdelavo podatkov, saj je vsaka skupina štela 48 vzorcev analiziranih pri 80 valovnih dolžinah po vsaki analizi s spektrometrom, kar je skupno zneslo 61 440 podatkov o absorbancah.

## 5. ZAKLJUČEK

---

Človeško čutilo za vid, oko, je pretežno zgrajeno iz različnih beljakovin, ki so zaradi vsakodnevne izpostavljenosti različnim vrstam sevanja in drugim okolijskim dejavnikom bolj ali manj podvržene intenzivni denaturaciji in drugim strukturnim spremembam, ki onemogočajo njihovo osnovno biološko funkcijo, posledično pa je ogrožena kvaliteta vida. Svetlobnim žarkom najbolj izpostavljene strukture so tiste, skozi katere grejo žarki neposredno, to so roženica, leča in steklovina. V slednjih dveh so v veliki meri prisotni kolageni, tudi tip I. Različica kolagena je želatina, saj nastane s hidrolizo le-tega.

V raziskovalni nalogi smo se posvetili spremembam absorbance pri kolagenu I, želatini ter preparatoma iz leč in steklovine prašičjih oči, kot posledica sevanja modre svetlobe, ki jo v večinskem deležu sevajo vsi ekrani elektronskih naprav, katerim v sodobnem svetu posvečamo veliko časa vsakodnevno. Ker je modra svetloba kratko valovna je njena energijska vrednost skoraj največja izmed barv v vidnem spektru. V eksperimentu smo ugotovili, da modra svetloba vpliva na spremembo v absorbanco bioloških materialov, intenzivneje v daljših časovnih intervalih. Ker smo kontrolirali volumen vseh vzorcev, izpostavljeni pa so bili istim okolijskim dejavnikom (razen sevanje), lahko zaključimo, da so ugotovljene spremembe, čeprav ne znatne, posledica svetlobnega sevanja.

Dobljene rezultate težko primerjamo z rezultati že opravljenih eksperimentov drugih avtorjev, saj nismo našli članka, ki bi opisoval identično metodo. Obstoječa literatura se razlikuje v uporabljeni svetlobi, saj so za obsevanje uporabili nižje valovno UV sevanje, ki je del nevidnega dela svetlobnega spektra elektromagnetnega valovanja ali celo gama in X žarke ter tudi ionizirajoče sevanje. Pri obsevanju kolagena I z UV svetlobo je prišlo do popolne spremembe terciarne strukture že po 17 urah obsevanja, kar je smiselno, saj vsebuje višje energijske vrednosti. Prav tako nismo našli vira, ki bi svetlobnemu sevanju izpostavil preparat leč in steklovine očesa. Raziskave, ki so obsegale popisovanje sprememb na leči in vivo, torej pri ljudeh, ki so sevanju pogosteje izpostavljeni, so bile izvedene za več let obsevanja, kar ni mogoče primerjati z našim enotedenskim obsevanjem preparatov iz leč in steklovine. Prav tako ni nihče v prebrani literaturi za določanje strukturnih sprememb uporabil spektroskopije, temveč zahtevnejše in nam nedostopne metode, kot so CD (cirkularni dikroizem), SDS-PAGE elektroforeza, opazovanje pod površinskim elektronskim mikroskopom in druge.

Kar zadeva skupno primerjavo z že izvedenimi eksperimenti lahko torej zaključimo, da je tako tistim kot tudi našemu skupno, da je v vseh bioloških materialih prišlo do sprememb v strukturi vzorcev, ne glede na material ali metodo ugotavljanja le-te.

Glede na rezultate smo potrdili prvo hipotezo, ki je predvidevala različno veliko absorbanco pri različnih bioloških materialih. Tako vrednost absorbance kot tudi razlika med obsevanimi in kontrolnimi vzorci se razlikuje med posameznimi materiali, kar je razvidno iz grafov, ki prikazujejo rezultate eksperimenta. Sklepamo lahko, da njihova degradacija poteka različno hitro tudi v človeškem očesu, kar pripisujemo različni strukturi posameznega materiala in posledično dovzetnosti za spremembe le-tega.

