

MODIFICAZIONI RETINICHE MORFO-FUNZIONALI A LUNGO TERMINE NELLA DEGENERAZIONE MACULARE DI TIPO SECCO IN TERAPIA CON SUPPLEMENTAZIONE ORALE A BASE DI LUTEINA, ZEAXANTINA, DHA MICROALGALE, TOCOTRIENOLI, VITAMINE E MINERALI (MACULIFE®) PER 24 MESI

Monica VARANO, Antonluca BONINFANTE, Lucia ZICCARDI, Francesco ODDONE, Paola GIORNO, Susanna LIOI, Valter VALLI FIORE, Daniele DE GERONIMO, Vincenzo PARISI, Mariacristina PARRAVANO

Fondazione G.B. Bietti-IRCCS

ABSTRACT

Objectives: To evaluate the influence of a long-term oral supplementation with Lutein, Zeaxanthin, microalgal DHA, tocotrienols, Vitamins and Minerals (Maculife®, Farmigea, Italy) on morpho-functional parameters in patients with dry-AMD.

Methods: 24 months prospective controlled clinical study. 41 patients (75 eyes) with dry-AMD treated with Maculife® (group 1) and 20 patients (40 eyes) with dry-AMD not taking any oral supplements (group 2, control) were considered in the study. All patients underwent a complete ophthalmic examination including visual acuity, contrast sensitivity, anterior segment and midriatic stereoscopic fundus examination with slit-lamp biomicroscopy, microperimetry and spectral domain OCT at baseline, 6, 12, 18 and 24 months. At the baseline visit, at 12 and 24 months all patients performed multifocal-ERG (mf-ERG) and color, autofluorescence and scanning laser

ophthalmoscope in the retro-mode were acquired. **Results:** Visual acuity, contrast sensitivity, retinal sensitivity and central retinal thickness were similar between the two groups at the baseline visit and were stable in both groups in all the follow-up visits. At the mf-ERG examination the mean values in the peripheral rings (2 and 3) were stable in both groups during the follow up. While at the central ring (1) in the treated group mf-ERG mean values were stable, in the control group a trend towards lower values mainly in the second year of the study was observed.

Conclusions: The use of a daily oral supplementation with Lutein, Zeaxanthin, microalgal DHA, tocotrienols, Vitamins and Minerals allowed a stabilization of the morphological and functional parameters compared to the control group during the 24 months follow-up.

Ottica fisiopat 2013; XVIII: 39-47

INTRODUZIONE E OBIETTIVO

La degenerazione maculare legata all'età (DMLE) è la più frequente causa di cecità negli individui al di sopra dei 50 anni nei paesi industrializzati. In uno studio è stato riportato che la forma più avanzata della DMLE è presente approssimativamente nel 5% dei pazienti al di sopra dei 65 anni e nel 12% dei pazienti al di sopra degli 80 anni¹. Le due forme cliniche più frequenti di DMLE sono quella secca e quella neovascolare.

La forma secca è caratterizzata dalla presenza in sede maculare di drusen, ovvero, accumuli di lipofuscina ed altre

sostanze derivanti dal catabolismo dei fotorecettori, anomalie dell'epitelio pigmentato quali iper ed ipopigmentazioni e aree di atrofia corio-retinica. Fino ad oggi la terapia di tale forma si è basata sull'implementazione alimentare di integratori a base di sostanze anti-ossidanti e su norme legate allo stile di vita come il proteggersi dai raggi ultravioletti, non fumare ed avere un regime dietetico vario e ricco di sostanze antiossidanti^{2,3}. I pazienti affetti dalla forma atrofica sviluppano, gradualmente, una riduzione dell'acuità visiva associata o meno alla presenza di scotomi centrali o paracentrali⁴. Numerosi sono gli studi in corso

AUTORE CORRISPONDENTE

Fondazione G.B. Bietti-IRCCS
Via Livenza, 3
00198 Roma
Tel. 06/85356727
06/8552055
Fax 06/84242333
e-mail info@fondazionebietti.it

PAROLE CHIAVE:

DMLE, Drusen, Maculife, OCT, microperimetria, mfERG.

