

4

## EDITORIALE

Una vita per la prevenzione  
*di M. Corcio*

6

## L'INTERVENTO

Più umani con gli anziani  
*di F. Fazio*

10

## NEWS DALL'ITALIA

Cellule della pelle trasformate in neuroni - Oltre undici milioni di ricoveri in Italia - Abolito il limite di due decimi per le intravitreali - Sì a tagli alla politica, ma sosteniamo i disabili - Reimparare a vedere, intervista al dott. Aldo Fronterre - Riconoscimento presidenziale

16

## NEWS DALL'OFTALMOLOGIA MONDIALE

Tumori, un collirio che migliora la vista - Meno cataratta con poca carne - Guardare ai gemelli per capire l'AMD - Quei globuli bianchi che 'divorano' la retina - Quando la salute del feto va... in fumo

20

## STRANO MA VERO

Vedere... con la lingua - Occhiali High-Tech per ipovedenti - Meccanico alla cieca

21

## OCCHIO TECNOLOGICO

Il tablet che guarda a medico e paziente - L'uso dell'iPad in oftalmologia

24

## L'INTERVISTA

Nanoparticelle contro la retinite pigmentosa. Parla la dott.ssa Enrica Stretto  
*di G. Galante*

29

## AGGIORNAMENTO

L'autofluorescenza a luce blu  
*di A. Giani*

34

## RECENSIONI LIBRI

Porte aperte al pensiero - Meno soluzioni reali dalle staminali

35

## LAVORO SCIENTIFICO

Riabilitazione visiva nella maculopatia di Stargardt  
*di D. Domanico, F. Verboschi, I. Domanico, V. De Rosa, F. Martella, E.M. Vingolo*

42

## LAVORO SCIENTIFICO

Sperimentate staminali per riparare la retina  
*di Budd A. Tucker, In-Hyun Park, Sara D. Qi, Henry J. Klassen, Caihui Jiang, Jing Yao, Stephen Redenti, George Q. Daley, Michael J. Young*

# Una vita per la prevenzione

**L'attività dell'Agencia internazionale per la prevenzione della cecità-IAPB Italia onlus: dalla sua fondazione fino alla creazione del Polo Nazionale per la Riabilitazione Visiva**

## EDITORIALE

**M. Corcio**

*Vicepresidente della IAPB Italia onlus*

**Q**uando venne costituita la Sezione italiana dell'Agencia internazionale per la prevenzione della cecità-IAPB Italia onlus, nel 1977, non aveva una propria sede: si trovava presso l'Unione italiana ciechi a Roma. Però c'era un grande entusiasmo, una volontà comune – insieme al Prof. Bietti della Società Oftalmologica Italiana – di voler incidere anche sull'opinione pubblica parlando di prevenzione della cecità.

Ci sono voluti ben vent'anni per l'approvazione di una norma che riconoscesse ufficialmente la Sezione italiana della IAPB. Quindi, con la legge n. 284 del 1997, cominciò la vera fase organizzativa della nostra Agenzia<sup>1</sup>. Con l'inizio ufficiale delle nostre attività non solo avemmo la possibilità di acquisire una sede, ma cominciò il nostro lavoro finalizzato alla prevenzione grazie al supporto finanziario che derivava dalla legge. Cominciò a riunirsi più frequentemente la nostra Direzione Nazionale: iniziarono a costituirsi i diversi comitati regionali e provinciali della nostra Agenzia e iniziammo ad acquisire qualche altra Unità mobile oftalmica. Ciò significò una crescita delle iniziative a livello territoriale, un'intensi-

ficazione dell'attività di promozione della cultura della prevenzione della cecità e l'attuazione dei primi progetti. Dopo qualche anno avviammo delle azioni di sensibilizzazione e di conoscenza della nostra attività in varie città italiane. Questo significò un incremento di tutte le nostre attività: dall'iniziativa *Vediamoci Chiaro* (che prevede la distribuzione di materiale didattico nelle scuole) ad *Apri gli Occhi!* (basata su uno spettacolo scientifico-educativo per i ragazzi delle primarie).

Contestualmente si è sviluppata la nostra attività non solo a livello nazionale mediante i rapporti col Ministero della Salute e col Parlamento, ma anche a livello internazionale. Più in particolare, negli anni Duemila è iniziata una collaborazione diretta con l'Oms di Ginevra. Abbiamo dato così vita nel 2005 alla *Task Force* per la prevenzione della cecità e per la riabilitazione visiva nei Paesi del Maghreb e nel Nord Africa: abbiamo attuato alcuni interventi di prevenzione della cecità in aree povere del mondo, con accordi diretti stretti con i Ministeri della Sanità del Marocco, della Tunisia nonché dell'Etiopia<sup>2</sup>.

È chiaro che questa meravigliosa avven-

<sup>1</sup> Ricordo che, nel dicembre di quell'anno, organizzai nella mia provincia (a Foggia) il primo convegno per la prevenzione della cecità. In quell'occasione intervennero come relatori l'avv. Giuseppe Castronovo – che già svolgeva le funzioni di Presidente dell'Agencia – e il Prof. Enzo Tioli, che ne era stato uno dei promotori. Qualche mese dopo, a marzo del 1998, venni nominato dall'Unione italiana ciechi tra i quattro rappresentanti in seno alla Direzione Nazionale della IAPB. Cominciò così per me questa meravigliosa avventura.

<sup>2</sup> tra l'altro la nostra attività è stata riconosciuta recentemente dall'Associazione medici oculisti per l'Africa in un convegno.

tura sta portando ad importanti risultati. Il risultato istituzionale maggiormente evidente è la creazione – per decreto del Ministero della Salute – della Commissione Nazionale per la prevenzione della cecità. Una proposta che la nostra Agenzia ha avanzato diversi anni fa al Dicastero della Salute sulla scorta di una raccomandazione dell'Oms ai diversi Paesi. Finalmente due anni fa, in occasione della Giornata Mondiale della Vista (che si celebra ogni secondo giovedì di ottobre), c'è stata la comunicazione – da parte del Ministro della Salute Ferruccio Fazio – della costituzione della Commissione. Certo, noi l'avevamo pensato come un organismo snello, rappresentativo ma operativo, costituito dal Ministero della Salute, dall'Agenzia internazionale per la prevenzione della cecità e da Cbm. Ragioni diverse hanno portato invece il Ministro a coinvolgere un numero più ampio di esperti e la Presidenza della Commissione è stata affidata al Prof. Mario Stirpe.

Possiamo dire che, grazie alla nostra azione, è cresciuta senza dubbio la consapevolezza – da parte degli oculisti – di fare della prevenzione e della riabilitazione dei valori e delle pratiche importanti per la loro professione. Non basta certamente effettuare una vi-

sita oculistica. Bisogna che questi nostri validissimi collaboratori, i medici oculisti, si convincano sempre più dell'importanza della prevenzione primaria: dell'educazione, dell'informazione e della sensibilizzazione alle buone pratiche.

La nuova frontiera della nostra azione è costituita dalla riabilitazione visiva. Infatti l'altro nostro sogno – che si è tramutato in progetto e, quindi, realtà operativa – è il nostro Polo Nazionale di servizi e ricerca per la prevenzione della cecità e la riabilitazione visiva degli ipovedenti, che si trova presso il Policlinico A. Gemelli di Roma. Lo abbiamo sognato agli inizi degli anni Duemila, lo abbiamo progettato nel 2002 e abbiamo ottenuto la legge istitutiva nel 2003 (la n. 291); quindi lo abbiamo concretamente realizzato e inaugurato nell'ottobre del 2007. Nel volgere di quattro anni sono molte le persone che sono state visitate al nostro Polo e sono state immesse nel circuito riabilitativo. Questo ha significato non solo un loro miglioramento psicologico, ma anche un miglioramento della loro qualità della vita. La riabilitazione è una strada che ogni oculista dovrebbe tenere a mente come opportunità di trattamento per i pazienti ipovedenti.

## COME PRENOTARE UN CHECK-UP OCULISTICO GRATUITO

*Per prenotare un check-up gratuito si può chiamare il numero verde 800-973489<sup>3</sup>. Quindi il cittadino verrà indirizzato ad uno degli oculisti che ha dato anticipatamente la sua disponibilità a effettuare un controllo gratuito<sup>4</sup>. Il check-up non sostituisce però una visita oculistica completa: ha il fine precipuo di prevenire eventuali malattie*

*oculari e se ne potrà beneficiare se non ci si controlla almeno da un anno. La prescrizione degli occhiali, inoltre, è facoltativa. L'iniziativa è promossa e organizzata dall'Agenzia internazionale per la prevenzione della cecità-IAPB Italia onlus in partnership con la Società Oftalmologica Italiana (SOI).*

<sup>3</sup> attivo dal 19 settembre per oltre un mese, dal lunedì al venerdì, dalle 9 alle 13 e dalle 14 alle 18.