Drugo hipotezo, ki je predvidevala večjo razliko v absorbanci med obsevanimi in kontrolnimi vzorci pri kolagenu kot želatini zaradi kompleksnejše proteinske zgradbe kolagena, smo ovrgli, saj je bila največja razlika pri želatini za 0,001 večja od te pri kolagenu. Zaradi prekratkega časa obsevanja in minimalne razlike ni mogoče zagotovo govoriti o trendu, ki bi nakazoval, da je kolagen I strukturnim spremembam povzročenim zaradi svetlobnega sevanja bolj podvržen kot želatina.

Tretja hipoteza je predvidevala večjo razliko v absorbanci med obsevanimi in kontrolnimi vzorci pri preparatu leč prašičjih oči kot pri preparatu iz steklovine, saj v slednji proteini predstavljajo manj kot 1 % vseh snovi, medtem ko je leča skoraj v celoti zgrajena iz proteinov (kolageni, kristalini, laminin ...). To hipotezo smo potrdili, saj je bila razlika v absorbanci med obsevanimi in kontrolnimi vzorci pri preparatu iz leč višja za 0,023 Au. Za neizpodbitno določljiv trend bi morali podaljšati čas obsevanja in izbrati energijsko bogatejšo svetlobno sevanje.

Raziskovalno nalogo bi lahko nadaljevali in razvijali naprej. V prihodnje bi vsekakor bilo potrebno podaljšati časovni interval obsevanja ter meritve opravljati vmes. V eksperiment bi lahko vključili druge elektronske ekrane (pametni telefon in televizija) in primerjali spremembe v strukturi materialov pri vsakem ekranu. V literaturi bi lahko poiskali podatke o reverzibilnosti strukturnih sprememb v očesnih materialih in o kritičnih vrednosti parametrov, ki so s sevanjem povezani, npr. čas izpostavljenosti, oddaljenost od vira sevanja ... Opravili bi lahko anketo, ki bi pokazala koliko časa dnevno v povprečju preživijo ljudje v našem okolju, povprašali bi tudi o problemih z vidom, ki jih morebiti zaznavajo. Testirali bi lahko različne filtre modre svetlobe, ki jih najdemo na tržišču in našli najbolj učinkovitega, saj bi z uporabo le-tega lahko zmanjšali vpliv modro svetlobnega sevanja na strukturne spremembe materialov v očeh. Povečali bi lahko nabor preučevanih bioloških materialov, v prvi vrsti bi bilo smiselno obsevati še kristaline, ki skrbijo za transparentnost leče in kolagen IV, ki je glavna komponenta lečne kapsule. Dodali bi lahko tudi npr. laminin, karotenoide iz leče (lutein in zeksatin), preparat iz roženice itd., saj so naštetih biološki materiali prav tako izpostavljeni svetlobnemu sevanju. Zanimivo in smiselno bi bilo preizkusiti tudi druge metode določanja strukturnih sprememb, o katerih

smo lahko le brali v strokovnih člankih (CD, SDS-PAGE, DSC, uporaba elektronskega mikroskopa ...), saj bi tako lahko primerjali rezultate, ki nam jih o spremembah beljakovin podajo različne metode.

## 6. DRUŽBENA ODGOVORNOST

---

Vpliv svetlobe na očesno zdravje ljudi je v današnji sodobnosti pereč problem, saj smo priča svetlobnemu onesnaževanju, konstantno smo izpostavljeni raznoraznim ekranom in zaslonom, še posebej v času pandemije, ko je delo pred računalniškim ekranom postalo stalnica v življenju vseh učencev, dijakov in študentov, pa tudi večine zaposlenih odraslih, s tanjšanjem plasti ozona pa smo celo še bolj kot kadarkoli prej izpostavljeni nevarnemu (rakotvornemu in teratogenemu) UV sevanju, ki ga poleg vidne svetlobe oddaja Sonce. Človeštvo si je podredilo naravo z uporabo umetnih svetil, saj smo tako umetno podaljšali dan in si zagotovili boljši izkoristek od celotnega dneva, ne le od naravno osvetljenega dela le-tega. Zaradi razširjene uporabe različnih svetil je poznavanje njihovih negativnih učinkov na naš vidni aparat ključnega pomena, saj gre za najbolj ranljiv in izpostavljen organski sistem človeškega telesa, ko govorimo o svetlobnem sevanju. Z raziskovanjem škodljivih učinkov smo svoj del družbene odgovornosti opravili, zavedamo pa se, da bi bilo potrebno eksperiment večkrat ponoviti in razširiti nabor tako proteinov kot tudi vrst svetlobe, smiselno pa bi bilo vključiti tudi naprave, ki so namenjene blokiranju modre svetlobe in se na trgu pojavljajo vedno pogosteje.