KEY WORDS:

AMD, Drusen, Maculife, OCT, Microperimetry, mfERG.

riguardanti i nuovi approcci terapeutici per la DMLE atrofica. I più interessanti sono quelli che valutano gli effetti dell'ozono terapia come agente anti-ossidante, l'assunzione di Copaxone (Glatiramer acetato) per via sottocutanea, normalmente utilizzato nella terapia della sclerosi multipla oppure l'impianto di cellule staminali di epitelio pigmentato retinico⁵.

È inoltre in studio l'utilizzo di farmaci neuroprotettori quali il fattore ciliare neurotrofico-CNTF, la brimonidina tartrato, il tandospirone e gli anticorpi anti-beta-amiloide, volti a preservare la funzione maculare prevenendo l'apoptosi delle cellule dell'epitelio pigmentato retinico e dei fotorecettori e l'utilizzo di farmaci modulatori del ciclo visivo come il Fenretinide e l'ACU-4429, che rallentano l'attività dei fotorecettori e quindi il loro carico metabolico limitando così l'accumulo di sostanze di rifiuto come la lipofuscina⁶.

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare l'influenza a lungo termine di una supplementazione orale a base di Luteina, Zeaxantina, DHA microalgale, tocotrienoli, Vitamine e Minerali (Maculife®, Farmigea, Italia) su parametri morfo-funzionali in pazienti affetti da DMLE di tipo secco.

METODOLOGIA

È stato condotto uno studio clinico prospettivo controllato della durata di 24 mesi su pazienti con DMLE di tipo secco, categoria 3 della classificazione AREDS, presso la Fondazione G.B.Bietti-IRCCS, nel periodo compreso tra maggio 2010 e ottobre 2012.

Il protocollo dello studio ha aderito

ai principi della Dichiarazione di Helsinki ed è stato approvato dal comitato etico ed ogni paziente ha firmato un consenso informato prima dell'arruolamento.

I principali criteri di inclusione sono stati: età > 50 anni, pazienti con DMLE secca categoria 3 AREDS, acuità visiva > 20/40, assenza di aree di atrofia corioretinica > 200 μ m, supplementazione orale in corso con Maculife® o assenza di alcuna supplementazione orale.

I criteri di esclusione, invece: errore refrattivo sferico > \pm 6 D, cilindrico > \pm 3 D, presenza di qualsiasi altra patologia retinica attiva o remota diversa dalla DMLE, storia di chirurgia oculare recente (< 3 mesi), opacità dei mezzi diottrici che nell'opinione degli investigatori potesse influenzare negativamente i risultati funzionali.

Quindi sono stati presi in considerazione pazienti già in terapia con integratore a base di Luteina 10 mg, Zeaxantina 2 mg, DHA microalgale da schizochitrium 200 mg, Tocotrienoli 15.50 mg, Vitamina C 70 mg, Vitamina E 10 mg alpha TE, Zinco 22.50 mg, Rame 1000 μ g (Maculife®, gruppo 1) e pazienti che non assumevano alcun integratore (gruppo 2) e seguiti per 24 mesi. Tutti i pazienti inclusi nello studio sono stati sottoposti alla misurazione dell'acuità visiva (AV) con tavole ETDRS a 4 metri (misurazione del numero di lettere lette correttamente), della sensibilità al contrasto (SC) con tavole Pelli-Robson ed esame oftalmologico completo al baseline, a 6, 12, 18 e 24 mesi. Inoltre i pazienti sono stati sottoposti a Microperimetria con microperimetro MP1 (Nidek

Technologies, Padova, Italia) ed esame OCT spectral domain (SD-OCT Spectralis, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany).

La sensibilità retinica media è stata testata utilizzando una griglia di 37 stimoli con valutazione dei 12° centrali (centrati sulla fovea), tempo tra gli stimoli di 1 secondo, dimensione dello stimolo Goldmann III, sfondo bianco settato a 4 asb, con strategia di soglia 4-2 con il primo stimolo proiettato a 15 dB. Inoltre è stata studiata la stabilità di fissazione, sulla base del punto di fissazione preferenziale, e classificata come stabile, instabile e relativamente instabile⁷. In ogni paziente la microperimetria è stata ripetuta due volte in una settimana prima della visita di baseline. In più i pazienti sono stati sottoposti ad un training all'inizio di ogni esame microperimetrico durante il follow-up. Per lo studio tomografico con SD-OCT Spectralis è stato utilizzato il programma di scansione Volume Fast con misurazione dello spessore retinico centrale (area centrale di 1 mm) e di ulteriori 8 campi corrispondenti alle aree ETDRS e scansioni lineari orizzontali e verticali (50 averaged scans) con sistema attivo di eye tracking per ridurre il rumore di fondo e migliorare la qualità delle immagini.