<sup>4</sup> Per i medici oculisti la disponibilità a prestare la propria opera va comunicata inviando un'e-mail all'indirizzo [iapbitalia@iapb.it](mailto:iapbitalia@iapb.it)

# Più umani con gli anziani

**In Italia venti persone su cento hanno più di 65 anni. Decongestionare la sanità è la parola d'ordine del Dicastero della Salute sia per gli ospedali che per il pronto soccorso**

## L'INTERVENTO<sup>1</sup>

**F. Fazio**

*Ministro della Salute*



**“LA PATOLOGIA  
CRONICA  
VA PREVENUTA  
PIÙ CHE CURATA”**

**Il Ministro della Salute Ferruccio Fazio**

“**V**oi sapete che siamo al 20% degli over 65 in Italia, ma nel 2050 saremo al 35%. Gli anziani con più di 65 anni hanno il 50% di probabilità di avere delle malattie croniche, che non possiamo più curare negli ospedali

non perché sia costoso, ma perché non è giusto che l'anziano entri ed esca da un ospedale. Innanzitutto l'ospedale vicino casa non è più una struttura di riferimento – che sono poche e molto tecnologiche –: è per questo che c'è una tendenza [a farvi ricorso] per dei ricoveri molto brevi e assolutamente necessari, ma

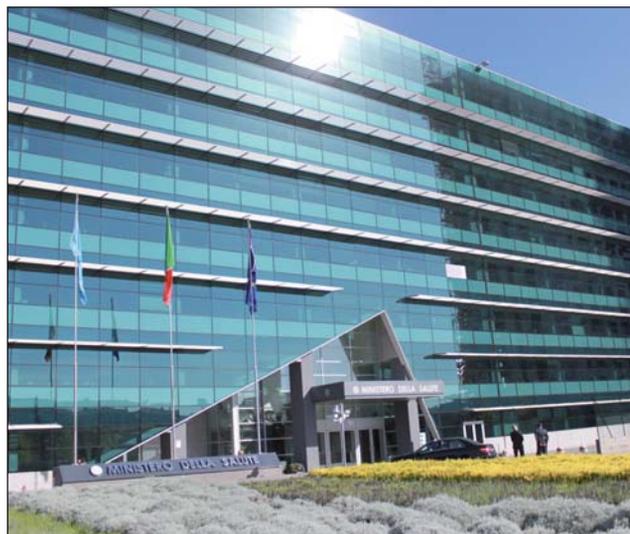
<sup>1</sup> Tenuto il 16 giugno 2011 presso il Sanit di Roma, il Forum internazionale della salute, dietro invito di Federanziani.

[bisognerebbe] gestire il resto delle patologie croniche sul territorio, in particolare quelle degli anziani.

La patologia cronica va prevenuta più che curata. Le malattie croniche (il diabete, le malattie cardiovascolari, i tumori...) vanno gestite con la prevenzione primaria, che è quella che riguarda tutta la popolazione (quindi gli stili di vita sani, la buona alimentazione, l'esercizio fisico, la lotta al fumo, la lotta all'alcol). Noi abbiamo promosso l'esercizio fisico dell'anziano in alcune regioni – come l'Emilia Romagna, la Lombardia e la Sicilia – proprio per [...] la prevenzione delle malattie. Dovete sapere che uno dei programmi principali delle cosiddette *joint actions*, azioni congiunte, su cui si concentra l'Unione europea è chiamata *Healthy Ageing*, "Invecchiare sani", un obiettivo a cui tutti dobbiamo puntare e su cui la Sanità sta investendo moltissimo [...].

Ci sono, inoltre, dei progetti, finanziati dall'Unione europea, con cui stiamo studiando la cosiddetta 'domotica', cioè delle tecnologie architettoniche che consentono all'anziano di muoversi meglio in casa. Stiamo anche studiando un progetto con dei 'cacciatori di teste' per fare in modo che gli anziani possano, magari al computer, lavorare anche dopo l'età della pensione e dare il loro contributo [...].

Quello che ci stiamo sforzando di fare come Sanità è considerare la persona e non il sintomo: prendere in carico l'ammalato e dargli una continuità assistenziale, in modo tale che sia sempre un riferimento sul territorio (dobbiamo dargli la possibilità di cura del medico di base e del medico di medicina generale). Ci vogliamo rivolgere soprattutto all'anziano fragile, che ha spesso molte patologie e ha bisogno di quello che si chiama un approccio multidimensionale: da un lato l'anziano va inteso come persona e non come un insieme di sintomi ma, dall'altro, va trattato



Ministero della Salute (sede di Roma Eur)

in tutti i suoi aspetti (psicologico, dell'auto-sufficienza e delle varie patologie). [...] A livello delle regioni vogliamo mettere in piedi dei meccanismi di uniformità per quel che riguarda l'assistenza socio-sanitaria [...].

Però maggior territorio non deve significare che, quando l'anziano va in ospedale, poi venga abbandonato: puntiamo a un'integrazione ospedale-territorio per realizzare una vera continuità assistenziale [...]. Dobbiamo avere una sanità in cui il cittadino venga 'preso per mano' all'ingresso del sistema sanitario dal medico di famiglia e condotto sul territorio – solo in ospedale quando necessario – lungo questo percorso. Quindi, da un lato [occorrono] le cure territoriali, l'assistenza domiciliare, i centri diurni per gli anziani con disabilità e, dall'altro, la prevenzione. Già il nostro Paese dedica il 5% del Fondo sanitario nazionale [...] alla prevenzione primaria, secondaria e terziaria; ma un altro aspetto importante è l'emergenza-urgenza. Troppo spesso avviene di trovare degli anziani che fanno le code nei pronto soccorsi [...].

Abbiamo avviato e stiamo avviando una riforma dell'emergenza-urgenza per spostare le emergenze meno gravi sul territorio (codici bianchi e verdi, per cui non ci sono danni agli

**“TROPPO SPESSO  
GLI ANZIANI  
FANNO LE CODE  
AL PRONTO  
SOCCORSO”**



Unità mobile oftalmica della IAPB Italia onlus per check-up oculistici gratuiti

organi vitali e non si rischia la vita nell'immediato), che può essere anche un ambulatorio vicino gestito dai medici di medicina generale. Questo servirà a 'decomprimere' questi famosi codici verdi che devono aspettare se, nel frattempo, al pronto soccorso si presenta una situazione più grave. Ne abbiamo già discusso con i sindacati, ne ab-

biamo discusso con le Regioni. Noi ci auguriamo che questa sia un'iniziativa che riesca realmente a realizzare un abbattimento delle code nei pronto soccorsi. Ma specificatamente per l'anziano (in particolar modo quello con fragilità) abbiamo avviato un progetto – questo è il secondo anno – che si chiama codice argento. Questo significa identificazione dell'anziano fragile e la creazione di un percorso privilegiato (abbiamo iniziato la sperimentazione in quattro regioni): egli riceverà una sorta di carta argento e avrà una persona<sup>2</sup> che si prenderà cura di lui e lo seguirà in tutto il percorso, dal pronto soccorso al ricovero. Ma non solo: dopo il ricovero si occuperà del reinserimento nel territorio e della continuità assistenziale. Inoltre abbiamo recentemente dato vita a quella che è la rete delle malattie dell'anziano, con sede ad Ancona<sup>3</sup>. [...]

Pensiamo di essere sempre più vicini agli anziani e crediamo che [l'essere nella terza età] debba sempre più diventare un'opportunità e non un problema [...].

## PIÙ RIABILITAZIONE E SERVIZI PER LA TERZA ETÀ

*Nel nostro Paese un italiano su cinque è ultrasessantacinquenne e gli ultraottantenni rappresentano ormai il 5,8% della popolazione. Per questo motivo si rende sempre più necessaria l'attenzione delle istituzioni e degli operatori sanitari verso la richiesta di servizi per la cura e la diagnosi. Inoltre occorrono interventi di riabilitazione visiva per garantire assistenza agli anziani con gravi patologie della*

*vista. Ad oggi si stima che quasi i due terzi della spesa delle amministrazioni pubbliche si concentri nella previdenza (66,1%), mentre alla sanità è destinato il 25,5% e all'assistenza il restante 8,4%.*

*Le patologie oculari nella popolazione sono determinate da un insieme di fattori. Le cattive abitudini di vita<sup>4</sup>, la maggiore esposizione a radiazioni ultraviolette<sup>5</sup>, l'aumento dell'aspettativa di vita sono tra*

<sup>2</sup> chiamata 'angelo custode', di fatto un case manager.

<sup>3</sup> Il prof. Bernabei è stato nominato coordinatore di questa rete insieme col prof. Pecorelli che gestisce la problematica dell'antiaging dobbiamo vedere di andare in questa direzione.

<sup>4</sup> con i fumatori che rappresentano il 23% della popolazione di 14 anni e più, percentuale che sale al 32,3% fra i 25-34enni, i consumatori di alcool a rischio il 16,1% e le persone obese il 10,3%.

<sup>5</sup> Per il buco dell'ozono e per il suo assottigliamento.

*i fattori che rendono sempre più diffusi sia i disturbi della superficie oculare (come l'occhio secco) e sia patologie degenerative – tipiche dell'età senile – come la cataratta, le malattie maculari, il glaucoma, la retinopatia ipertensiva e quella diabetica.*

*La **degenerazione maculare legata all'età (AMD)** è attualmente la prima causa di cecità e di ipovisione nei Paesi occidentali, Italia compresa. Secondo l'Oms il 41% dei casi di cecità e di ipovisione che si verificano negli Stati di maggior benessere è dovuto a questa patologia oculare. In Italia si calcola che siano affette da AMD circa un milione di persone; ogni anno si verificano tra i 63mila e i 91mila casi. L'incidenza dell'AMD è rara prima dei 55 anni, ma aumenta molto dopo i 75 anni.*

*Secondo l'Istat la **cataratta** – generalmente operabile – colpisce l'8,5% della popolazione italiana tra i 70 e i 74 anni, il 12,4% nei cinque anni successivi e il 17,1% di chi supera gli 80 anni.*

*Stando all'Oms il **glaucoma** colpisce circa 55 milioni di persone sulla Terra ed è una delle principali cause di disabilità visiva; in Italia si stima che quasi un milione di persone ne siano affette, ma si calcola che circa la metà non ne sia ancora a conoscenza. La cecità provocata dal glaucoma si può prevenire misurando periodicamente la pressione oculare; ma la*

*malattia deve essere diagnosticata e curata tempestivamente.*

*Tra le patologie croniche sistemiche che colpiscono più frequentemente gli anziani ricordiamo il diabete (che secondo l'Istat colpisce il 4,9% della popolazione italiana) e l'ipertensione arteriosa (16,0%). La **retinopatia diabetica** è una delle complicanze del diabete e attualmente è*

