

NUOVE POSSIBILITA' TERAPEUTICHE PER DEGENERAZIONE MACULARE E RETINITE PIGMENTOSA



ORGANOGENESI RETINICA IN COLTURA

Prof. Renato Meduri
Poliambulatorio Santa Lucia
Nota Informativa — giugno 2013

Adottando un nuovo metodo di coltura definito “flottante tridimensionale”, in quanto le cellule sono libere di aggregarsi senza supporti guida, ed arricchendo il liquido di coltura con molecole corrispondenti a quelle fisiologicamente presenti nell’embriogenesi uterina, (prevalentemente fattori di crescita e molecole segnale) ricercatori giapponesi (del Centro Riken in Kobe), hanno ottenuto in vitro una retina perfettamente strutturata.

E’ un traguardo che anche il Premio Nobel 2012 per la biochimica nella ricerca, Job Gurdon, riteneva “assai lontano e forse non realizzabile” (scienze marzo 2013-pag. 14-15). Ma i Giapponesi sono andati oltre: la stessa metodica è applicabile anche a cellule staminali indotte, cioè derivate da cellule prelevate da individuo adulto e sottoposte a processo di sdifferenziazione.

Si realizzano così tessuti ed organi “personalizzati” cioè con il DNA del ricevente senza quindi rischi di rigetto.

Gli stessi ricercatori hanno messo a punto una nuova tecnica di crioconservazione di tessuti ed organi ottenuti da coltura.

Ma al di là dell’aspetto eclatante della creazione di organi e tessuti di “ricambio” da fare entrare in sala operatoria, la organogenesi in vitro offre opportunità insperate di seguire “in diretta” le complesse sequenze molecolari che permettono ad un’unica cellula di dare origine ad una struttura estremamente complessa, sia citologicamente che funzionalmente, come la retina.

E’ così possibile verificare come, quando e perché i geni preposti alla formazione e differenziazione retinica si attivano e disattivano e quali i fattori che guidano questi processi.

Nel nucleo, accanto al DNA, vi è un mondo enzimatico, indicato come sistema epigenetico, che condiziona attivazione e disattivazione genica. Si tratta di vere e proprie macchine molecolari capaci di riconoscere in modo selettivo la proteina genica catalizzando specifiche reazioni chimiche che ne realizzano la riproduzione.

Questo è di estremo interesse clinico quando si consideri che proprio componenti epigenetiche sono alla base della senescenza cellulare e di patologie degenerative. L’organogenesi retinica permetterà ulteriori approfondimenti in questo settore con prospettive terapeutiche a breve e medio termine.

Inoltre su retine ottenute coltivando staminali indotte da cellule di soggetti con patologie retiniche, quali degenerazione maculare e degenerazione tapeto-retinica, si potrà far luce sulle basi molecolari e quindi realizzare strategie terapeutiche e preventive mirate.

Altro campo che beneficerà della organogenesi retinica riguarda le modalità riparative retiniche dopo insulti iatrogeni e ionizzanti. L’analisi dei geni attivati nel ciclo riparativo consentirà di individuare questi fenomeni biologici nella loro interezza e sfruttarne quindi l’azione in patologie retiniche caratterizzate da danni cellulari di diversa natura.

I dati riportati in breve sintesi permettono di recepire il sostanziale apporto che la organogenesi retinica assume nella “lettura” della biologia di questo tessuto.

Il passaggio da osservazioni macromolecolari ad osservazioni molecolari rappresenta una fondamentale evoluzione della scienza medica: di ciascuna patologia retinica si potrà identificare l’esatto meccanismo alterato e la strategia più mirata per neutralizzarlo. Terapia genica ed epigenica divengono così operative.

Oltre a prospettive future, seppure a breve termine, già oggi si hanno ricadute significative nella precisione diagnostica e gestione sia della retinite pigmentosa sia della degenerazione maculare.

Ricadute cliniche attuali

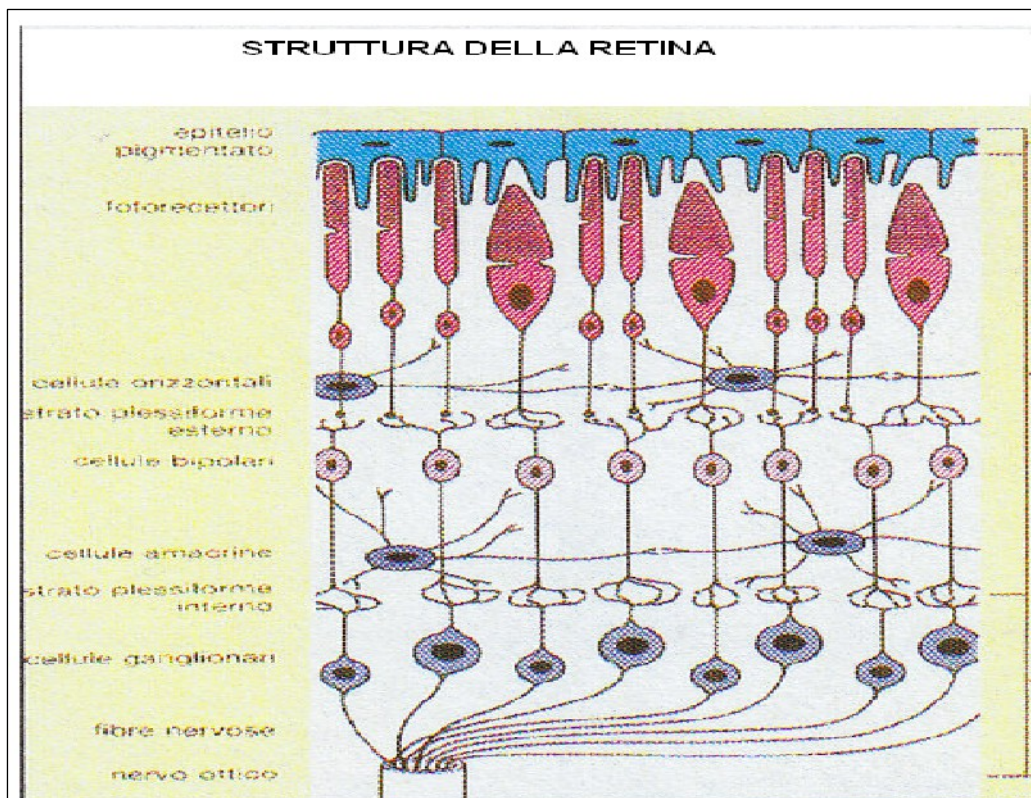
- a) Terapia chirurgica: impianti di cellule e lamine cellulari a sostituire tessuto retinico compromesso.
- b) Terapia medica: attivazione del gene bcl2 e quindi inibizione della apoptosi (morte cellulare) che in tutte le principali forme degenerative (degenerazione maculare, degenerazione tapeto retinica) rappresenta la causa maggiore di danno.
- c) Protezione metilante del DNA: sperimentazione clinica preliminare.
- d) Protezione ossidativa: criteri di specificità.

TERAPIA CHIRURGICA

Quale introduzione alla esposizione delle procedure chirurgiche riteniamo utile riportare talune caratteristiche istofunzionali retiniche che permettono di identificare il tipo e livello della lesione e quindi sito e livello dell'impianto.

LA RETINA - ISTOLOGIA FUNZIONALE

Il tessuto retinico è organizzato in strati: quattro a sviluppo verticale e due a sviluppo orizzontale.



ORGANIZZAZIONE VERTICALE

Primo strato epitelio pigmentato con funzioni ottiche metaboliche, fagocitarie, cioè accoglie, nutre e pulisce le cellule dello strato successivo, è quindi essenziale per garantirne stabilità biologica e funzioni.



Secondo strato fotorecettoriale - Si tratta di cellule che convertono il messaggio luminoso in energia bioelettrica. Vi sono due tipi base: i coni, contenuti elettivamente nella retina centrale, denominata macula, sono circa 6 milioni e risultano molto stipati. L'altro tipo cellulare indicato come bastoncelli, si estende dalla macula fino alla periferia retinica. Sono circa 120 milioni; garantiscono la visione periferica e la percezione del movimento. Funzionano anche a luce medio - bassa (luminanza scotomesopica), permettendo così la visione notturna.

Terzo strato : cellule bipolari. Costituito da cellule nervose in cui l'input bioelettrico prodotto dai fotorecettori opportunamente elaborato viene trasmesso al successivo strato. In ragione della morfologia le cellule vengono indicate come bipolari.