Tutti i pazienti sono stati inoltre valutati al baseline, a 12 e a 24 mesi con elettroretinogramma multifocale (mfERG) (VERIS Clinic 4.9, San Mateo, CA). Lo stimolo visivo e la tecnica di registrazione bioelettrica sono stati già riportati estesamente in precedenti pubblicazioni^{8,9,10,11}.

Nell'analisi delle risposte bioelettriche

con mfERG, ottenute dopo la rimozione automatica di artefatti, è stata esaminata la risposta kernel di primo ordine K1. Sono state inoltre analizzate le averaged response amplitude density (RADs) tra il primo picco negativo N1 ed il primo picco positivo P1 ottenuto in 5 regioni retiniche concentriche anulari (rings) centrate sulla fovea. Quindi sono state analizzate le derivate N1-P1 RADs da 0 a 2.5 gradi (ring 1, R1), da 2.5 a 5 gradi (ring 2, R2), da 5 a 10 gradi (ring 3, R3) da 10 a 15 gradi (ring 4, R4) e da 15 a 20 gradi (ring 5, R5). Le misurazioni mfERG sono state eseguite 3 volte in 3 giorni diversi in ogni paziente con DMLE per controllare la riproducibilità dei risultati ottenuti. La registrazione con i più alti valori R1-R5 N1-P1 RADs è stata considerata per l'analisi statistica. Sono state inoltre acquisite al baseline, a 12 e 24 mesi immagini a colori ed autofluorescenza con Fluorangiografo Topcon TRC 50 DX e HRA2 (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany), Scanning Laser Ophthalmoscope (SLO) con modalità retro-mode (Nidek F10, Padova, Italia)

ANALISI STATISTICA

I dati sono stati descritti come media \pm SD per le variabili continue e le frequenze per le variabili categoriche. Le differenze nei diversi parametri morfologici e funzionali nei diversi follow-up sono state analizzate mediante analisi della varianza (ANOVA). L'analisi è stata eseguita con un'approccio intent-to-treat e nel caso di pazienti persi al follow-up, l'ultima osservazione disponibile è stata

Tabella 1

	Gruppo 1	Gruppo 2	p
Totale occhi arruolati	75 occhi	40 occhi	-
Acuità visiva media (left)	81.29±7.18	79.11±11.57	0.09
Acuità visiva media 24 mesi (left)	80.2±13.12	78.8±11.03	0.08
Sensibilità al contrasto baseline (left)	31.62±2.76	31.86±4.78	0.12
Sensibilità al contrasto 24 mesi (left)	31.3±3.58	31.6±5.36	0.14
Sensibilità retinica media baseline (dB)	14.49±3.63	13.56±4.29	0.08
Sensibilità retinica media 24 mesi (dB)	16.02±2.7	16.05±2.71	0.58
CRT baseline	288.1±31.03	281.5±55.2	0.14
CRT 24 mesi	285.07±31.71	272±40.9	0.44

ripetuta fino a fine studio. Un valore di $p < 0.05$ è stato considerato come statisticamente significativo.

RISULTATI

Sono stati analizzati un totale di 75 occhi di 41 pazienti (22 maschi e 19 femmine; età media 72.43 ± 8.5 anni) con DMLE di tipo secco in terapia con Maculife® (gruppo 1) e un totale di 40 occhi di 20 pazienti (11 maschi e 9 femmine; età media 71.8 ± 8.9 anni) con DMLE di tipo secco non in terapia con integratori (gruppo 2, di controllo). Diciassette occhi (9 pazienti) appartenenti al gruppo 1 e 4 occhi (2 pazienti) appartenenti al gruppo 2 sono usciti dallo studio prima dei 24 mesi. L'analisi statistica è stata condotta sul campione intero dei pazienti utilizzando l'ultimo dato disponibile nel follow-up in caso di visite mancanti (58/75 occhi nel gruppo 1 e 36/40 occhi nel gruppo 2).

L'acuità visiva, la sensibilità al contrasto, la sensibilità retinica e lo spessore retinico centrale sono risultati simili tra i due gruppi alla visita di baseline.