*una delle principali cause di ipovisione e cecità nei Paesi sviluppati. La causa principale è la presenza di un diabete mal controllato che, col tempo, porta allo sviluppo di alterazioni dei piccoli vasi sanguigni fino a creare dei veri e propri sfiancamenti (microaneurismi) e, quindi, alla trasudazione della parte liquida del sangue in prossimità della regione maculare, che può provocare la maculopatia diabetica (edema maculare cistoide). Secondo l'Oms il diabete colpisce 220 milioni di persone nel*

*mondo; stando all'Istat solo in Italia i diabetici rappresentano il 4,8% della popolazione e sono, dunque, poco meno di tre milioni e generalmente sono anziani (il 14,5% degli over 65).*

*L'ipertensione è ancora più diffusa nel nostro Paese: si va dal 25,9% tra i 55 e i 64 anni a oltre il 37,2% dopo i 70, passando per il 31,6% in una fascia d'età compresa tra i 65 e i 69 anni. Essa può causare retinopatia ipertensiva.*

*(s.m.)*



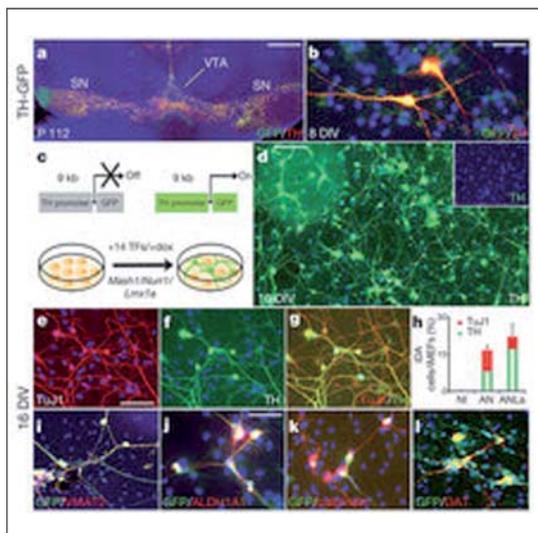
Visita oculistica in una struttura ospedaliera

## CELLULE DELLA PELLE TRASFORMATE IN NEURONI

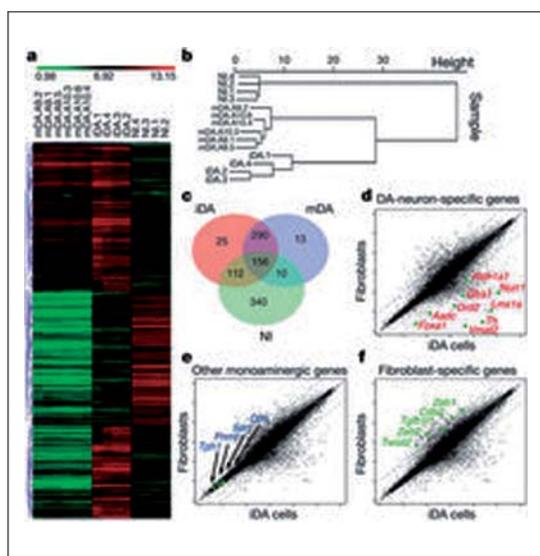
Un'équipe di ricercatori italiani è riuscita a saltare lo stadio di staminali e ha ottenuto risultati interessanti contro il Parkinson. Ora si punta a creare fotorecettori funzionanti partendo dai fibroblasti

Somiglia alla missione degli alchimisti, ma questa volta è in gioco la cura delle malattie neurodegenerative: sono state trasformate comuni cellule della pelle (fibroblasti) in neuroni funzionanti capaci di produrre dopamina che, una volta impiantati, si sono dimostrati efficaci contro il Parkinson. L'impresa, di cui ha reso conto *Nature*<sup>1</sup>, ha una portata tale che ha già suscitato gli appetiti di un'azienda farmaceutica che ha deciso di acquistare il brevetto dall'Ospedale S. Raffaele di Milano a cui va il grande merito della scoperta assieme all'Istituto di Tecnologia di Genova e a vari centri di ricerca triestini.

L'équipe di ricercatori italiani è riuscita a



Fibroblasti murini geneticamente riprogrammati fino a diventare neuroni (Foto: Nature)



Profilo genetico delle cellule delle cavie (Nature)

trasformare direttamente in neuroni adulti funzionanti le cellule della pelle – sia umane che di topo – per trattare una grave malattia neurodegenerativa come il Parkinson. Pur trattandosi di uno studio sperimentale, le prospettive sembrano molto promettenti anche per le altre malattie degenerative, tra cui quelle che provocano la perdita dei neuroni retinici.

Questa ricerca si è basata su una sofisticata riprogrammazione genetica. Grazie a tre geni (*Mash1*, *Nurr1* e *Lmx1a*) sono stati fatti scattare degli 'interruttori' nel Dna che hanno consentito la metamorfosi dei cosiddetti fibroblasti (cellule dei tessuti connettivi) in neuroni maturi che rilasciano dopamina e sono dotati di attività elettrica: contribuendo a controllare la funziona-

lità motoria riescono anche a migliorarla quando arrivano i 'rinforzi'.

La ricerca annovera come autore principale Vania Broccoli, capo dell'Unità di cellule staminali dell'ospedale S. Raffaele.

<sup>1</sup> "Direct generation of functional dopaminergic neurons from mouse and human fibroblasts" di M. Caiazzo, M. Teresa Dell'Anno, E. Dvoretzskova, D. Lazarevic, S. Taverna, D. Leo, T. D. Sotnikova, A. Menegon, P. Roncaglia, G. Colciago, G. Russo, P. Carninci, G. Pezzoli, R. R. Gainetdinov, S. Gustincich, A. Dityatev & V. Broccoli, *Nature*, doi:10.1038/nature10284, Published online 03 July 2011.

“Stiamo adottando lo stesso approccio per i fotorecettori: so che è una pazzia, ma io – spiega il ricercatore – credo fermamente che un fibroblasto possa essere trasformato in fotorecettore. **La nostra idea è generare i fotorecettori direttamente dalle cellule della pelle: in prima istanza i bastoncelli e poi i coni.** Per ora non abbiamo ancora ottenuto le cellule che desideriamo: abbiamo degli intermedi e ci stiamo lavorando tanto, ma senza sapere bene dove stiamo andando. Questo però è il nostro obiettivo: ottenere cellule terapeuticamente valide”. Se riusciranno nell’intento si potrà forse ridare la vista a quei ciechi e ipovedenti che l’hanno perduta a causa di una malattia retinica degenerativa: si potrà disporre di una sorgente virtualmente inesauribile di fotorecettori. Si tratta, comunque, di una tecnologia che è, secondo Broccoli,

“abbastanza plasmabile: possiamo direzionarla a seconda della tipologia del neurone che ci interessa. Il fotorecettore – ha puntualizzato il responsabile dell’Unità di cellule staminali del S. Raffaele – non è altro che un neurone altamente modificato”. Per inciso ricordiamo che nel 2008 lo stesso Broccoli aveva vinto un bando del Polo Nazionale per la Riabilitazione Visiva con un programma di ricerca intitolato “cellule pluripotenti riprogrammate, da utilizzare come fonte rinnovabile a lungo termine come progenitrici dei fotorecettori”. L’impresa della trasformazione diretta di cellule della pelle in neuroni era in realtà già stata conseguita per la prima volta nel 2010 dall’Università di Stanford. Però col S. Raffaele si è andati oltre: si sono ottenuti neuroni elettricamente attivi e dotati di eccezionali capacità terapeutiche. (g.g.)

## OLTRE UNDICI MILIONI DI RICOVERI IN ITALIA

**La stima del Ministero della Salute include day hospital e riabilitazione effettuati nel 2010**

L’attività ospedaliera in Italia per il 2010 si è attestata oltre gli 11 milioni di ricoveri, in diminuzione del 4,9% rispetto all’anno precedente. In particolare questa riduzione stimata sembra particolarmente marcata per il day hospital (soprattutto per acuti) e per la riabilitazione. Le giornate di degenza calcolate in prima battuta risultano pari a circa 70,7 milioni, con una riduzione del 3,7% lo scorso anno rispetto al 2009. È quanto ha evidenziato il Ministero della Salute nel Rapporto preliminare sull’attività di ricovero in Italia, elaborato in base ai dati ricavati dalle schede

di dimissione ospedaliera (SDO). Il tasso di ospedalizzazione del 2010 è di circa 174,5 per mille abitanti ed è comprensivo delle varie tipologie di attività (acuti, riabilitazione e lungodegenza, regime ordinario e day hospital). La riduzione più evidente del tasso di ospedalizzazione si è registrata per gli acuti e per il ricovero diurno. (a.a.)



## ABOLITO IL LIMITE DI DUE DECIMI PER LE INTRAVITREALI

**I malati di AMD essudativa potranno accedere alle cure rimborsabili dal SSN anche se sono ipovedenti medio-gravi**



**I** malati della forma più grave di degenerazione maculare legata all'età, detta umida o essudativa, possono ora beneficiare del rimborso del Sistema Sanitario Nazionale delle iniezioni intravitreali anche se vedono meno di 2/10. Lo ha deliberato lo scorso luglio all'unanimità l'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) solle-

citata, tra gli altri, dalla Società Oftalmologica Italiana (SOI). Ciò significa che, per rallentare la proliferazione incontrollata dei nuovi vasi dannosi per la retina, i medici oculisti potranno praticare più spesso cicli di iniezioni nel bulbo oculare dei cosiddetti anti-VEGF. La SOI, a partire dallo scorso febbraio, aveva promosso una campagna che aveva portato a oltre 10.000 lettere di protesta inviate all'attenzione delle Istituzioni sanitarie e al presidente della Repubblica Giorgio Napolitano. (a.a.)