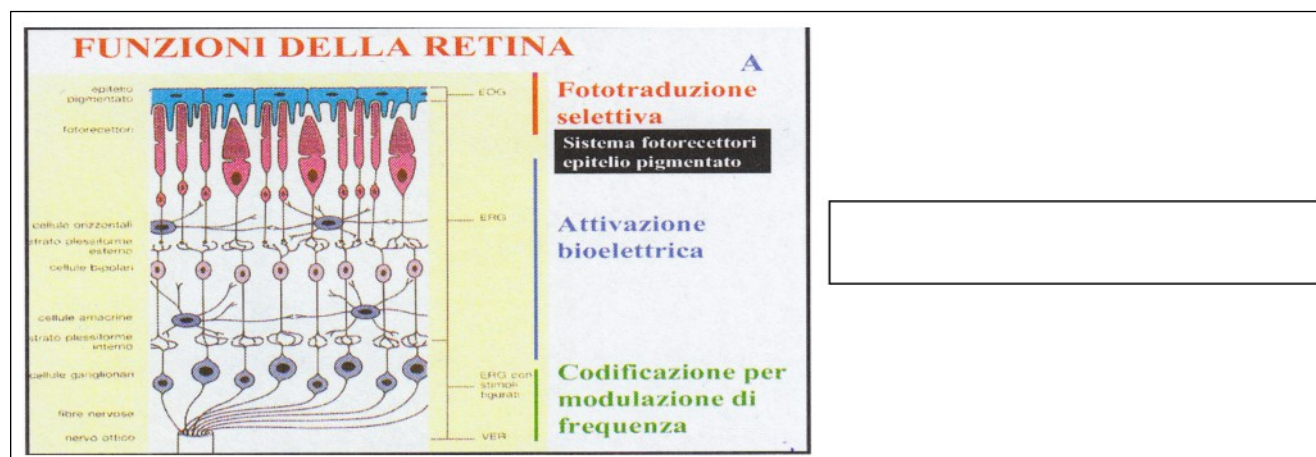
Quarto strato : cellule ganglionari ottiche. Trattasi di cellule nervose simili ai neuroni che traducono l'impulso ricevuto dalle cellule bipolari in modulazioni di frequenza: minor dispendio energetico, garanzia di evitare ipervoltaggi alle stazioni cerebrali a cui trasmettono attraverso i loro prolungamenti assonali che costituiscono il nervo ottico (Si tratta in effetti non di nervo ma di connessura bianca, essendo la retina una protrusione del diencefalo).

ORGANIZZAZIONE ORIZZONTALE

a) Strato esterno : comprende cellule nervose le cui terminazioni si distribuiscono

orizzontalmente nello spazio sinaptico fra fotorecettori e cellule bipolari. Una caratteristica bioelettrica le accomuna: i loro prolungamenti possono essere percorsi dallo stimolo nei due sensi. Esplicano effetti sia inibitori (iperpolarizzazione) sia eccitatori (depolarizzazione) sono quindi modulatori bioelettrici.

b) Strato interno : cellule nervose distribuite a livello delle sinapsi fra cellule bipolari e ganglionari ottiche. Anche in tal caso si realizza una modulazione dello stimolo visivo.



Schema istologico dei vari strati cellulari con le specifiche attività

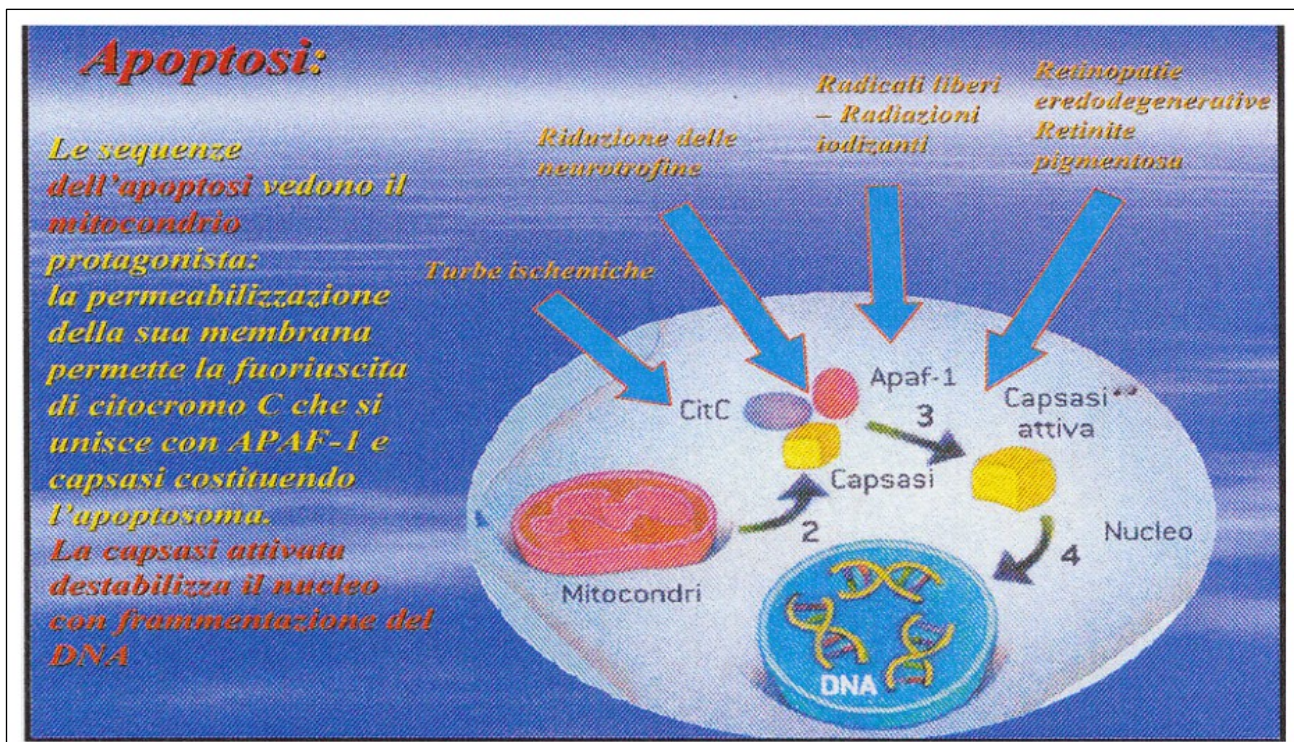
Le particolarità fotochimiche ed organizzative neurali della retina condizionano tre peculiari funzioni:

- a) Minimo separabile con massima partecipazione dei coni e quindi della porzione centrale della retina. Due punti per essere visti separati debbono cadere su due recettori adiacenti, quindi poichè i coni foveali sono sottili e molto stipati questa porzione di retina è la più efficiente. Il minimo separabile si identifica con la "acuità visiva".
- b) VISIONE CROMATICA: la discriminazione cromatica ha come punto iniziale tre pigmenti contenuti in tre diversi tipi di coni rispettivamente con assorbimento a 440 -535 -565 millimicron . Essendo funzione legata ai coni, decade quando dalla luminanza fotopica si passa alla scotopica, in cui subentrano i bastoncelli che percepiscono solo il blu: all'imbrunire le rose rosse vengono percepite come lilla.
- c) La retina un fotometro estremamente sensibile: in grado di funzionare ad 1/100 di lux (visione scotopica) e ad oltre 100 mila lux visione fotopica e questo grazie a pigmenti, a proteine fotosensibili come la rodopsina. Il massimo della sensibilità si ha con rodopsina integra (buio). E' sufficiente una scomposizione del 0,6% per avere una caduta di 3300 volte e questo in millesimi di secondo. Tale processo indicato come "adattamento" e gran parte svolto dal complesso epitelio pigmentato fotorecettori con il

concorso tuttavia anche delle componenti neurali orizzontali.

COSA SUCCEDDE NELLA DEGENERAZIONE TAPETO RETINICA E NELLA DEGENERAZIONE MACULARE

Nella retinite pigmentosa si hanno anomalie elettive del “modulo” epitelio pigmentato-fotorecettori, per mutazioni geniche specifiche che possono provocare incapacità fagocitaria dello epitelio pigmentato o anomalie dell’articolo dei fotorecettori la cui struttura e funzione presieduta da più geni o ancora da anomalie del ciclo della rodopsina, pigmento essenziale per la fototrasduzione. In rari casi possono essere in causa altre turbe enzimatiche, sempre dei fotorecettori. La conclusione è sempre e comunque un malfunzionamento dell’epitelio pigmentato e dei fotorecettori e quindi la difficoltà di tradurre lo stimolo luminoso in stimolo visivo: la porzione di retina interessata non più sensibile alla luce. Le cellule inefficienti sono destinate alla estinzione per apoptosi.



L'apoptosi è la strategia biologica seguita dai tessuti per liberarsi dalle cellule divenute inefficienti per senescenza o noxae diverse. Consiste in una vera e propria auto digestione ad opera degli enzimi endocellulari che "polverizza" l'intera cellula che "scompare" senza tracce - viene per questo indicata come "morte silenziosa".

Nella degenerazione maculare anomalie multigeniche Inducono un progressivo cedimento dell'epitelio pigmentato retinico, successiva sofferenza e morte per apoptosi dei fotorecettori foveali e maculari corrispondenti alle aree di epitelio pigmentato compromesso.

IMPLANTOLOGIA DA RETINA IN COLTURA

La differenza tra le procedure chirurgiche già in atto e quelle realizzate dall'equipe giapponese è nel tipo di materiale impiantato:

- cellule libere ottenute da colture classiche o lembi tissutali prelevati da cadavere, nelle tecniche attuali ;
- cellule organizzate in tessuti già nel terreno di coltura e come tali corrispondenti alla struttura retinica in cui vengono impiantati, con la tecnica proposta;

Le patologie in cui si è già applicata la tecnica sono : degenerazione maculare e retinite pigmentosa.