Sia i parametri funzionali quali l'acuità visiva, la sensibilità al contrasto e la sensibilità retinica misurata con la microperimetria che morfologici come lo spessore retinico centrale sono risultati stabili nel corso del follow-up sia nel gruppo 1 che nel gruppo 2 e non sono state rilevate differenze significative tra i 2 gruppi per nessun parametro a nessun punto del follow-up (Tab. 1, Fig. 1, 2). All'esame mfERG non sono state identificate differenze significative nei valori N1-P1 RADs a 24 mesi rispetto al baseline nel ring 1 ($p=0.18$), ring 2 ($p=0.4$), ring 3 ($p=0.22$) per entrambi i gruppi. Analizzando l'andamento dei valori medi nei Ring 2 e 3 è stato possibile evidenziare un trend di stabilità della funzione parafoveale in entrambi i gruppi. Per i valori di RADs nel ring 1, è stata osservata nel gruppo 1 una tendenza alla stabilità durante tutto il periodo di studio; in parallelo nel gruppo 2 si è evidenziata una tendenza alla riduzione dei valori prevalentemente nel secondo anno di studio. Tale risultato tuttavia non ha raggiunto la significatività statistica (Fig. 3).

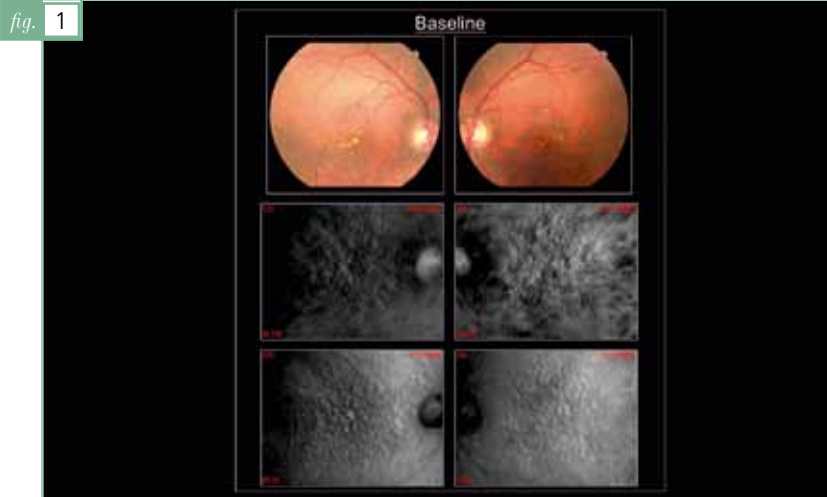


fig.1

Foto a colori e immagini retromode in entrambi gli occhi di un paziente con DMLE di tipo secco in trattamento con supplementazione orale con Maculife®.

fig.

Esame microperimetrico e scansioni SD-OCT in entrambi gli occhi alla baseline e a 24 mesi di un paziente con DMLE di tipo secco in trattamento con supplementazione orale con Maculife®.

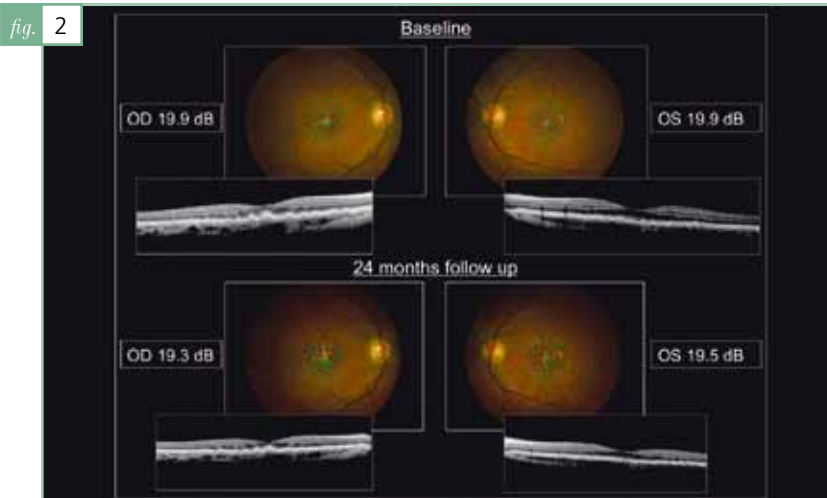


fig. 2

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Questo studio prospettico ha permesso di osservare nella nostra popolazione che i pazienti che hanno assunto la supplementazione orale con Maculife® hanno mostrato una funzionalità retinica stabile associata ad una stabilità morfologica in due anni di follow-up. Interessanti i risultati ottenuti all'ERG multifocale in cui si è osservato un trend di peggioramento dei valori della regione centrale della fovea (R1) nei pazienti con DMLE non trattati rispetto ai pazienti che assumevano la supplementazione orale con Maculife® in cui si è osservata invece una