## 7. UPORABLJENA LITERATURA

---

Abram, V., Cigić, B., Poklar Urih, N., Skrt, M. (2006): Eksperimentalna biokemija za študente biotehnologije in živilske tehnologije. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo.

Allen, M. D. (2010). A Comparison of Analytical Methods for Quantifying Denatured Whey Proteins and Their Correlation to Solubility.

Augusteyn R. C. (2004). alpha-crystallin: a review of its structure and function. *Clinical & experimental optometry*, 87(6), 356–366.

Azizi, M., Golmohammadi, R., & Aliabadi, M. (2016). Comparative Analysis of Lighting Characteristics and Ultraviolet Emissions from Commercial Compact Fluorescent and Incandescent Lamps. *Journal of research in health sciences*, 16(4), 200–205.

Barnard, K., Burgess, S. A., Carter, D. A., & Woolley, D. M. (1992). Three-dimensional structure of type IV collagen in the mammalian lens capsule. *Journal of structural biology*, 108(1), 6–13.

Barolet, D., Christiaens, F., & Hamblin, M. R. (2016). Infrared and skin: Friend or foe. *Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology*, 155, 78–85.

Behar-Cohen, F., Martinsons, C., Viénot, F., Zisis, G., Barlier-Salsi, A., Cesarini, J. P., Enouf, O., Garcia, M., Picaud, S., & Attia, D. (2011). Light-emitting diodes (LED) for domestic lighting: any risks for the eye?. *Progress in retinal and eye research*, 30(4), 239–257.

Bessho, M; Kojima, T.; Furuta, M. et al. "Radiation-induced cross-linking of gelatin hydrogel by using  $\gamma$ -rays". *Nippon Kagakkai Koen Yokoshu*, 86, 540 (2006).

Bianciotto C, Shields CL, Pirondini C, Mashayekhi A, Furuta M, Shields JA. Vitreous hemorrhage after plaque radiotherapy for uveal melanoma. *Retina*. 2012 Jun;32(6):1156-64. doi: 10.1097/IAE.0b013e3182340cc1. PMID: 22366905.

Cheng, C., Parreno, J., Nowak, R. B., Biswas, S. K., Wang, K., Hoshino, M., Uesugi, K., Yagi, N., Moncaster, J. A., Lo, W. K., Pierscionek, B., & Fowler, V. M. (2019). Age-related changes in eye lens biomechanics, morphology, refractive index and transparency. *Aging*, 11(24), 12497–12531.

Ciraj-Bjelac, O., Rehani, M. M., Sim, K. H., Liew, H. B., Vano, E., & Kleiman, N. J. (2010). Risk for radiation-induced cataract for staff in interventional cardiology: is there reason for concern?. *Catheterization and cardiovascular interventions : official journal of the Society for Cardiac Angiography & Interventions*, 76(6), 826–834.

Constanzo, L. (2018): *Physiology*. Philadelphia, PA: Elsevier.

Cummings, C. F., & Hudson, B. G. (2014). Lens capsule as a model to study type IV collagen. *Connective tissue research*, 55(1), 8–12.

Danysh, B. P., & Duncan, M. K. (2009). The lens capsule. *Experimental eye research*, 88(2), 151–164.

Ellwein, L. B., & Kupfer, C. (1995). Strategic issues in preventing cataract blindness in developing countries. *Bulletin of the World Health Organization*, 73(5), 681–690.