In programmazione ma non ancora attivata la procedura sperimentale clinica nella atrofia ottica glaucomatosa.

DEGENERAZIONE MACULARE

Trattasi di patologia che interessa nel mondo milioni di soggetti, manifestandosi di norma fra sesta e settima decade di vita è anche indicata come degenerazione maculare età correlata.

In attesa di una sua gestione genetica preventiva (a riguardo sono già attuabili esami genetici predittivi) l'impianto delle cellule dell'epitelio pigmentato è procedura compensatoria idonea a stabilizzare la lesione e permettere in taluni casi recuperi dei fotorecettori ancora vitali ma in silenzio funzionale.

Le cellule di epitelio pigmentato derivate dalla coltura (anche partendo da staminali, indotte cioè dello stesso individuo) sono poste nello spazio fra epitelio pigmentato-fotorecettori, a sostituire fisicamente e funzionalmente le cellule mancanti.

L' attecchimento è ottimale.

Negli Stati Uniti sono già in corso trial controllati ed altri ne sono previsti in diversi paesi tra cui l'Italia.

Rientra tra le maculopatie trattabili anche quella di Stargart caratterizzata da un pressoché medesimo livello lesionale ma con insorgenza giovanile.

DEGENERAZIONE TAPETO RETINICA

La patologia è caratterizzata da apoptosi (morte cellulare programmata) dei fotorecettori (bastoncelli-coni)

Se la loro densità è gravemente ridotta è necessario attuare una "ripopolazione".

Con la coltura in vitro si rendono disponibili vere e proprie lamine di recettori agevolati da impiantare. Va considerato che, differentemente dalle cellule dell'epitelio pigmentato che esplicano la loro funzione per semplice contiguità con i fotorecettori, questi per divenire visivamente efficaci, debbono interfacciarsi sinapticamente con le cellule bipolari e con le cellule orizzontali esterne. Tali interfacce sono realizzate durante l'embriogenesi attraverso meccanismi cellulari gestiti dalle stesse cellule. La coltura in

vitro permette di ottenere lamine cellulari “non completamente mature” e quindi con

maggiore attitudine a collegarsi. Comunque, dalla fisiopatologia retinica è comprovato che ad un distacco sinaptico intraretinico come si realizza nella schisi (distacco dei fotorecettori ed epitelio pigmentato dalle bipolari) quando i due foglietti si riaccollano per esempio dopo un intervento chirurgico i collegamenti sinaptici si ristabiliscono e la retina torna funzionante. Circa la strategia più idonea perché questo si realizzi, indicazioni utili potranno derivare dalla chirurgia sperimentale su retina in vitro. Il trapianto di fotorecettori permette comunque un recupero, almeno parziale, della visione in soggetti con degenerazione pigmentosa evoluta.

ATROFIA GLAUCOMATOSA E IMPLANTOLOGIA

I ricercatori di Kobe ritengono che, superata la difficoltà di migrazione degli assoni delle cellule ganglionari ottiche retiniche dal bulbo al corpo genicolato, il trapianto di retina nervosa rappresenta un traguardo non lontano. Il materiale derivato dalla coltura ha tutte le caratteristiche istofunzionali per compensare il tessuto atrofico e, cosa più interessante, ha attitudine a collegarsi alle cellule nervose della retina ospitante. La procedura d’impianto è mediamente impegnativa e prevede l’asportazione del vitreo e della limitante interna.

TERAPIA MEDICA

Trasferimento genico

La terapia di patologie genetiche ha come obiettivo primario il ripristino della normalità con la sostituzione del gene o dei geni mutati con geni normali. Molti problemi a riguardo sono stati superati dal perfezionamento delle modalità di lettura del DNA e dalle tecniche di veicolazione, cioè della modalità di far giungere il gene sano nel nucleo delle cellule bersaglio.

Genetica della retinite pigmentosa

Nella retinite pigmentosa sono possibili diversi tipi d’ereditarietà:

1) Autosomica dominante:

- mutazioni elettive nei geni della rodopsina cromoforo (cattura luce) presente nell’articolo esterno dei bastoncelli.

Le mutazioni possono riguardare siti amminoacidici diversi. Più frequenti quelli nelle regioni transmembrana o spazio interdiscale.

- Mutazioni alternative: gene della periferina. Trattasi di proteina che costituisce il supporto strutturale di membrana dell’articolo esterno di bastoncelli e coni.

Le mutazioni possono interessare siti diversi. Le conseguenze analoghe: ridotta capacità funzionale dei fotorecettori.

2) Autosomica recessiva

Mutazione tipica: alterazione del gene della rodopsina funzionalmente inattiva per mancata formazione del sesto e settimo segmento transmembrana (proteina tronca).

Mutazione alternativa: anomalie del gene per la subunità b della fosfodiesterasi e della subunità "a" della proteina dei canali GMP -ciclica dei bastoncelli.

3) Ereditarietà digenica autosomica recessiva, dovuta a mutazioni che riguardano geni diversi localizzati su cromosomi differenti.

I primi geni anomali individuati sono quello della periferina e quello della ROM.

Questa è una

proteina specifica della retina simile alla periferina ma presente esclusivamente nei coni ed in

particolare nel segmento esterno del recettore intervenente nella integrità strutturale dei dischi.

La modalità ereditaria è autosomica recessiva con genitori fenotipicamente indenni.

Allo stato attuale delle conoscenze vi sono almeno 11 tipi di cromosomi diversi con 20 loci

differenti già mappati.

Nel tipo autosomico dominante sono state rilevate oltre 70 diverse mutazioni nel solo gene

rodopsina. Sono stati identificati 3 loci di cromosoma X e 4 geni per la forma ad ereditarietà recessiva.

IMPLANTOLOGIA GENICA

INDIVIDUAZIONE

La moderna genetica molecolare usufruisce di tecnologia di sequenziazioni rapide e soprattutto ampie, estendibili cioè ad un elevato numero di geni. E' così possibile individuare il gene mutato o i geni mutati.

Questo è essenziale nell'ambito delle degenerazioni tapeto retiniche in cui spesso sono interessati geni diversi ed in cui, invece, il quadro clinico (fenotipo) monotono e non fornisce quindi sufficienti informazioni per individuare l'anomalia genica causale.

VEICOLAZIONE

In concomitanza alla diagnostica si sono evolute le modalità di veicolazione del gene sano nel nucleo cellulare.

La ingegneria molecolare ha realizzato vettori virali a DNA in grado quindi di entrare nel nucleo e di trasportarvi molecole geniche inserite.

I virus sono modificati anche immunologicamente e non inducono quindi alcuna reattività infiammatoria: l'organismo non li riconosce come patogeni.

Trattasi di strumentazioni e tecniche in via di completa verifica ma a breve operative.

I primi impianti genici sono stati eseguiti nel 2008 in una patologia particolare della retina nota come Amaurosi Congenita di Leber. Fino al 2011 ne sono stati eseguiti 86. Si è ottenuto un buon miglioramento del visus. Non sono segnalate complicanze. L'esito può definirsi ottimo considerando la drammatica evolutività di tale patologia che in tempi brevi esita in cecità,

La manipolazione del DNA non l'unica strategia attuabile. Vanno infatti considerate anche le componenti epigenetiche

EPIGENETICA

A riguardo sono opportune brevi premesse sul DNA e sul ruolo dei fattori epigenetici.

Abbiamo fin qui correlato degenerazione maculare e retinite pigmentosa a mutazioni di uno o più geni.

Di fatto epoca d'insorgenza, gravità evolutiva, quadro clinico sono condizionati da complessi sistemi enzimatici che regolano attivazione e disattivazione dei geni e quindi loro espressività.

Questi sistemi sono esterni al DNA e vengono indicati come epigenetici.

Assumono grande importanza in quanto a parità di anomalia genica possono addirittura silenziare la malattia o renderla grave. Riportiamo in breve sintesi i correlazionismi fra DNA ed epigenetica.