stabilizzazione dei valori funzionali nel tempo, soprattutto dopo un uso continuato (tra 12 e 24 mesi). Diversi meccanismi biologici sono implicati nella complessa patogenesi della DMLE: questi includono l'invecchiamento cellulare, indicato dall'accumulo di lipofuscina nelle cellule dell'epitelio pigmentato retinico, l'ischemia coroideale e il danno ossidativo. Proprio per contrastare questi meccanismi eziopatogenetici negli ultimi anni, dopo la diffusione dei risultati dello studio AREDS 1, che dimostravano una riduzione del rischio del 25% di sviluppare una forma di DMLE avanzata nella prevenzione secondaria con la supplementazione

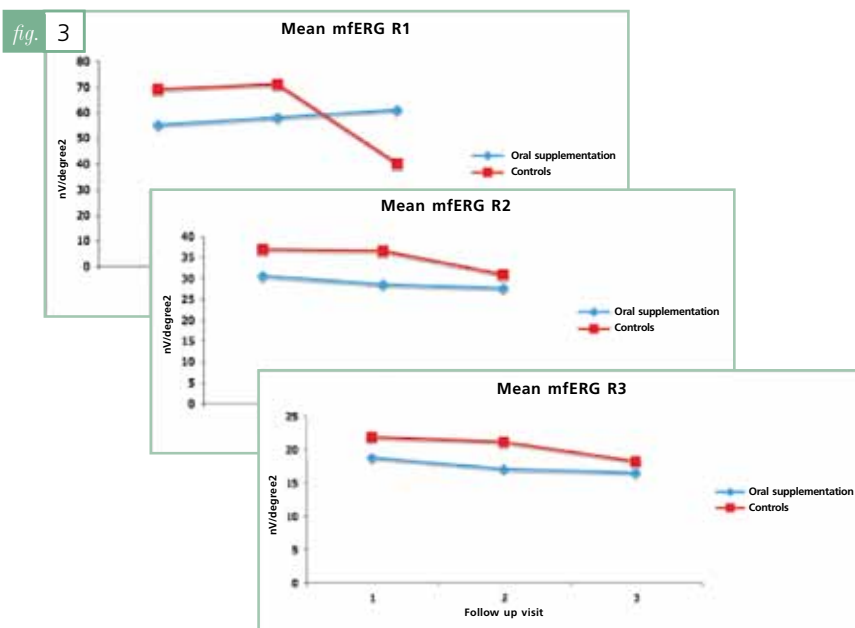


fig. 3
24 mesi
follow-up:
valori medi
mfERG R1,
R2, R3.

di antiossidanti, molto interesse è stato rivolto all'integrazione della supplementazione di pigmenti xantofillici come la luteina e la zeaxantina e gli acidi grassi ω -3. Numerosi reports hanno dimostrato che una dieta ricca sia dell'acido docosaesaenoico (DHA)^{12,13,14} che di luteina e zeaxantina¹⁵ determina una riduzione della progressione della DMLE nelle forme più avanzate. Infatti il DHA, uno dei principali acidi grassi polinsaturi a lunga catena ω -3 (LCPUFA), è un lipide strutturale importante delle membrane del segmento esterno dei fotorecettori. Le proprietà biofisiche e biochimiche del DHA possono influenzare la funzionalità delle membrane fotorecettoriali alterandone la permeabilità, fluidità, spessore, e le proprietà della fase lipidica. Lo stato del DHA tissutale influenza i meccanismi di fototrasduzione del segnale¹⁶. È inoltre il precursore della neuroprotectin D1 (NPD1), che inibisce l'induzione genica pro-infiammatoria mediata dallo stress ossidativo e l'apoptosi con conseguente sopravvivenza dell'epitelio pigmentato

retinico. Inoltre promuove la regolazione omeostatica dell'integrità cellulare durante il rinnovamento dei fotorecettori.