- Forbes M. D. (2015). What We Talk About When We Talk About Light. *ACS central science*, 1(7), 354–363.
- Haslbeck, M., Peschek, J., Buchner, J., & Weinkauff, S. (2016). Structure and function of  $\alpha$ -crystallins: Traversing from in vitro to in vivo. *Biochimica et biophysica acta*, 1860(1 Pt B), 149–166.
- Horwitz J. (2000). The function of alpha-crystallin in vision. *Seminars in cell & developmental biology*, 11(1), 53–60.
- Japelj, J. (2020). Barve na astronomskih slikah. *Kvarkadabra*.
- Jariashvili, K., Madhan, B., Brodsky, B., Kuchava, A., Namicheishvili, L., & Metreveli, N. (2012). UV damage of collagen: insights from model collagen peptides. *Biopolymers*, 97(3), 189–198.
- Ji, F., Jung, J., Koharudin, L. M., & Gronenborn, A. M. (2013). The human W42R  $\gamma$ D-crystallin mutant structure provides a link between congenital and age-related cataracts. *The Journal of biological chemistry*, 288(1), 99–109.
- Kaplan H. J. (2007). Anatomy and function of the eye. *Chemical immunology and allergy*, 92, 4–10.
- Kerr, E. (2019). *The Future of Solar is Bright*. Harvard University. The Graduate School of Arts and Sciences.
- Kisling A, Lust RM, Katwa LC. What is the role of peptide fragments of collagen I and IV in health and disease? *Life Sci*. 2019 Jul 1;228:30-34. doi: 10.1016/j.lfs.2019.04.042. Epub 2019 Apr 17. PMID: 31004660.
- Kovačič, B., Pihlar, A. (2003): *Anatomija in fiziologija očesa: učbenik za predmet Anatomija in fiziologija očesa v 3. letniku programa Tehnik-optik*. Velenje: Modart
- Kumar, N. (2004): *Comprehensive Physics*. New Delhi: Laxmi Publications (P) LTD.
- Leung, T. W., Li, R. W., & Kee, C. S. (2017). Blue-Light Filtering Spectacle Lenses: Optical and Clinical Performances. *PLoS one*, 12(1), e0169114.
- Lin, A. H., Zitnay, J. L., Li, Y., Yu, S. M., & Weiss, J. A. (2019). Microplate assay for denatured collagen using collagen hybridizing peptides. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*, 37(2), 431–438.
- Mandrachia, B., Finizio, A., Ferraro, P., (2015). *Cataract Vision Mimicked By Means Of Protein Denaturation In Egg Albumen*.
- Maverakis, E., Miyamura, Y., Bowen, M. P., Correa, G., Ono, Y., & Goodarzi, H. (2010). Light, including ultraviolet. *Journal of autoimmunity*, 34(3), J247–J257.
- Mienaltowski, M. J., & Birk, D. E. (2014). Structure, physiology, and biochemistry of collagens. *Advances in experimental medicine and biology*, 802, 5–29.
- NIH. National Eye Institute. (2020). *Cataract Tables*.
- Obesso, A., Alejo, L., Huerga, C., Sánchez-Muñoz, F., Corredoira, E., Fernández-Prieto, A., Frutos, R., Marín, B., Garzón, G., Peralta, J., Ubeda, C., & Guibelalde, E. (2019). Eye lens radiation exposure in paediatric interventional treatment of retinoblastoma. *Scientific reports*, 9(1), 20113.