DNA

Contenuto nel nucleo cellulare, il DNA è un mosaico molecolare in cui sono rappresentate le centomila

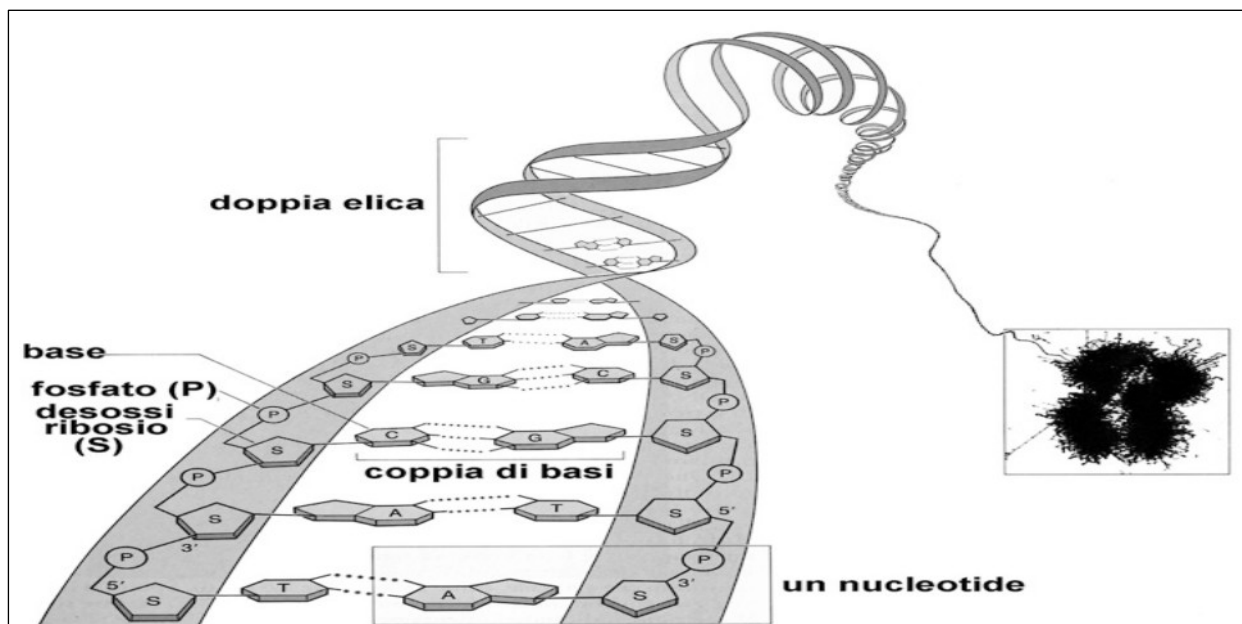
proteine somatiche ed i programmi per organizzarle nei diversi organi di un intero organismo. Le singole

proteine vengono indicate come geni. Ciascuna proteina-gene è costituita da 4 amminoacidi (adenina -

timina - guanina - citosina) appaiati in duplice fila. La diversa sequenza di appaiamento ed il loro

numero definisce la diversità; in altri termini ciascun gene ha un suo specifico profilo proteico. Il DNA

consta di circa 100.000 mila geni la cui sequenza se distesa misurerebbe 180 centimetri.



Rappresentazione schematica della organizzazione strutturale della doppia elica del DNA. Sono raffigurati gli aminoacidi che intervengono, la loro modalità di disposizione ed i nastri di glicidi e fosfati che li supportano

Per ciascun organo si attivano solo la classe di geni deputata a creare cellule con tipizzazione enzimatico - proteica - morfologica tipiche di quell'organo (cellule epatiche per il fegato e cellule muscolari per il corpo ecc.).

Nella organogenesi della retina sono impegnati circa 10000 geni

Un gene si definisce attivo quando la sua proteina viene riprodotta. Protagonista del processo

replicativo è un enzima: DNA polimerasi, coadiuvato da altri enzimi come la ligasi e la nucleasi.

Il DNA polimerasi è il vero costruttore della vita. È assimilabile ad una stupefacente nano-

macchina, capace di selezionare fra migliaia la porzione di DNA corrispondente alla proteina

richiesta e di attuarne copie complementari. Queste saranno poi affidate ad un'altra molecola

(RNA) per essere trasferite al citoplasma dove inizierà una frenetica sintesi industriale della proteina richiesta.



Il DNA-polimerasi scorrendo su una delle due elichette duplica la sequenza di aminoacidi. Sono raffigurati gli aminoacidi che vi intervengono, la loro modalità di disposizione ed i nastri di glicidi e fosfati che li supportano

La cellula ne avrà così adeguata disponibilità. Tali sequenze si ripetono in ordinata successione per tutte le proteine enzimatiche o strutturali necessarie alla realizzazione delle varie tipologie di cellule retiniche, complessamente interconnesse ai cicli metabolici che esse realizzano. È un impegno organizzativo arduo considerato che in ogni cellula coabitano circa sette miliardi di proteine.

In sintesi il DNA non libero di scegliere quali geni attivare o silenziare in quanto la sua attività è sostanzialmente condizionata da fattori che vengono definiti epigenetici in quanto estranei al genoma.

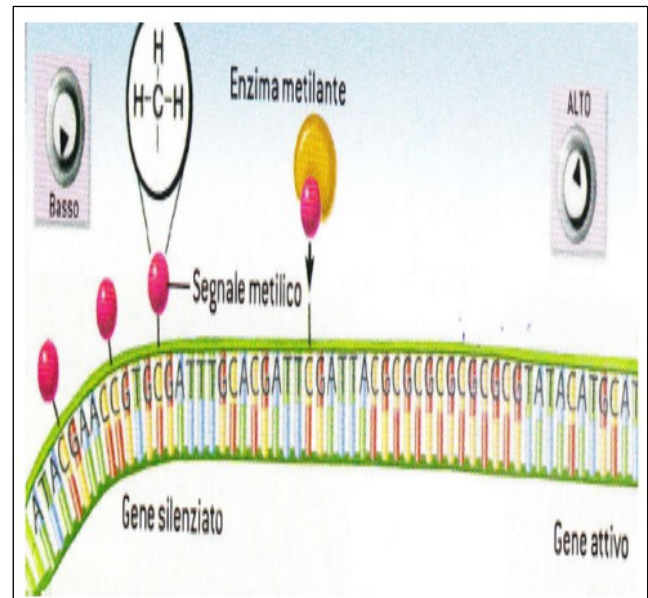
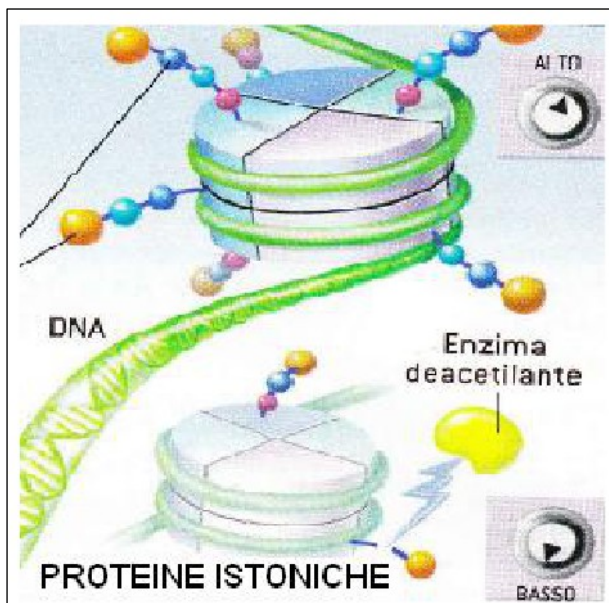
SISTEMI EPIGENETICI

Due sono i più importanti complessi biochimici di controllo.

a) SISTEMA ISTONALE

Il doppio nastro del DNA non è distribuito casualmente ma ordinatamente avvolto a rocchetti costituiti da proteine indicati come istoni. Più istoni uniti in grappoli formano strutture complesse definiti cromosomi. Fin quando il DNA è intimamente avvolto agli istoni, il DNA polimerasi non è in grado di scorrervi sopra e copiare i geni che lo compongono; i fattori epigenetici istonici sotto forma di enzimi sono in grado di mantenere avvolto o distendere il nastro di DNA. L'enzima acetil-istone-transferasi, legandosi all'istone induce la distensione e copiatura del segmento di DNA ed è perciò definito "Trascrittore"; l'enzima deacetilasi istonico che ne distacca il legame è definito cancellatore.

La deacetilazione dei legami istonali è gestita da una classe di enzimi, (di cui meglio caratterizzata è la sirtuina (Sir2)), che controllano una vasta serie di funzioni cellulari, fra cui anche l'attività mitocondriale. L'invecchiamento e le patologie degenerative risulterebbero condizionati dalle sirtuine. Le sirtuine agiscono sostanzialmente deacetilando e quindi silenziando segmenti del DNA.



Quando il gruppo acetile si lega alle proteine istoniche il DNA corrispondente è leggibile; quando se ne distacca è silenziato. Quando il gruppo metile si lega al DNA lo silenzia; quando se ne distacca torna leggibile.

Le sirtuine possono essere attivate a mezzo di apporti molecolari esterni. Particolarmente interessante a riguardo è il resveratrolo, una piccola molecola presente nel vino rosso e fabbricata da varie piante in risposta agli stress. Somministrando resveratrolo ad animali da esperimento si ha un significativo aumento della vita attribuibile al silenziamento di porzioni del DNA da deacetilazione. Oltre che mediata dagli istoni, l'azione chimica epigenetica può intervenire direttamente sul DNA.