## SÌ A TAGLI ALLA POLITICA, MA SOSTENIAMO I DISABILI

**T**agliare i costi della politica salvando invece l'assistenza ai disabili. La missione di Giuseppe Castiglione, Presidente dell'Unione Province d'Italia (UPI), è stata ancora più chiara quando, lo scorso 21 luglio, ha tenuto una conferenza stampa a



Da sinistra M. Corcio (IAPB), G. Castiglione (UPI) e G. Terranova (UICI)

Roma: a suo giudizio cancellare le province non è la soluzione per far risparmiare veramente lo Stato. Il quale può migliorare la sua efficienza e alleggerire i costi non solo accorpendo Regioni, Co-

muni e le stesse Province ma anche eliminando poltrone inutili nelle società con partecipazione degli enti territoriali (consiglieri d'amministrazione). I disabili – che già protestano per tagli lineari – non devono però essere penalizzati. Al contrario, ha osservato Castiglione, “c'è bisogno di fare nuova formazione per i non vedenti. Storicamente le province hanno assistito i ciechi e sono state abbastanza impegnate sul versante sociale: vogliamo rafforzare questa collaborazione”.

## L'intervista

### REIMPARARE A VEDERE

*Impiantata una cornea artificiale su una trentenne: per la prima volta ha visto il volto del fidanzato*

Cieca da quando era piccola, torna a vedere da un occhio grazie a una cornea artificiale. È avvenuto a una trentenne di Caserta operata dal dott.

Aldo Fronterre, che abbiamo intervistato.

**Impiantando la cornea artificiale si è potuta ridare la vista a una persona?**

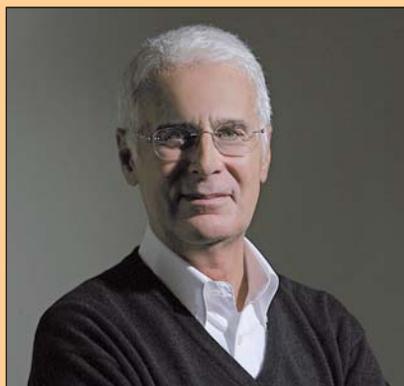
Sì, questa signora aveva un glaucoma congenito e aveva subito diversi interventi: l'esito finale era un opacamento completo della cornea con neovascolarizzazione. Non avevano mai fatto un trapianto perché la vascolarizzazione della cornea era ricchissima. Anch'io ho pensato di non farlo con cornea umana; a questo punto ho ritenuto che l'unico sistema fosse una cheratoprotesi, cioè la cornea artificiale che, da un lato, non potesse diventare opaca e, dall'altro, non potesse provocare rigetto.

**L'intervento è andato bene?**

Sì, è andato bene subito anche se, asportando la cornea opaca, ho scoperto che non c'era più l'iride. In più c'era una cataratta molto dura, cretacea, che ho asportato con criodo. La ialoide è rimasta intatta e poi ho impiantato una cornea artificiale: la cheratoprotesi di Boston, che ha funzionato benissimo, nei limiti dal fatto che il nervo ottico è stato danneggiato dal glaucoma. Però il risultato è più che soddisfacente.

**Quanto vede la paziente?**

Possiamo dire che la paziente sta reimparando a vedere perché ha perso la vista quando aveva tre-quattro anni, in seguito all'alterazione della cornea. Prima era quasi cieca: aveva soltanto la percezione della luce molto blanda. Adesso, invece, conta le dita, si guarda intorno, vede gli oggetti, si guarda allo specchio, vede la seggiola, la porta, ecc. Però l'impressione che dà è di riacquistare, a poco a poco, coscienza di quello che vede, di quello che prima non



Aldo Fronterre, medico oculista

era mai riuscita ad apprezzare (ora vede anche il volto del suo fidanzato, ndr).

**L'intervento è stato effettuato a entrambi gli occhi?**

No, è stato monolaterale. L'altro occhio era completamente perso per un'atrofia irreversibile del nervo ottico: abbiamo operato l'unico occhio 'superstite'.

**Perché si ricorre alla cornea artificiale?**

Il problema è questo. Ci sono dei casi in cui sappiamo che è possibile fare un trapianto di cornea da donatore, ma siamo sicuri che andrà incontro a opacamento in brevissimo tempo, per cui non è il caso di tentare. In questi casi l'unica soluzione è quella d'im-

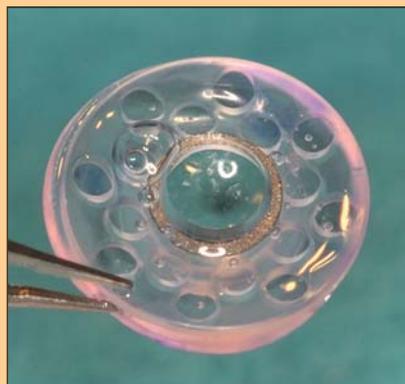
piantare una cornea che non può diventare opaca e non può andare incontro a rigetto, cioè una cornea artificiale. Purtroppo questi interventi sono particolarmente difficili e i controlli post-operatori sono impegnativi. In passato ho impiantato altre cornee artificiali, come la Cheratoprotesi di Pintucci e l'AlphaCor. Oggi preferisco impiantare questa cheratoprotesi che, nella mia esperienza, dà migliori risultati. Trattandosi di un occhio cieco ogni sforzo che possa dare alternative all'oscurità è, a mio parere, pienamente giustificato.

**Com'è fatta la protesi?**

La protesi è realizzata in un materiale sintetico, in polimetilmetacrilato e titanio, e utilizza come supporto una cornea umana di donatore; questo complesso viene impiantato nell'occhio del paziente e, quindi, applicata una lente a contatto appositamente.

**All'incirca un intervento quando dura?**

Un'ora e venti è la media, ma la sua durata dipende dagli interventi, che sono molto diversi tra loro. In alcuni casi bisogna ope-



Cornea artificiale

rare anche una cataratta, in altri casi una plastica dell'iride, ecc.

**Più o meno il tempo stimato per vedere di nuovo?**

La ripresa, dopo l'intervento che viene eseguito in un'unica volta, è abbastanza rapida. L'indomani in genere si ha un'idea della riuscita mentre, con le altre cheratoprotesi, sono necessari diversi interventi a distanza di mesi l'uno dall'altro.

**La tecnica è stata messa a punto dall'Università**

**Harvard?**

Sì, grazie alla loro collaborazione ho importato la tecnica in Italia e da un paio di anni la applico di routine.

**Da quanti anni esiste questa protesi?**

Questa è l'ultima di una serie: viene utilizzata in tutto il mondo. Negli Stati Uniti è quella più usata ed è stata approvata dall'FDA.

(g.g.)

## RICONOSCIMENTO PRESIDENZIALE

**Il Capo dello Stato Giorgio Napolitano ha insignito l'avv. Castronovo, Presidente della IAPB Italia onlus, dell'onorificenza di Grande Ufficiale**

**S**u proposta della Presidenza del Consiglio dei Ministri il Presidente della Repubblica Giorgio Napolitano ha insignito l'avv. Giuseppe Castronovo, Presidente dell'Unione Italiana Ciechi ed Ipovedenti della Sicilia e Presidente dell'Agenzia Internazionale per la Prevenzione della Cecità-IAPB Italia onlus, dell'onorificenza di Grande Ufficiale dell'Ordine al Merito della Repubblica Italiana.

L'avv. Castronovo, già insignito nel 2005 dal Presidente della Repubblica Carlo Azeglio Ciampi – su proposta del Ministro della Salute Prof. Girolamo Sirchia – della Medaglia d'oro al merito della Sanità Pubblica per l'intensa e appassionata attività per la prevenzione della cecità in Italia e in alcuni dei Paesi più poveri dell'Africa, a distanza di 6 anni riceve nuovamente grande attenzione da parte delle più alte istituzioni dello Stato per l'opera di una vita interamente dedicata ai non vedenti, così come affermato nel libro presentato dal Prof. De Rita, "I ciechi non sognano il buio" di Mauro Marcantoni.

L'avv. Castronovo, con instancabile, appassionato e competente impegno, ha contribuito a creare una cultura e una coscienza sociale nei confronti della società e delle istituzioni. "La cecità – ha affermato – è stata, nella preistoria e nella storia la menomazione grave che ha creato pregiudizio, mito e fantasia. Il non vedente, invece, è una persona normalissima con difficoltà in più e diverse dagli altri il quale, se sostenuto dalla società e dalle istituzioni, può vivere una vita nella normalità, sia come studente che come lavoratore e cittadino comune".

È opportuno ricordare che l'avv. Castronovo ha promosso circa 30 leggi regionali per l'inserimento sociale, culturale e lavorativo dei non vedenti ed ipovedenti siciliani. A riprova della importanza della legislazione sociale promossa da questo straordinario avvocato non vedente, non possiamo dimenticare che molte leggi regionali sono state riprese dal legislatore nazionale, in particolar modo quelle sul collocamento obbligatorio e l'accesso ai pubblici concorsi da parte dei non vedenti.

Tutta una vita costantemente spesa per l'emancipazione dei non vedenti, per l'affermazione del loro diritto all'istruzione, alla cultura e al lavoro. Tutta una vita per tra-

durre straordinarie dichiarazioni di principio in servizi veri e propri. Dalla sua vulcanica azione è nata la Stamperia Regionale Braille di Catania, la più grande d'Italia per i non vedenti, che assicura testi scolastici in Braille e in altri formati agli studenti ciechi e ipovedenti siciliani, testi di cultura generale e una varietà straordinaria di riviste.

Dal suo impegno è nato pure il Polo Tattile Multimediale di Catania, un vero sito di civiltà siciliana ed europea, che riveste un'importanza particolarmente rilevante per l'accesso alla cultura dei non vedenti e dei normodotati che vogliono imparare a conoscere il complesso mondo della cecità. Il Polo Tattile Multimediale è una delle pochissime realtà a livello europeo a riunire – in un complesso architettonico stilisticamente straordinario – un bar al buio, un museo tattile, un giardino sensoriale e uno show-room dotato di strumenti tecnologici e didattici nonché di giocattoli per bambini non vedenti.