Da ciò il nostro studio ha lo scopo di valutare l'influenza a lungo termine di una supplementazione orale a base di Luteina, Zeaxantina, DHA microalgale, tococrienoli, Vitamine e Minerali (Maculife®, Farmigea, Italia) su parametri morfo-funzionali in pazienti affetti da DMLE di tipo secco. Mentre la misurazione dell'AV rappresenta lo standard utilizzato per valutare l'impatto funzionale di anomalie maculari e seppur utile, rapido, economico e riproducibile, rappresenta solo uno degli aspetti della funzione maculare.

La microperimetria invece è in grado di quantificare la sensibilità maculare in una modalità correlata alle caratteristiche del fondo oculare^{17,18} integrando le informazioni dell'AV con informazioni riguardo il grado e tipo di compromissione funzionale maculare in occhi DMLE con la rispettiva variabilità inter-individuale. Nella nostra popolazione, nonostante la buona acuità visiva,

la sensibilità retinica media, valutata con la microperimetria, è risultata inferiore rispetto alla norma in entrambi i gruppi confermando che nei pazienti con DMLE di tipo secco, le alterazioni morfologiche quali drusen, rimaneggiamento pigmentario e aree di atrofia corioretinica che la caratterizzano, determinano delle alterazioni funzionali importanti anche negli stadi iniziali^{19,20,21}.

Anche i valori di sensibilità retinica valutati con l'mfERG al baseline sono risultati ridotti nei pazienti con DMLE di tipo secco rispetto ai pazienti sani come già precedente dimostrato in letteratura²².

Queste alterazioni funzionali dell'mfERG dipendono verosimilmente dalla disfunzione fotorecettoriale, espressione secondaria di un'alterazione delle cellule dell'epitelio pigmentato retinico.

Questa ipotesi è supportata dall'evidenza di una corrispondente riduzione della sensibilità retinica²³ ed aumento dell'autofluorescenza, dovuta all'accumulo di materiale lipofuscino nelle cellule dell'epitelio pigmentato, segno della disfunzione delle cellule stesse.

Nel nostro studio l'uso di una supplementazione orale a base di antiossidanti, pigmenti maculari e DHA microalgale ha permesso una stabilizzazione a lungo termine dei parametri morfologici e funzionali rispetto al gruppo di controllo. Sebbene l'analisi dei dati elettrofunkionali non abbia dimostrato una differenza significativa tra i due gruppi nei valori dell'mfERG nel ring 1, 2 e 3, l'andamento dei valori medi ha viceversa mostrato

un trend di peggioramento della funzionalità fotorecettoriale foveale espressa dalla riduzione nei valori del mfERG nel ring 1 nel gruppo di controllo prevalentemente durante il secondo anno di studio rispetto alla stabilità degli stessi valori ottenuti nel gruppo che assumeva la supplementazione orale con Maculife®.

Una possibile spiegazione della differenza della valutazione della funzionalità visiva mediante mfERG e microperimetria potrebbe risiedere nella capacità del mfERG di riconoscere le alterazioni precoci associate alle anomalie funzionali degli elementi preganglionici (fotorecettori e cellule bipolari off) e quindi di individuare con maggiore sensibilità i segni di progressione del danno correlato alla DMLE di tipo secco.

In conclusione nel nostro studio l'uso di una supplementazione orale a base di antiossidanti, pigmenti maculari e DHA microalgale prolungata, ha permesso una stabilizzazione dei parametri morfologici e funzionali rispetto al gruppo di controllo nel follow-up a 24 mesi.

Tutti i pazienti hanno riferito una discreta tollerabilità della supplementazione per via orale con Maculife®. I risultati di studi multicentrici randomizzati controllati a lungo termine come quelli dell'AREDS 2 ci daranno conferma sull'utilità dell'uso di supplementazione orale a base di luteina e zeaxantina e acidi grassi ω -3 per periodi prolungati nel tempo nella prevenzione della progressione della DMLE di tipo secco.

RIASSUNTO

Obiettivi: valutare l'influenza a lungo termine di una supplementazione orale a base di Luteina, Zeaxantina, DHA microalgale, tocotrienoli, Vitamine e Minerali (Maculife®, Farmigea, Italia) su parametri morfo-funzionali in pazienti affetti da DMLE di tipo secco.