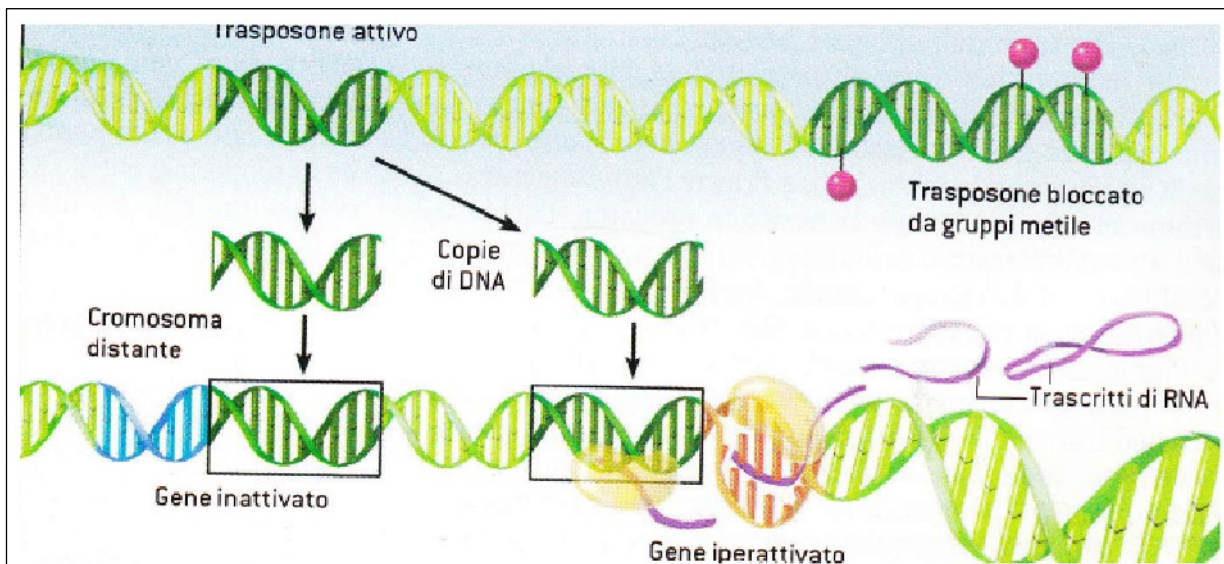
b) SISTEMA METILICO

Semplice ma efficace, il gruppo metile composto da un atomo di carbonio e tre atomi di idrogeno, ha una particolare affinità per le citosine, (uno dei quattro amminoacidi che costituiscono le proteine geniche) cui si coniuga enzimaticamente. I geni metilati sono silenziati.

Gli interruttori che guidano la metilazione sono ancora mal definiti. Significativa tuttavia l'evidenza che quando si risolvono farmacologicamente i legami metilici (acido Valproico, farmaco psichiatrico, decitabina chemioterapico, procaina anestetico ecc....) al cessare dell'effetto i gruppi metilici si riposizionano nei siti precedenti. Si delinea quindi una metilazione individuale congenita.

Silenziamento protettivo

Il silenziamento contribuisce a difendere il DNA da elementi genici parassiti chiamati trasposomi. Trattasi di segmenti di DNA che hanno l'attitudine a clonarsi autonomamente ed inserire una propria copia in siti distanti del DNA, inattivando, o al contrario, iperattivando fuori programma, geni "legittimi".



Trasposoni liberi.

Trasposoni bloccati dalla metilazione.

EPIGENICA E DNA

I genetisti sono ancora impegnati nel decifrare il complesso codice di comunicazione fra DNA e componenti epigenetici che .

Emergono tuttavia evidenze circa una sostanziale preminenza dell'epigenetica sul DNA. Trovano così spiegazione le discordanze rilevabili frequentemente anche in gemelli omozigoti nello sviluppo di patologie su base genica.

I gemelli omozigoti condividono identiche sequenze del DNA e quindi identiche mutazioni. Tuttavia, mentre in uno la retinite pigmentosa evolve in maniera grave nell'altro non si ha alcun segno di malattia. Ed ancora si stima che ciascun individuo portatore di circa 400 mutazioni di cui almeno 2 associate a malattie gravi e tuttavia solo in una percentuale minoritaria si manifesta la malattia .

Le componenti epigenetiche sono quindi in grado di impedire ad una mutazione genica di dare segni clinici .L'importanza dei fattori epigenetici è amplificata quando si consideri l'estrema sensibilità di tali sistemi ad input esterni anche banali.

Ad esempio una situazione di stress ambientale provoca metilazione nel centro cerebrale della ricompensa, inducendo così uno stato depressivo che si trasmette alla prole. La cocaina induce acetilazione nei neuroni dello stesso centro ed annulla la depressione; il resveratrolo, molecola vegetale, è un potente deacetilante. Una dieta ricca di Vitamina B12 e di folati favorisce la metilazione mentre farmaci quali l'acido valproico la duracaina (chemioterapico), la procaina (anestetico) hanno effetto demetilante.

Interessante la verifica che, seppure in maniera differente per i diversi organi, mutamenti naturali di flussi elettromagnetici ambientali attivano o disattivano interi pacchetti genici.

Aspetti terapeutici

L'epigenetica, controllando attivazione o silenziamento genico, delinea un potenziale terapeutico elevato e le conoscenze a riguardo trovano sicura velocizzazione dalla possibilità di verificarne i meccanismi operativi su retina in coltura.

Allo stato attuale trova già giustificazione garantire in caso di patologie degenerative, specie se età correlate, un buon livello di metilazione del DNA.

La strategia più idonea è la somministrazione locale di Vitamina B12.

Si ottiene così un adeguato apporto del farmaco a livello distrettuale (bulbo - retina) senza significativi effetti sistemici.

Verifica clinica

Su dieci casi selezionati di retinite pigmentosa evoluta si è potuto rilevare, a mezzo di microperimetria, un apprezzabile miglioramento, manifestatosi già dopo 7 giorni dalla prima somministrazione ed un ulteriore miglioramento dopo seconda somministrazione effettuata dopo 30 giorni.

I risultati sono stati pressoché omogenei in 8 dei pazienti, non significativi in 2.

Si precisa che preliminarmente in tutti i pazienti è stato verificato il grado di metilazione del DNA. Questo dato, seppure non direttamente correlabile al DNA retinico del soggetto in quanto la metilazione ha peculiarità d'organo, fornendo indicazioni sulla situazione metilica del DNA individuate è comunque indicativo.

Sussistono ancora osservazioni cliniche in campo oftalmologico circa interventi farmacologici sul sistema istonico. Le esperienze sono state condotte soprattutto in campo di ematologia oncologica ed in ambito psichiatrico e della tossicodipendenza.

Riteniamo comunque che sia prossima una loro verifica nell'ambito delle patologie degenerative retiniche.

I FATTORI DI CRESCITA: INTERRUITORI GENICI

APPLICAZIONI TERAPEUTICHE

I fattori di crescita sono molecole non nutrizionali programmate dal DNA che gestiscono proliferazione e differenziazione cellulare.

Interagiscono attraverso specifici recettori di membrana.

Nel 1994 se ne conoscevano 51, oggi altri 100. Ciascun tipo di cellula ha i suoi fattori di crescita, molte sequenze enzimatiche sono indotte da specifici fattori di crescita.

A livello retinico intervengono il fattore di crescita neurotrofico gliale (GDNF), il ciliare (CNTF), il cerebrale (BDNF), l'epiteliale, il fibroblastico basico ecc...

Oltre a gestire crescita e differenziazione gestiscono l'arco vitale delle cellule, attivando e disattivando i geni: c-myc e bcl2

I network di tali geni hanno funzioni contrapposte. L'attivazione di c-myc avvia il programma apoptotico mentre l'attivazione di bcl-2 lo contrasta. Stato del DNA, dei mitocondri, dei ribosomi, della membrana, presenza di proteine anomale o carenze enzimatiche vengono "letti" da questi geni.

Bilanci negativi inducono l'attivazione dal gene c-myc che innesca l'apoptosi.

Le sequenze dell'apoptosi vedono il mitocondrio protagonista: la permeabilizzazione della sua membrana permette la fuoriuscita di citocromo C che combinandosi con APAF-1 e caspasi "digeriscono" il DNA. L'apoptosi è bloccata dalla attivazione del gene bcl 2 da parte dei fattori di crescita.

Il fattore di crescita più studiato quale fattore antiapoptotico è il bFGF.

bFGF

Dalla prima purificazione della molecola da tessuto cerebrale bovino si osservò che vi erano due tipi di FGF molto simili nelle proprietà biochimiche e biologiche:

- FGF basico (bFGF)
- FGF acido (aFGF).

Entrambe le molecole sono importanti induttori della sintesi di DNA e l'effetto mitogeno su cellule diploidi di mammiferi ne ritarda significativamente la senescenza.

Tuttavia l'espressione di aFGF è ristretta a cellule del sistema nervoso centrale periferico ed a cellule endoteliali, mentre l'espressione bFGF è ampia e riguarda sia cellule di tessuti adulti che fetali, di derivazione mesodermica e neuroectodermica.

Per quanto concerne l'attività a livello oculare del bFGF esso esplica effetto trofico su tutte le cellule rappresentate nella retina.

Il fattore di crescita fibroblastico bFGF₂, è un vero e proprio fattore di sopravvivenza cellulare. E' presente in ogni specie vivente con identica struttura e funzione.