Costantemente impegnato nell'affermazione piena e sostanziale dei diritti dei non vedenti, ne ha sempre sostenuto il diritto all'autonomia personale e alla mobilità e ha voluto tradurre questa sua convinzione nell'impegno per la realizzazione del Centro per l'autonomia del non vedente ed annessa Scuola Cani Guida "Helen Keller" di Messina.

Non va tralasciato, altresì, l'ottenimento con la legge 16 del 1986 dell'istituzione di due centri per ciechi pluriminorati presso i due Istituti per ciechi siciliani "Florio e Salamone" di Palermo e "Ardizzone Gioeni" di Catania.

Una vita spesa non solo per i non vedenti ma anche per la tutela del più amato dei sensi che è la vista, attraverso la promozione della prevenzione e della riabilitazione visiva nel nostro Paese. L'attenzione per le problematiche di salute pubblica e, in modo particolare, per la salute degli occhi ha condotto



Il Presidente della Repubblica Giorgio Napolitano e l'avv. Giuseppe Castronovo. In secondo piano il Ministro della Difesa La Russa e il Sindaco di Roma Alemanno

l'avv. Castronovo – come Presidente della IAPB Italia onlus – a realizzare a Roma, presso il Policlinico A. Gemelli, il Polo Nazionale di servizi e ricerca per la prevenzione della cecità e la riabilitazione visiva degli ipovedenti.

Il Presidente Castronovo ha voluto prestare attenzione alla salute degli occhi, soprattutto nelle zone meno assistite dalla Sanità Pubblica, attraverso il lavoro itinerante di medici oculisti che operano a bordo di 16 unità mobili oftalmiche (di cui due nella sola Sicilia).

L'attribuzione, da parte del Capo dello Stato, di questa importante onorificenza è il riconoscimento della straordinaria ed intensa attività di un uomo che ha dedicato e continua a dedicare la sua vita in favore della piena dignità e del riscatto sociale dei non vedenti e dei disabili tutti. Come diceva il grande giornalista e scrittore Candido Cannavò nel suo libro 'E li chiamano disabili', "la disabilità è un motore di cui non si conoscono i limiti".

*(Leonardo Suteria Sardo)*

### TUMORI, UN COLLIRIO CHE MIGLIORA LA VISTA

**In caso di cancro alle vie ottiche si sono ottenuti dei miglioramenti: del fattore di crescita neuronale scoperto da Rita Levi Montalcini hanno beneficiato otto pazienti colpiti da glioma**

**P**oche gocce di un collirio sperimentale instillato ripetutamente hanno migliorato la vista di sei bambini, un adolescente e un adulto colpiti da tumori alla vie ottiche. I pazienti affetti da gliomi (tumori cerebrali più frequenti) possono, infatti, subire una riduzione temporanea dell'acuità visiva che è stata contrastata grazie al *Nerve Growth Factor* (NGF). È questo, in sintesi, il risultato di una sperimentazione condotta principalmente da ricercatori dell'Università Cattolica di Roma attraverso due studi pilota su persone colpite da gravi deficit visivi dovuti a tumori delle vie ottiche.

I pazienti – affetti da atrofia avanzata del nervo ottico (che comporta la morte delle cellule nervose) – hanno beneficiato di un miglioramento visivo significativo dopo 10 giorni di instillazione del collirio. Tale miglioramento si è mantenuto anche dopo la fine della cura, com'è emerso da un confronto tra le persone trattate e quelle che non avevano ricevuto il principio attivo. L'incremento della funzionalità del nervo ottico è stato, tra l'altro, riscontrato grazie a esami specifici chiamati potenziali evocati visivi.

L'équipe di ricercatori è stata coordinata da Riccardo Riccardi, direttore dell'Unità Operativa di Oncologia Pediatrica del Policlinico A. Gemelli di Roma. Al lavoro – pubblicato su *Neurorehabilitation*



*and Neural Repair*, rivista ufficiale della Società americana di neuroriabilitazione – hanno partecipato anche Vincenzo Parisi (ricercatore della Fondazione G. B. Bietti) e Antonello Fadda (scienziato dell'Istituto Superiore di Sanità).

“Il *Nerve Growth Factor* (NGF) è una neurotrofina – ha spiegato Antonio Chiarretti dell'Istituto di Clinica pediatrica del Gemelli –, fondamentale per lo sviluppo e la sopravvivenza dei neuroni del Sistema Nervoso Centrale e Periferico. Per la sua azione neuroprotettiva, la somministrazione intracerebrale di NGF è stata già sperimentata per il trattamento di alcune patologie neurologiche degenerative, quali il morbo di Parkinson e la malattia di Alzheimer”.

Però questo fattore di crescita neuronale sembra avere anche altre proprietà. Infatti “è stato dimostrato – ha affermato il professor Benedetto Falsini dell'Unità operativa di Oftalmologia dell'Università Cattolica di Roma – che la somministrazione congiuntivale di NGF è efficace nel trattamento di pazienti con ulcere corneali e con gravi deficit visivi secondari al glaucoma”.

(g.g.)

## MENO CATARATTA CON POCA CARNE

**Una dieta con troppi grassi animali contribuisce a opacizzare il cristallino: sono preferibili pesce e verdure. Lo ha dimostrato uno studio condotto a Oxford su 27.670 persone**

**P**iù verdure e pesce per una visione più limpida, ma meno carne nella dieta. A lungo andare un'alimentazione troppo ricca di grassi animali nocivi contribuisce alla formazione della cataratta: nelle persone con più di 40 anni reclutate a Oxford si è constatato che i carnivori soffrono più spesso di opacizzazione del cristallino. Lo studio, durato 15 anni, è stato condotto su 27.670 partecipanti non diabetici di cui sono state raccolte le dichiarazioni sugli stili di vita e il tipo di alimentazione. Secondo gli studiosi, che hanno pubblicato la ricerca sulla rivista ufficiale della Società Americana di Nutrizione<sup>1</sup>, “esiste una forte correlazione tra il rischio di cataratta e la dieta seguita da un gruppo”: si assiste a una progressiva riduzione dell'incidenza della patologia oculare del cristallino in chi mangia meno carne e sceglie, invece, il pesce; il rischio di cataratta è ancora più basso nei vegeta-



riani o nei vegani – che rinunciano anche ai prodotti lattiero-caseari –: è inferiore rispettivamente del 30% e del 40% in rapporto a chi mangia mediamente più di cento grammi al giorno di carne. (g.g.)

## GUARDARE AI GEMELLI PER CAPIRE L'AMD

**Fumare aumenta il rischio di contrarre la degenerazione maculare legata all'età, ma uno stile di vita sano può contribuire alla sua prevenzione**

**S**ono gemelli ed entrambi sono malati di degenerazione maculare legata all'età. Eppure, nono-

stante abbiano lo stesso Dna, hanno subito un grado diverso di riduzione della visione centrale. Vite diverse... vista diversa: fumare, mangiare male, non praticare l'esercizio fisico sono tra i fattori di rischio modificabili dell'AMD. Quest'ultima è una malattia che può colpire dopo i 55 anni ed è la principale causa di disabilità visiva nei

<sup>1</sup> “Diet, vegetarianism, and cataract risk”, by Paul N Appleby, Naomi E Allen, and Timothy J Key, *Am. J. Clin. Nutr.*, May 2011.

Paesi benestanti. L'origine è comunque genetica al 71%: lo sottolinea il *Tufts Medical Center*, che ha pubblicato un articolo su *Ophthalmology*<sup>2</sup>. Uno stile di vita sano aiuta a preservare la retina, tra cui una dieta varia e ricca di vitamine e antiossidanti (si consiglia di mangiare frutta, pesce e verdura, specialmente quella a foglia verde). Più nello specifico i ricercatori americani hanno monitorato gli effetti dell'assunzione di dosi elevate di vitamina D, betaina – sostanza naturale che si estrae dalla barbabietola – e metionina. Lo studio ha considerato gemelli identici (omozigoti) sia nelle prime fasi di degenerazione maculare che negli stadi più avanzati della malattia oculare. I gemelli che soffrivano dei casi



più gravi di AMD erano i forti fumatori: “Questi risultati – conclude una nota del *Tufts Medical Center* – indicano che sono importanti sia la predisposizione genetica che i fattori ambientali”. (g.g.)

## QUEI GLOBULI BIANCHI CHE ‘DIVORANO’ LA RETINA

**Uno studio australiano chiarisce il meccanismo con cui la luce danneggia la macula nei malati di AMD**

**N**ei malati di degenerazione maculare legata all'età (AMD) il sistema immunitario attacca il centro della retina: globuli bianchi chiamati macrofagi ‘divorano’ le cellule fotosensibili. Questo meccanismo è stato studiato da scienziati australiani: la sua conoscenza è importante per scoprire nuove cure, dato che attualmente l'AMD è la prima causa di cecità nei Paesi di maggior benessere.

Lo studio ha rivelato come gli occhi colpiti dalla luce possano scatenare una reazione immunitaria impropria, con la conseguente ‘invasione’ dei globuli bianchi a livello retinico, dove proteine nocive



<sup>2</sup> "Smoking, Dietary Betaine, Methionine, and Vitamin D in Monozygotic Twins with Discordant Macular Degeneration: Epigenetic Implications", *Ophthalmology*, Volume 118, Issue 7, Pages 1386-1394, July 2011, Johanna M. Seddon, Robyn Reynolds, Heeral R. Shah e Bernard Rosner.

possono annientare i fotorecettori. Questo tipo di auto-attacco immunitario spiega la metà dei casi di cecità nella sola Australia, dove l'Università Nazionale e *The Vision Centre* hanno condotto le ricerche. “Quando – spiegano i ricercatori che hanno pubblicato un articolo su *IOVS*<sup>3</sup> – le cellule dei nostri occhi vengono danneggiate, la risposta immunitaria si

scatena e invia a pulire le scorie i macrofagi (i globuli bianchi che ‘mangiano’ gli invasori o le cellule morte). Se il sistema immunitario non è ben regolato, le cellule invadono, ‘sostano’ e richiamano ancora di più i macrofagi (letteralmente i ‘grandi mangiatori’). Insomma, è come se si scatenasse una forma locale di auto-cannibalismo. (a.a.)