Procedure di base: è stato condotto uno studio clinico prospettico controllato della durata di 24 mesi su 41 pazienti (75 occhi) con DMLE di tipo secco in terapia con Maculife® (gruppo 1) e su 20 pazienti (40 occhi) con DMLE di tipo secco non in terapia con integratori (gruppo 2, di controllo). Tutti i pazienti sono stati sottoposti alla misurazione dell'acuità visiva, della sensibilità al contrasto, a esame oftalmologico completo, a microperimetria e a SD-OCT alla visita di baseline, a 6, 12, 18 e 24 mesi. Alla visita di baseline, a 12 e a 24 mesi inoltre tutti i pazienti sono stati sottoposti a elettroretinogramma multifocale e sono state acquisite immagini a colori, autofluorescenza e con scanning laser ophthalmoscope (SLO) modalità retro-mode.

Risultati: l'acuità visiva, la sensibilità al contrasto, la sensibilità retinica alla microperimetria e lo spessore retinico centrale all'OCT sono risultati simili tra i due gruppi alla visita di baseline e si sono mantenuti stabili a tutte le visite del follow-up sia nel gruppo 1 che nel gruppo 2. All'esame mfERG i valori medi nei Ring 2 e 3 hanno evidenziato un trend di stabilità della funzione parafoveale in entrambi i gruppi. Per il ring 1 è stata invece osservata nel gruppo 1 una tendenza

alla stabilità mentre nel gruppo 2 si è evidenziata una tendenza alla riduzione dei valori prevalentemente nel secondo anno di studio.

Conclusioni: l'uso di una supplementazione orale a base di Luteina, Zeaxantina, DHA microalgale, tocotrienoli, Vitamine e Minerali ha permesso una stabilizzazione dei parametri morfologici e funzionali rispetto al gruppo di controllo nel follow-up a 24 mesi.

BIBLIOGRAFIA

1. Smith W, Assink J, Klein R, Mitchell P, Klaver CC, Klein BE, Hofman A, Jensen S, Wang JJ, de Jong PT. *Risk factors for age-related macular degeneration: Pooled findings from three continents.* Ophthalmology **108**(4): 697-704, 2001
2. Chakravarthy U, McKay GJ, de Jong PT, Rahu M, Seland J, Soubrane G, Tomazzoli L, Topouzis F, Vingerling JR, Vioque J, Young IS, Sofat R, Hingorani AD, Fletcher AE. *ARMS2 Increases the Risk of Early and Late Age-related Macular Degeneration in the European Eye Study.* Ophthalmology **120**(2): 342-348, 2013
3. Sin HP, Liu DT, Lam DS. *Lifestyle modification, nutritional and vitamins supplements for age-related macular degeneration.* Acta Ophthalmol **91**(1): 6-11, 2013
4. Mauschitz MM, Fonseca S, Chang P, Göbel AP, Fleckenstein M, Jaffe GJ, Holz FG, Schmitz-Valckenberg S; GAP Study Group. *Topography of geographic atrophy in age-related macular degeneration.* Invest Ophthalmol Vis Sci **53**(8): 4932-4939, 2012
5. Landa G, Butovsky O, Shoshani J, Schwartz M, Pollack A. *Weekly vaccination with Copaxone (glatiramer acetate) as a potential therapy for dry age-related macular degeneration.* Curr Eye Res **33**(11): 1011-1013, 2008
6. Damico FM, Gasparin F, Scolari MR, Pedral LS, Takahashi BS. *Medical School, University of São Paulo, Brazil. New approaches and potential treatments for dry age-related macular degeneration.* Arq Bras Oftalmol **75**(1): 71-76, 2012
7. Fujii GY, de Juan E Jr, Sunness J, Humayun MS, Pieramici DJ, Chang TS. *Patient selection for macular translocation surgery using the scanning laser ophthalmoscope.*