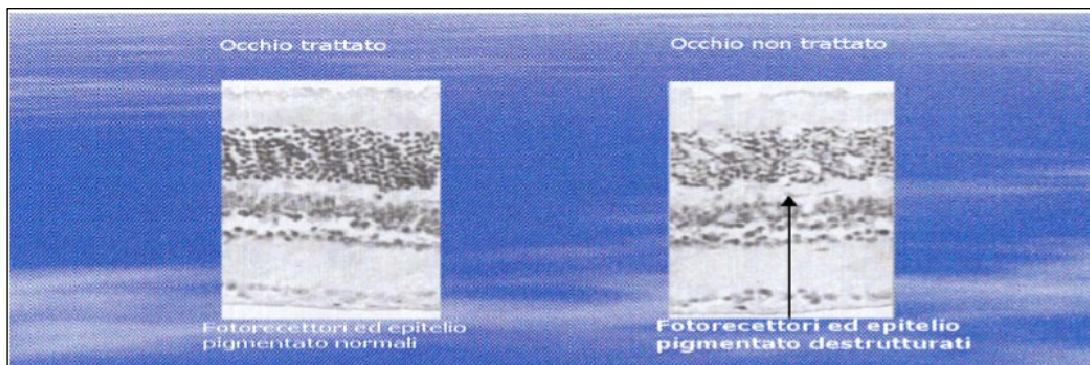
I recettori per bFGF₂ sono espressi da tutte le cellule retiniche ed aumentano quando si provochi un danno che metta in crisi la sopravvivenza cellulare.

E' stato ampiamente dimostrata un' efficacia antiapoptotica nei confronti dell'epitelio pigmentato e dei fotorecettori, oltre che da insulti anossici e perossidazione, anche in caso di turbe metaboliche genetiche quali la retinite pigmentosa e degenerazione maculare.

A riguardo studi sperimentali hanno comprovato che la somministrazione di bFGF attuata precocemente in casi di degenerazione tapeto retinica, è in grado di bloccare l'evoluzione della malattia e di mantenere condizioni tissutali pressochè normali.

EVIDENZE SPERIMENTALI

Retinite pigmentosa da mutazione nel cromosoma 3. Negli occhi di sinistra è stata praticata iniezione di bFGF umano ricombinante. Negli occhi di destra è stata praticata iniezione di PBS soluzione



Nelle immagini possiamo vedere, partendo dall'alto, gli strati delle cellule retiniche: i fotorecettori, i nuclei dei fotorecettori, i nuclei delle cellule bipolari, i nuclei delle cellule ganglionari e la membrana limitante interna.

Nella retina trattata con iniezioni intravitreali il nucleo è totalmente mantenuto. Nella retina non trattata gli

strati del nucleo appaiono assottigliati con spazi vuoti che evidenziano morte cellulare; le cellule più

interessate dall'apoptosi sono i fotorecettori ed i nuclei. È evidente che anche l'apoptosi da turbe metaboliche su base genica viene neutralizzata.

MODALITA' DI SOMMINISTRAZIONE DEI FATTORI DI CRESCITA

a) Iniezione endovitrea 25 microgrammi di Bgfg₂ in 0.3 millilitri di soluzione fisiologica (25 microgrammi in soluzione bilanciata 0.3 millilitri), analogamente a quanto previsto per la somministrazione di antivasogeneci, nella maculopatia neovascolare. Le molecole di bFGF₂ si coniugano a mezzo di legami ionici con l'acido ialuronico vitreale.

Si realizza così un rilascio rallentato ed una veicolazione facilitata essendo i recettori per l'acido ialuronico simili a quelli per bFGF₂. Tenuto conto del rilascio graduato e dei tempi di estinzione dell'effetto cellulare del bFGF₂ (rilevati sperimentalmente) la somministrazione va' ripetuta dopo 90 giorni. L'effetto è validamente monitorabile con la microperimetria. Qualora dopo la seconda iniezione non si rilevino significativi miglioramenti, è ragionevole sospendere il trattamento. In effetti, riduzioni importanti della densità cellulare retinica, danni cellulari avanzati in misura tale da vanificare l'intervento del bFGF₂, sono tutti elementi che implicano una ridotta utilità della stimolazione con bFGF₂.

b) Capsule endovitreali È possibile inserire nella cavità vitreale microscopiche capsule contenenti cellule umane modificate per indurre la produzione di fattori di crescita. L'impianto è immunologicamente silente e permette la liberazione dei fattori di crescita prodotti dalle cellule, impedendo nel contempo l'accesso di molecole esterne. I risultati preliminari sono soddisfacenti sia nella retinite pigmentosa che nella degenerazione maculare atrofica.

c) Impianto lipocitico La implementazione endobulbare di fattori di crescita può essere realizzata anche con impianti in tasche sclerali a tutto spessore di peduncoli di lipociti con vascolarizzazione autonoma.

I lipociti del grasso giallo orbitario hanno la caratteristica, quando inseriti in ambiente eterotopico, di produrre notevoli quantità di fattori di crescita Bfgf₂. Nello specifico si trovano a contatto con la sclera e la coroide, quindi in situazione eterotopica. L'attività può essere stimolata con iniezioni in situ di molecole eutrofizzanti (Limoli, 2011). Si è potuto constatare istologicamente che le cellule del peduncolo sono ancora conservate dopo 5 anni dall'impianto. La tecnica è stata proposta dal prof. Pelaez di Cuba nel 1993. Con una casistica di oltre 5.000 interventi, l'autore ha riferito stabilizzazione a 5 anni in oltre il 70% dei pazienti, miglioramenti in oltre il 15% ed assenza di risposta negli altri casi. Risultati sostanzialmente confermati da autori successivi (Meduri, 2004, Limoli, 2012) che hanno esteso la tecnica alla degenerazione maculare atrofica. La procedura, seppure sufficientemente responsiva, prevede atto chirurgico impegnativo in quanto, per permettere l'accesso alla retina dei fattori di crescita lipocitici, è necessario porre i lipociti a diretto contatto con la superficie esterna della coroide che deve essere ampia per garantire adeguata area di scambio (circa 1 centimetro quadrato).

Un'alternativa all'impianto di lipociti è l'impianto di cellule staminali autologhe, isolate da siero di sangue e poste in coltura. Nel caso di impianto cellulare la tasca è molto più ridotta potendosi addirittura iniettare con ago smusso in un piano di clivaggio sclerouveale, previa semplice incisione sclerale, intervento quindi decisamente meno impegnativo. Utile l'iniezione successiva di fattori di crescita. Gli effetti, ovviamente, saranno più limitati nel tempo rispetto all'impianto lipocitico seppure sovente più evidenti entro 2 -3 mesi post impianto.

CONCLUSIONE

Le strategie basate sulla azione antiapoptotica dei fattori di crescita è particolarmente efficace negli stadi iniziali ed intermedi della patologia degenerativa. Nei casi avanzati o terminali i fattori di crescita sono comunque in grado di mantenere una stazionarietà che garantisce il visus residuo in elevata percentuale di pazienti.

Identiche considerazioni per la degenerazione maculare.

A riguardo si precisa che, in caso di quadro neovascolare, il trattamento può essere attuato successivamente a terapia antivasogena endobulbare.

Il fattore di crescita fibroblastico, migliorando lo stato di sofferenza metabolica cellulare, riduce la spinta alla neovascolarizzazione e quindi alle recidive.

SUSSIDI METABOLICI COADIUVANTI

Caratteristica peculiare del tessuto retinico è l'elevata richiesta di ATP per garantirne le intense attività sinaptiche, ioniche, metaboliche. Deputati a fornirla sono i mitocondri. Si tratta di nanocentrali termiche, a funzionamento enzimatico, contenute nel citoplasma. Nel giovane hanno capacità di incrementare la produzione in rapporto alle richieste, nell'adulto la capacità si riduce, per azzerarsi nell'anziano.

E' proposta (Wallace 2002) un'ipotesi "metabolica mitocondriale" delle patologie degenerative età correlate (degenerazione maculare).

Ricordiamo che, nel contesto patogenetico dell' apoptos, un ruolo importante è la permeabilizzazione delle membrane mitocondriali da iperossidazione.

Intervenire farmacologicamente con molecole coadiuvanti le intense sequenze enzimatiche ossidativo energetiche mitocondriali è quindi giustificato. (Di fatto levocarnitina, Coenzima Q10, Zinco, sono elementi e molecole di ampio uso clinico.)

Considerando che la retina sfrutta fisiologicamente come antiossidante elettivamente la Vitamina E è giustificata l'inclusione della stessa nei protocolli antiossidanti.

E' opportuno sottolineare che un trattamento antiossidante deve essere gestito con competenze specifiche ed il più possibile "personalizzato" sul quadro clinico sia oculare sia sistemico.

L'assunzione impropria di antiossidanti può infatti rilevarsi non solo inutile ma addirittura dannosa.

I radicali liberi agiscono, infatti, quali veri e propri interrettori biologici per attivare la funzione dei sistemi antiossidanti endogeni (glutathione ecc..) contribuendo così allo equilibrio biologico cellulare. A livello sperimentale su modelli animali diversi è stato dimostrato che un adeguato livello di radicali liberi contribuisce ad una significativa maggiore durata della vita.

Il tenore in radicali liberi può essere individualmente misurato con semplici esami di laboratorio. E' consigliabile attuare detta misurazione prima di iniziare trattamenti antiossidanti verificandola ogni 3 mesi.