## QUANDO LA SALUTE DEL FETO VA... IN FUMO

**Se la madre è fumatrice si possono presentare malformazioni oculari: lo attesta un vasto studio britannico**

**M**alformazioni oculari, difetti cardiovascolari o muscolari e arti deformati. Sono alcune delle conseguenze devastanti che il tabacco può avere sul feto se una madre fumatrice non abbandona il vizio quando è incinta. Infatti molte delle 7000 sostanze chimiche contenute nel fumo superano la barriera della placenta, andando a incidere negativamente sullo sviluppo gestazionale. È quanto attesta uno studio britannico condotto dal *University College London* (UCL). La ricerca è stata condotta esaminando 172 articoli della letteratura scientifica (1959-2010): in totale sono stati considerati 173.687 casi di malformazione e 11,7 milioni di persone sane (di controllo). Eppure relativamente pochi materiali informativi ministeriali inglesi, scrivono i ricercatori<sup>4</sup> su *Human Reproduction Update*, “menzionano i difetti alla nascita come possibile risultato



tra le donne incinte che fumano”.

In dodici studi si dimostra come il fumo materno possa incrementare il rischio di malformazioni oculari del 25%: i problemi vanno dalle ridotte dimensioni del bulbo oculare o una sua assenza (anoftalmia, microftalmia), passando per lo strabismo alla nascita (esotropia, exotropia) e un nervo ottico non ben sviluppato (ipoplasia). (a.a.)

<sup>3</sup> "Analysis of complement expression in light-induced retinal degeneration: Synthesis and deposition of C3 by microglia/macrophages is associated with focal photoreceptor degeneration", di Rutar M, Natoli R, Kozulin P, Valter K, Gatenby P, Provis JM, *Invest Ophthalmol Vis Sci.*, 2011 May 12 [Epub ahead of print].

<sup>4</sup> Allan Hackshaw, Charles Rodeck e Sadie Boniface, "Maternal smoking in pregnancy and birth defects: a systematic review based on 173 687 malformed cases and 11.7 million controls", *Hum. Reprod. Update*, 2011 Jul 11. [Epub ahead of print].

## STRANO MA VERO

### VEDERE... CON LA LINGUA

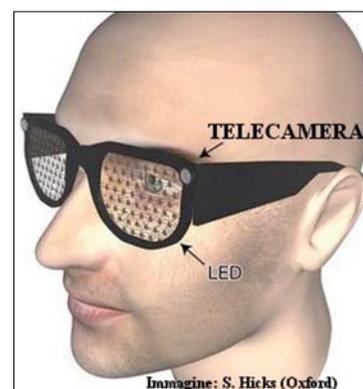
**U**n cieco americano usa lo schiocco della lingua per 'esplorare' l'ambiente: ascoltandone l'eco riesce a orientarsi. Il metodo, chiamato ecolocazione, viene utilizzato in natura dai pipistrelli, i quali possiedono una sorta di sonar naturale: emettono sia suoni che ultrasuoni che consentono loro di volare agevolmente. La storia dell'uomo radar è stata raccontata da una rivista americana<sup>1</sup>. La lingua, inoltre, può es-

sere utilizzata anche in altro modo come organo 'sensoriale' per esplorare l'ambiente esterno (oltre che il mondo dei sapori): un'azienda ha messo a punto un sistema che emette piccole scosse elettriche a seconda degli ostacoli che il non vedente si trova attorno. Dopo uno specifico addestramento, quindi, il cieco può essere in grado di 'assaporare' le immagini fornite da una telecamera interpretandole con un apposito software. (g.g.)

### OCCHIALI HIGH-TECH PER IPOVEDENTI

**U**na microtelecamera incorporata nella montatura, un minicomputer da tasca e un reticolo di led inseriti nelle lenti. Non è un dispositivo di James Bond, ma sono gli occhiali high-tech per gli ipovedenti che sono stati presentati lo scorso luglio dall'Università di Oxford a una mostra organizzata dalla *Royal Society* di Londra. Tecnologie già in uso in macchine fotografiche, cellulari e videogame sono state sfruttate per gli occhiali del futuro. Grazie a piccole luci inserite nelle lenti si può capire se e dove siano presenti oggetti, persone e ostacoli.

In questo modo le persone ipovedenti potrebbero avere una maggiore indipendenza di movimento. Gli occhiali potrebbero aiutare – scrive l'Università di Oxford – persone colpite da disabilità visiva a causa della degenerazione maculare legata all'età e della retinopatia diabetica (g.g.)



### MECCANICO ALLA CIECA

**N**on sappiamo se vi fidereste di lui nel consegnargli la macchina, ma la storia del meccanico cieco che lavora negli Stati Uniti ha fatto il giro del mondo. Una nota azienda automobilistica, infatti, ha girato uno spot su Bart Hickey. Nel clip in bianco e nero che è stato

realizzato si possono apprezzare i gesti del meccanico che, per quanto sembrano incerti, sortiscono generalmente buoni effetti. Quando si dice lavorare alla cieca... (a.a.)



<sup>1</sup> Articolo di Michael Finkel, *Men's Journal*, pubblicato su *L'Internazionale* 903, 24 giugno 2011, p. 60.

# Il tablet che guarda a medico e paziente

**OCCHIO TECNOLOGICO**



**R**ivedere un intervento chirurgico sfiorando lo schermo, ingrandirne i dettagli o farsi leggere il contenuto di una rassegna stampa. Sono tutte operazioni possibili grazie ad alcuni apparecchi tecnologici di nuova generazione, come i *tablet* evoluti e certi *smartphone*. “Ad esempio con l’iPad/iPhone/iPod *touch* i medici oculisti hanno un grande giovamento – sottolinea Claudio Savaresi, Responsabile dell’Unità Operativa di Oculistica della Casa di Cura San Pio X di Milano –. Tutti i dati del paziente si possono trasferire, tanto per citare un vantaggio, da un computer al microscopio e viceversa. Subito dopo un intervento chirurgico si può rivedere il filmato e consultare direttamente tutti gli esami sul proprio schermo. Una volta fatta la ripresa dell’intervento chirurgico si può caricare il clip in *YouTube* o in altri siti di condivisione video: i professionisti possono così visionarli e sfruttarli a fini didattici”.

pio e viceversa. Subito dopo un intervento chirurgico si può rivedere il filmato e consultare direttamente tutti gli esami sul proprio schermo. Una volta fatta la ripresa dell’intervento chirurgico si può caricare il clip in *YouTube* o in altri siti di condivisione video: i professionisti possono così visionarli e sfruttarli a fini didattici”.

## **La cartella elettronica è servita**

Tutto cominciò con la cartella sanitaria elettronica. L’optimum a cui si mira è la consultazione della cartella clinica dei pazienti e il loro caricamento ad opera di qualunque struttura sanitaria italiana. “Prima di ini-

ziare un intervento – spiega ancora Claudio Savaresi – si può analizzare tutta la diagnostica per immagini eseguita preventivamente e procedere all'intervento chirurgico magari con le immagini diagnostiche proiettate sull'occhio da operare, per una microchirurgia sempre più precisa e tecnologicamente avanzata. Si può, insomma, accedere direttamente alla cartella del paziente con tutta la diagnostica per immagini a 'portata di mano'".

“Si immagini – prosegue l'oftalmologo milanese – di dover analizzare 15-20 immagini ed alcune di esse di doverle analizzare nel dettaglio confrontando fra di loro minuscoli numeri. È chiaro che lo spazio a disposizione deve essere notevole con una certa difficoltà a confrontare le immagini. Con il *tablet* tutto questo è estremamente semplificato: si ha l'esame direttamente a colori, lo si fa scorrere velocemente sull'iPad e, laddove c'è un particolare che interessa, si può fare lo zoom”. Gli ipovedenti possono ingrandire più velocemente i caratteri e possono persino cimentarsi in esercizi riabilitativi. “Nel caso dell'iPad, iPhone e iPod *touch* (che condividono il medesimo sistema operativo) ci sono già delle funzioni integrate – nota Marco Savaresi, specialista di software – che consen-

tono di ingrandire e di leggere i contenuti della pagina. Per gli ipovedenti l'iPad è particolarmente vantaggioso, date le dimensioni dello schermo. Qualsiasi cosa venga installata o sia installabile sull'apparecchio (navigazione su internet, videoscrittura, fogli di calcolo, ecc.) è di fatto fruibile a caratteri ingranditi e, inoltre, i ciechi assoluti possono avere un riscontro vocale. Tutto dipende dal sistema operativo integrato”.

### **Audiolibri in corsia**

All'ospedale Sant'Anna di Como i ciechi o ipovedenti ricoverati possono trascorrere il loro tempo in compagnia della voce sintetica che legge le pagine elettroniche: lo scorso primo giugno, nell'ambito dell'iniziativa *Un libro per tutti*, sono stati messi a disposizione due iPad in grado di riprodurre contenuti multimediali. I beneficiari sono i pazienti del servizio di oculistica comasco. Grazie alla donazione di due iPad – con le applicazioni *VoiceOver*, *Zoom* e *Audiobook* – si possono ascoltare gli audiolibri. I dispositivi sono a disposizione dei pazienti grazie all'impegno delle volontarie di *Libri in Corsia* che, dietro segnalazione del personale infermieristico, li consegnano a chi ne faccia richiesta. (g.g.)