- Ophthalmology **109**(9): 1737-44, 2002
8. Tanga L, Centofanti M, Oddone F, Parravano M, Parisi V, Ziccardi L, Kroegler B, Perricone R, Manni G. *Retinal functional changes measured by frequency-doubling technology in patients treated with hydroxychloroquine.* Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol **249**(5): 715-721, 2011
 9. Parisi V, Ziccardi L, Stifano G, Montrone L, Gallinaro G, Falsini B. *Impact of regional retinal responses on cortical visually evoked responses: multifocal ERGs and VEPs in the retinitis pigmentosa model.* Clin Neurophysiol **121**(3): 380-385, 2010
 10. Parisi V, Tedeschi M, Gallinaro G, Varano M, Saviano S, Piermarocchi S; CARMIS Study Group. *Carotenoids and antioxidants in age-related maculopathy italian study: multifocal electroretinogram modifications after 1 year.* Ophthalmology **115**(2): 324-333, 2008
 11. Varano M, Parisi V, Tedeschi M, Sciamanna M, Gallinaro G, Capaldo N, Catalano S, Pascarella A. *Macular function after PDT in myopic maculopathy: psychophysical and electrophysiological evaluation.* Invest Ophthalmol Vis Sci **46**(4): 1453-1462, 2005
 12. SanGiovanni JP, Chew EY, Clemons TE, Davis MD, Ferris FL 3rd, Gensler GR, Kurinij N, Lindblad AS, Milton RC, Seddon JM, Sperduto RD; Age-Related Eye Disease Study Research Group. *The relationship of dietary lipid intake and age-related macular degeneration in a case-control study: AREDS Report No. 20.* Arch Ophthalmol **125**(5): 671-679, 2007
 13. Chiu CJ, Klein R, Milton RC, Gensler G, Taylor A. *Does eating particular diets alter the risk of age-related macular degeneration in users of the Age-Related Eye Disease Study supplements?* Br J Ophthalmol **93**(9): 1241-1246, 2009
 14. SanGiovanni JP, Chew EY, Agrón E, Clemons TE, Ferris FL 3rd, Gensler G, Lindblad AS, Milton RC, Seddon JM, Klein R, Sperduto RD; Age-Related Eye Disease Study Research Group. *The relationship of dietary omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid intake with incident age-related macular degeneration: AREDS report no. 23.* Arch Ophthalmol **126**(9): 1274-1279, 2008
 15. Age-Related Eye Disease Study Research Group, SanGiovanni JP, Chew EY, Clemons TE, Ferris FL 3rd, Gensler G, Lindblad AS, Milton RC, Seddon JM, Sperduto RD. *The relationship of dietary carotenoid and vitamin A, E, and C intake with age-related macular degeneration in a case-control study: AREDS Report No. 22.* Arch Ophthalmol **125**(9): 1225-1232, 2007
 16. SanGiovanni JP, Chew EY. *The role of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina.* Prog Retin Eye Res **24**(1) :87-138. Review, 2005
 17. Varano M, Scassa C. *Scanning laser ophthalmoscope microperimetry.* Semin Ophthalmol **13**(4): 203-209, 1998
 18. Midena E, Radin PP, Pilotto E, Ghirlando A, Convento E, Varano M. *Fixation pattern and macular sensitivity in eyes with subfoveal choroidal neovascularization secondary to age-related macular degeneration. A microperimetry study.* Semin Ophthalmol **19**(1-2): 55-61, 2004
 19. Hartmann KI, Bartsch DU, Cheng L, Kim JS, Gomez ML, Klein H, Freeman WR. *Scanning laser ophthalmoscope imaging stabilized microperimetry in dry age-related macular degeneration.* Retina **31**(7): 1323-1331, 2011
 20. Iwama D, Tsujikawa A, Ojima Y, Nakanishi H, Yamashiro K, Tamura H, Ooto S, Yoshimura N. *Relationship between retinal sensitivity and morphologic changes in eyes with confluent soft drusen.* Clin Experiment Ophthalmol **38**(5): 483-488, 2010
 21. Midena E, Vujosevic S, Convento E, Manfrè A, Cavarzeran F, Pilotto E. *Microperimetry and fundus autofluorescence in patients with early age-related macular degeneration.* Br J Ophthalmol **91**(11): 1499-1503, 2007
 22. Parisi V, Tedeschi M, Gallinaro G, Varano M, Saviano S, Piermarocchi S; CARMIS Study Group. *Carotenoids and antioxidants in age-related maculopathy italian study: multifocal electroretinogram modifications after 1 year.* Ophthalmology **115**(2): 324-333, 2008
 23. Schmitz-Valckenberg S, Bültmann S, Dreyhaupt J, Bindewald A, Holz FG, Rohrschneider K. *Fundus autofluorescence and fundus perimetry in the junctional zone of geographic atrophy in patients with age-related macular degeneration.* Invest Ophthalmol Vis Sci **45**(12): 4470-4476, 2004 Dec