INDUZIONE PROLIFERATIVA

Cellule perenni come i cardiomiociti, stimulate con particolari molecole, indicate come micro RNA poichè costituite da solo 22 istoni, hanno riacquisito capacità replicativa realizzando completa riparazione del tessuto cardiaco in necrosi ischemica (infarto)..

Esperienze analoghe anche con i neuroni cerebrali dopo danneggiamenti ischemici. Si delinea quindi anche per la retina la possibilità di ottenere ripopolazioni cellulari.

La patologia retinica miopica, la degenerazione maculare, la retinite pigmentosa potranno beneficiare di tale terapia. In caso di malattie genetiche come la retinite opportuno un preliminare impianto genico. Si aprono prospettive decisamente stimolanti, ritenute fino ad oggi non realizzabili.

RETINA E RADIAZIONI

L'ambiente terrestre è caratterizzato da un livello pressoché costante di radiazioni ionizzanti sia cariche ("elettroni, protoni") sia neutre ("raggi X"). Allorché una particella ionizzante attraversa una cellula, provoca danni direttamente dipendenti dalla intensità del flusso.

Il DNA reagisce attuando un rapidissimo lavoro di restauro con produzioni di fattori trofici (proteina XRCC1 - fattori di crescita). Il lavoro di restauro è semplice e rapido quando trattasi di danni al citoplasma; viceversa diviene più impegnativo quando coinvolga il nucleo.

In tal caso possono residuare imperfezioni geniche indicate come mutazioni (difformità delle sequenze amminoacidiche); queste comportano che una o più delle memorie del DNA sarà diversa da quanto programmato e quindi le strutture o le funzioni in cui interveniva risultano più o meno compromesse.

Segnaliamo, in quanto di interesse terapeutico, il comportamento delle cellule adiacenti alla cellula lesa che iniziano a produrre fattori di crescita pur essendo perfettamente sane. Si attua così un vero e proprio intervento di pronto soccorso, che però si estingue in brevissimo tempo quando la cellula lesa non sia più in grado di ripararsi. La organogenesi retinica in vitro permette un'analisi molecolare del processo con individuazioni delle sequenze proteiche che vi intervengono. Acquisizioni che potranno trovare proficua applicazione sia in campo chirurgico che medico.

LUCE E RETINA

La luce è energia; come tale se molto intensa e concentrata induce vere e proprie esplosioni cellulari.

Per intensità inferiori si ha semplice aumento di temperatura che provoca denaturazione proteica cioè coagulazione. Classico esempio è la fotocoagulazione laser.

Tralasciando gli effetti meccanici e termici correlati ad intensità e concentrazioni abnormi la luce, quale stimolo visivo, induce modificazioni biochimiche che realizzano la fototrasduzione cioè la conversione dello stimolo fotico in segnale bioelettrico da inviare al cervello.

La fototrasduzione, comporta interventi enzimatici importanti e richieste energetiche adeguate.

Quando l'esposizione alla luce supera le fisiologiche capacità energetiche retiniche si ha liberazione di ossigeno singoletto che, reagendo con lipidi, proteine, acidi nucleici, porta a destabilizzazione delle membrane cellulari e mitocondriali.

L'entità del danno è maggiore per le brevi lunghezze d'onda (blu) in quanto più energetiche e progressivamente minore per le più ampie (rosso); queste ultime tuttavia inducono aumenti di temperatura metabolicamente negativi.

La retina è protetta dal danno fototossico da più meccanismi: la cornea, ed il cristallino non lasciano passare le brevi lunghezze d'onda (ultravioletto e violetto), il riflesso pupillare limita la quantità di luce retinica, per esposizione prolungata dagli articoli dei fotorecettori si distaccano i dischi interrompendo così la foto-trasduzione: vero e proprio interruttore salva vita; infine, nella macula sono presenti pigmenti xantofillinici che neutralizzano le brevi lunghezze d'onda.

È operativa poi una protezione biochimica: superossido desmutasi, perossidasi, vitamina E, zinco, selenio ecc.

Questi sistemi sono efficienti nel giovane ma vengono progressivamente meno nell'anziano e in caso di patologie degenerative quali retinite pigmentosa e degenerazione maculare, le capacità di compenso biochimico decadono ulteriormente. La somministrazione di antiossidanti è utile ma va gestita con cautela per evitare

depressione dei sistemi antiossidanti endogeni con riduzione di concentrazione del glutathione ridotto o del superossido desmutasi intracellulare.

La fototossicità e la fotosensibilità sono evitabili adottando lenti filtranti che blocchino le lunghezze d'onda inferiori a 515nm e superiori a 700 nm. Queste ultime, anche se poco energetiche inducono infatti riscaldamento, peggiorando così i danni ossidativi. La protezione con lenti filtranti è essenziale in caso di degenerazione maculare o retinite pigmentosa.

SINTESI DELLE POSSIBILI STRATEGIE TERAPEUTICHE IN RAPPORTO AL QUADRO CLINICO

1. IMPLANTOLOGIA TISSUTALE (EPITELIO PIGMENTATO — FOTO RECETTORI)

Soggetti con patologie avanzate ed impoverimento cellulare retinico grave, possono beneficiare di interventi chirurgici finalizzati al reintegro della retina compromessa. Le organogenesi di retina in vitro fornisce un materiale di impianto ottimale. E' questo il reale progresso rispetto alle procedure implantologiche precedenti. I risultati sono soddisfacenti e le tecniche chirurgiche seppure complesse risultano sufficientemente sperimentate.

2. FATTORI DI CRESCITA

Soggetti con patologia iniziale mediamente evoluta e con ancora buona autonomia operativa possono beneficiare del trattamento antiapoptotico con fattori di crescita ed in particolare bFGF, definito dai ricercatori "salva cellule universale" grazie alla sua potente azione antiapoptotica svolta nei confronti di tutte le varietà di cellule retiniche. Le modalità di somministrazione sono varie ed debbono essere scelte individualmente. Esplicano una efficace stabilizzazione della malattia sia nella retinite pigmentosa che nella degenerazione maculare. La risposta è condizionata da molteplici fattori che vanno di volta in volta considerati. Non sono note complicanze.

3. IMPLANTOLOGIA GENICA

Soggetti con patologia genica neonatale

Soggetti con patologie ad insorgenza assai precoce ed evolutività marcata ed ingravescente. L'unica procedura efficace è l'impianto genico. Tale procedura, ufficializzata nel 2008, è risulta efficace e ragionevolmente sicura.

4. METILAZIONE - DEACETILAZIONE

Soggetti in età matura o avanzata con patologie evolutive possono beneficiare di trattamento associato con fattore di crescita fibroblastico bFGF e sostanze metilanti o deacetilanti, finalizzata a stabilizzare il ridotto tenore enzimatico del sistema epigenico e la apoptosi retinica proprio dell'età.

La valutazione epigenetica è oggetto di studio da parte di genetisti e biologi.

Le potenzialità si delineano di grande interesse clinico. Allo stato attuale è sostanzialmente limitata ad interventi farmacologici sul grado di acetilazione e metilazione del DNA.

5. SUPPORTO MITOCONDRIALE

Nei giovani il sistema mitocondriale è in grado di sopperire a maggiori richieste; nell'anziano o in caso di patologie retiniche con sofferenza cellulare mitocondriale, la produzione energetica diviene insufficiente. È questo il razionale di sussidi farmacologici finalizzati a migliorare l'ossidazione energetica e neutralizzare i danni ossidativi

SEMEIOLOGIA

La semeiologia della retinite pigmentosa e della degenerazione maculare si avvale oggi di mezzi strumentali estremamente sensibili ed affidabili, che permettono diagnosi precoci sicure e monitoraggi accurati sull'evoluitività.

ERG= Elettroretinogramma

Analizza la risposta bioelettrica della retina in condizione fotopiche e scotopiche. Risulta precocemente compromesso in pressochè tutte le degenerazioni tapetoretiniche classiche.

OCT= Tomografia oculare con luce coerente

Visualizza la morfologia della retina nei suoi vari strati. Particolarmente utile per individuare neovascolarizzazioni ed edemi sottoretinici. Permette la misurazione esatta della retina e dei singoli strati.

Perimetria

Quantifica la sensibilità alla luce delle diverse aree retiniche, dalla periferia alla fovea. Una valutazione topografica particolarmente accurata si ottiene con la micro perimetria. Turbe perimetriche tipiche si evidenziano in oltre il 70% dei casi di retinite pigmentosa classica.

Genetica molecolare

Trattandosi di patologie causate da mutazione geniche l'individuazione del gene difettoso assume importanza nell'eventuale programmazione d'impianto genico. Di fatto, individuare la turba genica significa anche conoscere l'alterazione metabolica causa della malattia, fornendo così preziosi elementi per trattamenti mirati. Sempre in ambito genetico risulta utile l'analisi del grado di metilazione del DNA.

EPICRISI

Quanto fin qui esposto ha molto semplificato le sequenze molecolari, cellulari, fisiologiche e fisiopatologiche che di fatto sono assai più complesse ed articolate.