## **L'USO DELL'IPAD IN OFTALMOLOGIA**

*Oggi assistiamo a una straordinaria rivoluzione tecnologica dovuta alle nuove risorse che trovano sempre più spazio nei vari settori professionali, specialmente in ambito medico e, in questo momento particolare, in una specialità medico-chirurgica già tecnologicamente avanzata come quella dell'oftalmologia. In effetti, sta assumendo un ruolo decisamente importante l'IPad, grazie a una serie di caratteristiche che lo rendono “un'esten-*

*sione” naturale per alcune specifiche operazioni che richiedono notevole precisione e, al contempo, una facilità d'uso.*

*Naturalmente il tutto è collegato a una sofisticata ed avanzatissima tecnologia sia nelle acquisizioni delle immagini sia alle acquisizioni delle videoregistrazioni che possono essere inviate direttamente dal microscopio della sala operatoria al tablet – in questo caso l'iPad – senza alcun collegamento di cavi, ma*



*solamente sfruttando la tecnologia Wi-Fi. È facilmente comprensibile come evitare l'uso dei cavi in una sala operatoria sia determinante e, soprattutto, possa consentire ai colleghi di connettersi via Wi-Fi, evitando in questo modo molti problemi.*

*Ma lo sviluppo più incredibile lo si è avuto con i nuovi aggiornamenti al sistema operativo e l'inserimento dei nuovi programmi; quindi la piattaforma è diventata completamente "accessibile", trasformandosi in un aiuto concreto per persone affette da disabilità visive, grazie alle capacità "ingrandenti" e di "riscontro vocale" di ciò che avviene sullo schermo dell'apparecchio. Tuttavia, lo schermo non poteva consentire di svolgere con una certa comodità operazioni che richiedevano risoluzioni maggiori nei dettagli che – in ambito medico e sicuramente in oftalmologia – sono fondamentali per il buon esito degli interventi.*

*Da qualche tempo siamo in grado di registrare i nostri interventi e di convertirli, in maniera trasparente e semplice, in filmati specifici per iPad. In questo modo abbiamo la possibilità concreta di crearci una nostra "libreria video" dalla quale attingere ogni qualvolta si presentano casi simili tra loro e disponibile per tutti i colleghi oftalmologi che ne facciano richiesta.*

*Inoltre vengono sempre più proposti pro-*

*grammi per la gestione del paziente da sottoporre alla visita oculistica utilizzando l'iPad; questo fa comprendere come un oggetto nato forse per complemento al computer stia diventando invece uno strumento che, fra non molto tempo, potrebbe diventare insostituibile per lo svolgimento dell'attività clinica in ambito medico chirurgico.*

*La stessa utilità vale anche nelle situazioni dove non c'è intervento, in cui la riabilitazione visiva può dare comunque un efficace contributo al miglioramento visivo del paziente. In ambito desktop esistono già da anni soluzioni di "stimolazione visiva" o per la valutazione delle difficoltà riscontrate dalla persona nelle attività di tutti i giorni, con le relative soluzioni.*

*Su piattaforma iPad il catalogo non è ancora così ricco, ma l'ambiente operativo su cui si basa il tablet è talmente predisposto a qualsiasi tipo di programma che i software dedicati allo scopo non tarderanno ad essere a disposizione dei professionisti del settore. Dobbiamo pensare soprattutto ai pazienti affetti da patologie oculari come, per esempio, la degenerazione maculare legata all'età, che potrebbero trovare in questo strumento un valido contributo nella riduzione dell'handicap visivo legato alla lesione della parte centrale della retina, la macula, che quindi non permette loro di poter leggere con la stessa facilità antecedente lo sviluppo della malattia. Senza dubbio questo strumento rappresenta oggi, in ambito oftalmologico, uno strumento di aiuto allo svolgimento dell'attività clinica e, soprattutto, pensiamo che possa essere d'aiuto per tutti quei pazienti con gravi minorazioni visive e, con specifici programmi combinati ad una chirurgia sempre più avanzata, possa dare loro la possibilità di riavere una buona qualità visiva.*

*(Claudio Savaresi)*

# Nanoparticelle contro la retinite pigmentosa

**Un collirio sperimentale per rallentare o bloccare la degenerazione dei fotorecettori retinici: un nuovo studio coordinato dal CNR di Pisa ha avuto successo sulle cavie di laboratorio**

## L'INTERVISTA

*G. Galante*

**Dott. ssa Enrica Stretto, è davvero possibile mettere a punto un collirio contro la retinite pigmentosa?**

Sì, ma non siamo certo gli unici che ci stanno provando. Questa malattia è in realtà una famiglia di patologie che differiscono tra loro per causa – ci sono moltissime mutazioni genetiche – e per aggressività. Quindi è improbabile che un unico metodo porti alla cura di questa patologia. Tra le tante attività sperimentali c'è la messa a punto di farmaci che si chiamano neuroprotettivi, cioè che proteggono le cellule della retina (parte del sistema nervoso centrale) ovvero neuroni (in questo caso i fotorecettori). La parte innovativa dello studio è la scelta della molecola e della particolare catena di reazioni che questa si propone di interrompere che porta, in particolare, alla morte di queste cellule fotosensibili.

**Come funziona esattamente questo possibile collirio?**

Il possibile collirio funziona in questo modo: le cellule (tutte) sono dotate di meccanismi di suicidio, di morte programmata – che si chiama apoptosi –, che mettono in

### UNA VITA TRA RICERCA E NEURONI

Enrica Stretto (30 aprile 1959) è Primo Ricercatore dell'Istituto di Neuroscienze del CNR di Pisa dal 2001, dove lavora sin dal 1988. È stata docente universitaria presso l'Università di Pisa per



Enrica Stretto (CNR)

quattro anni (1994, 2000, 2001, 2005). Dal 1986 al 1988 ha studiato negli Stati Uniti, presso l'Università di Harvard (con un postdottorato presso il Dipartimento di anatomia e biologia cellulare della

Harvard Medical School, Boston; inoltre ha svolto lavoro di ricerca al laboratorio di neurochirurgia del Massachusetts General Hospital). Ha coordinato lo studio intitolato "L'inibizione della biosintesi del ceramide preserva la struttura e la funzione dei fotorecettori in un modello murino di retinite pigmentosa" (*Inhibition of ceramide biosynthesis preserves photoreceptor structure and function in a mouse*

atto quando c'è una patologia oppure uno stimolo nocivo. L'apoptosi è un meccanismo complesso, fatto da più catene di reazioni, che la cellula è in grado di controllare; quindi, essendo basato sull'attivazione di un programma, questo si può manipolare dall'esterno. Noi abbiamo scelto una molecola che blocca una reazione specifica di una catena che porta alla morte delle cellule: questa molecola, che è estratta da mufte (si chiama miriocina), inibisce una particolare reazione che porta alla sintesi di una molecola lipidica (ceramide), che è un 'messaggero di morte': la cellula lo fabbrica quando, in qualche modo, ha innescato un meccanismo letale. Quindi noi impediamo alla cellula di proseguire in questo suo percorso.

#### **Diceva che è una molecola lipidica il ceramide?**

Sì, si tratta di uno sfingolipide: è una molecola che si sposta tra diverse cellule e all'interno di una stessa cellula per attivare un programma. Sfortunatamente è un programma letale. Però nella retinite pigmentosa non tutte le cellule sono destinate alla morte certa dovuta alla mutazione perché, in genere, essa è espressa dai bastoncelli – i fotorecettori che usiamo per vedere in condizioni di bassa luminosità –; ma poi, per un effetto che potremmo definire di 'empatia', anche i cono che stanno vicini, inizialmente sani, vanno incontro a una degenerazione progressiva. Col nostro collirio noi puntiamo a prevenire la degenerazione dei bastoncelli ma, soprattutto, a prevenire la morte secondaria dei cono, le cellule che noi usiamo di più per vedere.

#### **Come fate esattamente a proteggere i cono?**

C'è un effetto che si chiama *bystander* (dovuto allo 'stare accanto'): proteggendo

*model of retinitis pigmentosa*<sup>1</sup>), pubblicato su PNAS.

La ricerca su un possibile collirio contro la retinite pigmentosa è nata da un'idea del Prof. Riccardo Ghidoni (*senior author* dell'Università di Milano); la prof. Claudia Gargini (Università di Pisa), invece, ha curato la parte sulla fisiologia della retina; Paolo Gasco<sup>2</sup> si è occupato della preparazione delle nanosfere alla base del collirio; hanno contribuito, infine, allo studio anche Elena Novelli (Fondazione G. B. Bietti), Giusy Sala (collaboratrice del Prof. Ghidoni) e Ilaria Piano (collaboratrice della Prof.ssa Gargini).

o semplicemente rallentando la morte dei bastoncelli si ritiene che, nella retina, vengano ad essere incrementate delle molecole protettive che gli stessi bastoncelli producono e che proteggono i cono. Poi c'è un'azione diretta sui cono stessi: probabilmente si inibisce la loro tendenza suicida.

#### **Tutto questo come viene attuato?**

Si tratta probabilmente di veicolare la molecola alla retina, la membrana più interna dell'occhio. Farlo passare non è banale: non si può pensare a un trattamento cronico basato su iniezioni, che alla lunga danneggiano la retina. Quindi noi abbiamo utilizzato un collirio basato su nanoparticelle (che si chiamano nanosfere), brevettate da una *biotech* italiana, che ha protetto con delle molecole lipidiche il nostro farmaco. Noi l'abbiamo dato ai topolini in forma di gocce, come se si trattasse di un collirio, tutti i giorni per circa un paio di mesi. Poi siamo andati a misurare la loro capacità visiva e abbiamo anche analizzato

<sup>2</sup> della Nanovector srl di Torino.



Cavia di laboratorio

la morfologia della retina: abbiamo trovato che c'è stato un notevole aumento della sopravvivenza dei fotorecettori e, quindi, anche della capacità visiva dell'animale.