- Pain RH. Protein folding, denaturation and stability. *Biochem Soc Trans.* 1983 Jan;11(1):15-6. doi: 10.1042/bst0110015. PMID: 6825910.
- Perikala, M., & Bhardwaj, A. (2019). Highly Stable White-Light-Emitting Carbon Dot Synthesis Using a Non-coordinating Solvent. *ACS omega*, 4(25), 21223–21229.
- Pourang A, Tisack A, Ezekwe N, Torres AE, Kohli I, Hamzavi IH, Lim HW. Effects of visible light on mechanisms of skin photoaging. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2021 Sep 29. doi: 10.1111/phpp.12736. Epub ahead of print. PMID: 34585779.
- Read, S. A., Collins, M. J., & Carney, L. G. (2007). A review of astigmatism and its possible genesis. *Clinical & experimental optometry*, 90(1), 5–19.
- Read, S. A., Collins, M. J., & Vincent, S. J. (2015). Light Exposure and Eye Growth in Childhood. *Investigative ophthalmology & visual science*, 56(11), 6779–6787.
- Remón, L., Monsoriu, J. A., & Furlan, W. D. (2017). Influence of different types of astigmatism on visual acuity. *Journal of optometry*, 10(3), 141–148.
- Ricard-Blum S. (2011). The collagen family. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 3(1), a004978.
- Robinett, D. A., & Kahn, J. H. (2008). The physical examination of the eye. *Emergency medicine clinics of North America*, 26(1), 1–v.
- Schafheimer, N., & King, J. (2013). Tryptophan cluster protects human  $\gamma$ D-crystallin from ultraviolet radiation-induced photoaggregation in vitro. *Photochemistry and photobiology*, 89(5), 1106–1115.
- Schmitt, C., & Hockwin, O. (1990). The mechanisms of cataract formation. *Journal of inherited metabolic disease*, 13(4), 501–508.
- Sebag, Jerry. (2008). Vitreoschisis. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology = Albrecht von Graefes Archiv für klinische und experimentelle Ophthalmologie.* 246. 329-32. 10.1007/s00417-007-0743-x.
- Shiels, A., & Hejtmancik, J. F. (2019). Biology of Inherited Cataracts and Opportunities for Treatment. *Annual review of vision science*, 5, 123–149.
- Shoulders, M. D., & Raines, R. T. (2009). Collagen structure and stability. *Annual review of biochemistry*, 78, 929–958.
- Sidjanin, D., Zigman, S., & Reddan, J. (1993). DNA damage and repair in rabbit lens epithelial cells following UVA radiation. *Current eye research*, 12(9), 773–781.
- Sionkowska, A. (2000). Modification of collagen films by ultraviolet irradiation. *Polymer Degradation and Stability*, 68, 147-151.
- Sliney D. H. (2016). What is light? The visible spectrum and beyond. *Eye (London, England)*, 30(2), 222–229.
- Slingsby, C., & Clout, N. J. (1999). Structure of the crystallins. *Eye (London, England)*, 13 ( Pt 3b), 395–402.
- Thompson, J., & Lakhani, N. (2015). Cataracts. *Primary care*, 42(3), 409–423.



- Tosini, G., Ferguson, I., & Tsubota, K. (2016). Effects of blue light on the circadian system and eye physiology. *Molecular vision*, 22, 61–72.
- Truscott, R. J., & Friedrich, M. G. (2016). The etiology of human age-related cataract. Proteins don't last forever. *Biochimica et biophysica acta*, 1860(1 Pt B), 192–198.
- Tsai, S. R., & Hamblin, M. R. (2017). Biological effects and medical applications of infrared radiation. *Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology*, 170, 197–207.
- Uwineza, A., Kalligeraki, A. A., Hamada, N., Jarrin, M., & Quinlan, R. A. (2019). Cataractogenic load - A concept to study the contribution of ionizing radiation to accelerated aging in the eye lens. *Mutation research*, 779, 68–81.
- Vaes, B., Van Keer, K., Struelens, L., Schoonjans, W., Nijs, I., Vandevenne, J., & Van Poucke, S. (2017). Eye lens dosimetry in anesthesiology: a prospective study. *Journal of clinical monitoring and computing*, 31(2), 303–308.
- Wang, Xiaohong & Ao, Qiang & Tian, Xiaohong & Fan, Jun & Tong, Hao & Hou, Weijian & Bai, Shuling. (2017). Gelatin-Based Hydrogels for Organ 3D Bioprinting. *Polymers*. 9. 401. 10.3390/polym9090401.
- Wu, Y., & Ge, G. (2019). Complexity of type IV collagens: from network assembly to function. *Biological chemistry*, 400(5), 565–574.
- Xia, Z., Yang, Z., Huynh, T. et al. UV-radiation Induced Disruption of Dry-Cavities in Human  $\gamma$ D-crystallin Results in Decreased Stability and Faster Unfolding. *Sci Rep* 3, 1560 (2013).
- Zalani, R. (2021). Screen Time Statistics 2021: Your Smartphone Is Hurting You.
- Zhao, Z. C., Zhou, Y., Tan, G., & Li, J. (2018). Research progress about the effect and prevention of blue light on eyes. *International journal of ophthalmology*, 11(12), 1999–2003.