Emerge comunque la significativa evoluzione della ricerca che da macromolecolare è divenuta molecolare, giungendo così all'acquisizione della "causa prima" di malattia. Le forme degenerative retiniche trovano quindi protocolli terapeutici specifici con strategie genetiche ed epigenetiche.

Si comincia a far luce sulle componenti epigenetiche e sul loro controllo dell'espressione genica in grado di condizionare o meno il manifestarsi della malattia. Si tratta di un dato particolarmente interessante sotto il profilo clinico in quanto le componenti epigenetiche sono facilmente modulabili farmacologicamente. Si concretizza quindi l'opportunità di neutralizzare l'espressività di anomalie geniche senza necessità di manipolare DNA.

I dati acquisiti nell'ambito della degenerazione maculare e della retinite pigmentosa

hanno ulteriormente chiarito le basi molecolari dell'eziopatogenetica, e permesso quindi scelte terapeutiche personalizzate. La semeiologia strumentale e quella genetica forniscono mezzi idonei alla realizzazione di tali obiettivi. Patologie ritenute ineluttabili si delineano controllabili.

FARMACOTOSSICITA'

Riteniamo utile riportare in breve sintesi taluni farmaci di uso comune che hanno effetto tossico sulla retina. Sottolineando che in caso di patologie degenerative retiniche il danno può essere grave anche per dosi modeste e per tempi di somministrazione brevi.

Questi agenti hanno differenti meccanismi d'azione, le problematiche si complicano quando sussistono associazioni farmacologiche.

Farmaci derivati della fenotipazine: in particolare quelli con catene piperidiliche trovano impiego nelle patologie psicotiche nell'ansia, nello stress, nella nausea, nel vomito, nel singhiozzo.

L'effetto retinico tossico è sostanzialmente legato all'affinità di queste molecole per la melanina, pigmento tipico delle cellule dell'epitelio pigmentato che risultano le più danneggiate. Il quadro simula in soggetti normali una degenerazione tapeto-retinica.

Alcuni effetti: offuscamento della visione per azione simpatropina, sofferenza corneale e cristallinica, con mobilitazione pigmentaria irido-ciliare.

4 Aminochinolici

Cloroquina, idrossicloroquina, indometacina, chinino.

Trovano impiego come: antimalarici, artrite reumatoide, Lupus erimatoso, disturbi dermatologici.

Effetto tossico con destabilizzazione delle cellule dell'epitelio pigmentato, vasculopatie retiniche ischemiche con sofferenza del nervo ottico (atrofia).

Basse dosi per terapie preventive possono favorire il manifestarsi di maculopatie atrofiche.

Aminochinolici trovano impiego nella ipercolesterolemia e dislipidemia, agiscono con blocco enzimatico epatico (come le statine).

L'effetto sulla retina sembra correlato a turbe enzimatiche sulle cellule di Muller che si idrolizzano con danno per tutti gli strati retinici.

La sintomatologia oculare è un edema maculare cistoide con risparmio foveale (non ci sono le cellule di Muller). Tipica l'assenza di perdita vasale (leakage) e l'annebbiamento visivo al risveglio.

Epinefrina collirio : simapicomimetico con sia β che α stimolanti. In clinica si sfrutta l'effetto midriatico e decongestionante ciliare.

La tossicità retinica sembra attribuibile alle varianti indotte sull'adenociclastasi (enzima cellulare presente anche a livello retinico).

Clinica: edema maculare cistoide con perdite (leakage), emorragia a fiamma.

Di norma con la sospensione la sintomatologia regredisce. Gli effetti possono risultare più duraturi per somministrazione prolungate in pazienti anziani.

Contraccettivi orali: Contengono estrogeni e progesterone sintetici derivati, gli estrogeni dall'ormone naturale estradiolo, i progestinici dagli ormoni naturali, testosterone e 19 nortestosterone.

L'effetto lesivo sembra sostanzialmente dovuto all'incremento della coagulazione che favorisce vasculopatie venose trombotiche retiniche.

Va precisato che l'incidenza è bassa, considerato il numero di donne che ne fanno uso. La progressiva riduzione della concentrazione di estrogeni sembra che abbia comunque ridotto ulteriormente le complicanze trombotiche.

In caso di patologie retiniche edematose è comunque da evitare l'assunzione del farmaco.

Alcaloidi della segale cornuta : Sono potenti vasocostrittori usati nel trattamento della cefalea, delle emorragie post partum, dell'ipotensione ortostatica.

L'effetto retinico tossico è direttamente collegato all'induzione di vasospasmo e sofferenza ischemia papillo-retinica. Da evitare l'assunzione in caso di degenerazione tapeto-retinica.

Antibiotici : L'iniezione terapeutica o involontaria di antibiotici risulta comunque tossica per la retina.

Particolarmente lesivi gli amino glicosidi. In particolare la gentamicina, anche a dosaggi bassi (0.4 mg), la tobramicina e la vancomicina.

Ruolo aggravante l'afachia, la vitrectomia, preesistente flogosi (alterazione delle barriere naturali).

I segni clinici precoci sono emorragia, edema, essudati cotonosi. Oltre alla somministrazione endovitreali possono avere effetti tossici la installazione di colliri così detti rinforzati, con elevata concentrazione, specialmente in occhi afachici o vitrectomizzati.

Interferoni : Sono molecole glicoproteiche naturalmente presenti nell'organismo con attività antineoplastica ed antivirale e rientrano nei protocolli terapeutici dell'epatite C.

Le complicanze oculari sono la neuropatia ottica e la retinica ischemia, con essudati cotonosi, analogamente quanto visto con gli antibiotici, da evitare quindi in tutte le retinopatie.

Particolare prudenza quando ci si trovi in occhi con trapianto di cornea, in cui si può verificare una crisi acuta di rigetto.

Tamoxifene : E' un antiestrogeno. Rientra nei protocolli terapeutici in caso di tumore della mammella positivo ai recettori per gli estrogeni. Dosi da 60-100 mg die possono indurre depositi retinici paramaculari con edema maculare, riduzione del campo visivo, alterazione dell'elettrocardiogramma, turbe della visione cromatica.

Circa il meccanismo di tale retino-tossicità non sussistono elementi certi; forse significativa l'analogia molecolare del tamoxifene con la cloroquina, clorpromazina ecc. (vedi sopra).

Tutte tali molecole sono caratterizzate dalla coesistenza di una catena idrofoba e di una catena idrofila positiva.

Chemioterapici : Rientrano nei protocolli della terapia antitumorale. Il rischio è di sofferenza retinica ischemico emorragico edematosa in particolare con: cisplatino-nitrosouree-clorambucil-procarbazine-torotrone.

Comunque in caso di trattamenti chemioterapici opportuno un monitoraggio retinico (acuità visiva, campo visivo, OCT) soprattutto quanto le condizioni di base retiniche presentino miopia (miopia elevata, patologie degenerative, esiti traumatici, esiti flogistici).

Digitale : La digossina è il glucoside cardiaco più usato nelle aritmie ed insufficienza contrattile.

Purtroppo la dose terapeutica è prossima alla dose tossica: circa il 7% dei pazienti che assumono digitale manifestano segni di patologia iatrogena.

L'effetto della digitale sulla retina si determina per blocco delle pompe ioniche Na/K - ATPasi dei coni, con anomala dinamica degli ioni potassio per cui in pratica i recettori sono poco eccitabili. Poiché i fotorecettori più attivi metabolicamente sono i coni si manifesta anomalia della visione cromatica. Gli oggetti possono apparire rossi o verdi o gialli quando realmente sono di altri colori. Proprio l'esame del senso cromatico rappresenta un marker particolarmente precoce d'intossicazione. Le alterazioni sono comunque reversibili con la sospensione del farmaco.

Prudenza comunque in caso di degenerazione maculare e retinite pigmentosa.

Carotene -4.4 - dione : Paradossalmente questa molecola, pur rientrando nell'ampia famiglia dei carotenoidi naturali (400 tipi di molecole), al di sopra di certe concentrazioni risulta dannoso per la retina, per accumulo di microcristalli. Riteniamo opportuno segnalarlo perché tale molecola è ampiamente impiegata come colorante alimentare approvato dalla FDA americana (Food and Drugs Administration) nella concentrazione di 15mg/grammo, viene altresì usato in campo dermatologico nel trattamento degli stati di fotosensibilità come proto porfia eritropoietina, psoriasi, eczema fotosensibile ecc.

A livello cosmetico tale molecola è sfruttata come abbronzante, sia per applicazioni cutanee sia per assunzione orale. Non meraviglia quindi se dal 1982 sono state segnalate retinopatie da accumulo, caratterizzate da microcristalli disposti ad anello attorno alla macula. Di fatto, a livello istologico i cristalli sono presenti in tutta la restante retina. Il sintomo più caratteristico è una marcata ed ingravescente emeralopia (difficoltà di adattarsi al buio), mentre l'acuità visiva ed il senso cromatico sono mantenuti.

Sospendendo l'assunzione si ha regressione dei cristalli retinici assai lenta fino ad oltre 7 anni, e peraltro la regressione dei livelli serici si prolunga oltre i 9 mesi.