**In che misura è stato efficace sulle cavie di laboratorio? Che tipo di miglioramento avete riscontrato, immagino anche usando un gruppo di controllo?**

Certo, per ogni nidiata che noi abbiamo analizzato c'era un gruppo di animali trattati con il collirio e un gruppo di animali, invece – ovviamente fratelli di quelli trattati –, che veniva sottoposto a una somministrazione di collirio fatto di nanoparticelle vuote (che avevano la stessa formulazione chimica, ma erano prive del farmaco). Poi abbiamo fatto sostanzialmente tre tipi di test: biochimici, morfologici ed elettrofisiologici. Biochimici, perché siamo andati a misurare se il livello di questo famoso ceramide, 'messaggero di morte', si fosse effettivamente abbassato nelle retine trattate: abbiamo trovato che questo era assolutamente vero. Poi abbiamo misurato, con metodi neuroanatomici<sup>3</sup>, il numero di cellule morenti e il numero di cellule vive: abbiamo riscontrato un aumento della sopravvivenza. Poi, con l'elettroretinogramma – che è la tecnica che si usa anche nei pazienti per misurare la performance visiva della retina – abbiamo visto che c'è una conservazione

dell'elettroretinogramma: per ora siamo arrivati sino a 90 giorni, mentre questi topi normalmente sono ciechi intorno a 40 giorni d'età. Quindi abbiamo raddoppiato, per così dire, la finestra temporale utile di visione.

**Quando inizieranno i test sull'uomo e presumibilmente quanto dureranno?**

Noi siamo già in contatto con un'industria farmaceutica per l'implementazione di questo trattamento sull'uomo. È chiaro che dobbiamo superare una serie di barriere: la prima è di mettere a punto una preparazione che sia stabile nel tempo e che sia autosomministrabile. Faremo dei test su soggetti umani, ovviamente dopo aver ottenuto l'approvazione del comitato etico, della struttura che ci ospiterà e così via; io penso che, se si riuscirà a mettere a punto una preparazione stabile, nel giro di un anno saremo pronti per la prima sperimentazione sull'uomo. Poi, per i risultati, lo può dire solo la sperimentazione stessa... I modelli animali sono molto fedeli a quello che accade nella patologia umana e, quindi, ci aspettiamo un effetto; se, poi, questo sia durevole e, quindi, valga la pena di perseguire questa strada lo vedremo solo dopo questi test preliminari.

**Quanto dovranno durare?**

Almeno un anno dal loro inizio perché la malattia, con l'approccio che noi abbiamo usato, non è che si curi, ma si rallenta. Però, essendo una patologia intrinsecamente lenta, rallentarla è di per sé considerata una 'cura' o, certamente, un miglioramento delle condizioni del paziente. La malattia, nella forma tipica, si manifesta nella tarda adolescenza e, intorno ai 50 anni, si può mantenere ancora una visione residua nella zona centrale del campo visivo.

**Se si è già diventati ipovedenti o ciechi a**

<sup>3</sup>Perché si analizza la morfologia fine e microscopica della retina guardando quali e quante cellule sono sopravvissute..

**causa della retinite pigmentosa, si può recuperare in parte la vista grazie al principio attivo contenuto nel collirio sperimentale?**

Non credo. Gli approcci che permettono di recuperare la vista sono: la terapia genica (se le cellule sono non funzionanti ma silenti: sono casi rari ma esistono) oppure si può pensare a una terapia con cellule staminali che rimpiazzino i fotorecettori morti (ma gli studi sono ancora ‘embrionali’); infine, come ultima speranza ci sono delle cosiddette protesi elettroniche (retina artificiale) che, mediante un microchip, stimolano elettricamente la zona della retina situata a valle dei fotorecettori che, per ora, rendono possibili delle forme di percezioni rudimentale per chi, per ora, è sfortunatamente cieco.

**È vero che gli effetti del collirio sperimentali sarebbero analoghi a quelli delle iniezioni praticate direttamente nel bulbo oculare?**

L'intento è proprio quello di evitare le iniezioni: sono, comunque, una manipolazione ‘invasiva’. Essendo un occhio compromesso, meno lo si tocca e meglio è: un collirio è sempre una preparazione auto-somministrabile.

**Nel caso delle nanoparticelle si riesce a penetrare facilmente la superficie oculare?**

Sì, ci sono due aspetti che ci hanno aiutato. Le nanosfere ‘passano’, sono piccole e sono simili come struttura chimica alle membrane biologiche: è come versare della crema su una superficie ‘burrosa’ (i due principi chimici si sposano e si compenetrano); l'altro aspetto per noi favorevole è che la miriocina, il principio attivo, è di per se stesso liposolubile e, quindi, si è lasciato intrappolare abbastanza agevolmente all'interno di queste nanosfere. È chiaro che, se la molecola da veicolare, avesse una struttura chimica proteica servirebbe un altro veicolo: nella degenerazione maculare



Per il futuro si punta a un collirio contro la retinite pigmentosa

al momento presente non si può utilizzare un collirio perché i farmaci attualmente impiegati per trattare la retina non ‘passano’.

**In che misura la terapia genica rappresenta un approccio alternativo valido?**

È un approccio validissimo: quando la mutazione è diagnosticata e comporta la perdita di una funzione e le cellule sono più o meno intatte, è un ottimo metodo. Fino a dieci anni fa si riteneva che non fosse possibile adottarlo nell'uomo perché si riteneva che la tossicità dei vettori virali fosse troppo svantaggiosa... Invece, i virus sono sostanzialmente degli involucri che vengono sfruttati per trasportare il DNA mutato che, operando all'interno del fotorecettore, gli restituisce la capacità di rispondere agli stimoli luminosi. Quindi è una strada che andrà sicuramente espandendosi. Però, allo stato attuale, ci sono almeno un 40% dei pazienti per cui non è diagnosticabile la mu-



Fondo oculare di malato di retinite pigmentosa

tazione che, quindi, non si può nemmeno riparare; inoltre, ci sono delle mutazioni che uccidono le cellule e, quindi, non si riesce ad agire in modo sufficientemente rapido perché bisogna ‘spegnere’ il gene killer e sostituirlo con uno buono. Quindi, è una doppia manipolazione genetica ancora difficile; sugli animali da esperimento si fa, ma sull’uomo ancora no.

**Hanno ottenuto dei risultati incoraggianti con la terapia genica all’Università di Philadelphia (su pazienti affetti da amaurosi congenita di Leber)...**

A Philadelphia, ma anche a Londra (anche con la partecipazione di scienziati italiani). L’amaurosi congenita di Leber è una malattia simile alla retinite pigmentosa; ma la mutazione non è nella retina, bensì nelle cellule dell’epitelio pigmentato, che sono letteralmente ‘appiccicate’ alla retina stessa. Queste cellule sono fondamentali per restituire alla retina delle molecole che la retina non sa produrre da sola e che servono a vedere. Se l’epitelio pigmentato si spegne la retina diventa cieca. Però la fortuna di questa malattia, che è rarissima, è che per tempi molto lunghi la retina rimane intatta: non funziona ma nemmeno degenera. Per cui i pazienti

hanno ricevuto una singola iniezione di virus in un occhio [preventivamente svuotati del loro contenuto dannoso a cui sono stati sostituiti i geni sani, ndr] hanno cominciato a vedere. Erano pazienti che avevano perso la vista in età giovanissima, ma l’operazione è stata tanto più efficace quanto più la retina era giovane perché si era meglio conservata.

**Tornando al vostro trattamento, avete riscontrato delle differenze a seconda del tipo di retinite pigmentosa oppure nel topo è stata indotta una mutazione genetica standard?**

Sì, per ora l’abbiamo testata su un unico modello animale con una mutazione spontanea che si riscontra anche nell’uomo (nei bastoncelli). Abbiamo ragione di ritenere che il trattamento sia, in qualche modo, indipendente dalla mutazione perché le vie di morte cellulari di cui parlavo sono, in qualche modo, comuni a più patologie, anche in patologie non retiniche. Sono vie finali comuni che le cellule utilizzano per eliminare cellule in eccesso, neuroni patologici o anche cellule non neuronali. Quindi, penso che sicuramente la via della ceramide (‘messaggero’ di morte) sia una delle meglio conosciute nelle vie dell’apoptosi, anche al di fuori del sistema nervoso centrale, tant’è vero che viene sfruttata anche nel tumore, dove invece si vuole indurre la produzione di ceramide perché così le cellule cancerose si indirizzano verso un destino di morte.

**Quindi quest’approccio potrà essere efficace per molte patologie?**

Sì, certamente, almeno quelle per cui la morte cellulare è determinata da un accumulo di ceramide. Allo stesso modo un preparato a base di nanosfere potrà essere utilizzato anche per malattie oculari, ma non retiniche, per ‘bersagliare’ anche altre componenti interne all’occhio.

# L'autofluorescenza a luce blu

Proiettando un fascio luminoso sul fondo oculare a determinate frequenze si ottiene un'emissione spontanea di fotoni.

Gli oculisti possono così diagnosticare diverse patologie retiniche

## AGGIORNAMENTO

*A. Gianì*

*Clinica Oculistica A.O. "Luigi Sacco" - Università degli Studi di Milano*



Il dottor Andrea Gianì

**L'**autofluorescenza del fondo oculare con luce blu (blu-AF), introdotta in oftalmologia da Delori e colleghi (Delori FC 1994, Delori FC 1995), è una metodica rapida e non invasiva di diagnosi per immagini della retina, che può fornire informazioni molto ri-

levanti su diverse patologie. La blu-AF è generata utilizzando fonti luminose con lunghezza d'onda blu ed è una metodica utilizzata ormai da 15 anni nella pratica clinica. Recentemente è stato descritto anche come emissioni di radiazioni luminose con lunghezza d'onda attorno all'infrarosso possano generare autofluorescenza retinica (NIR-AF).

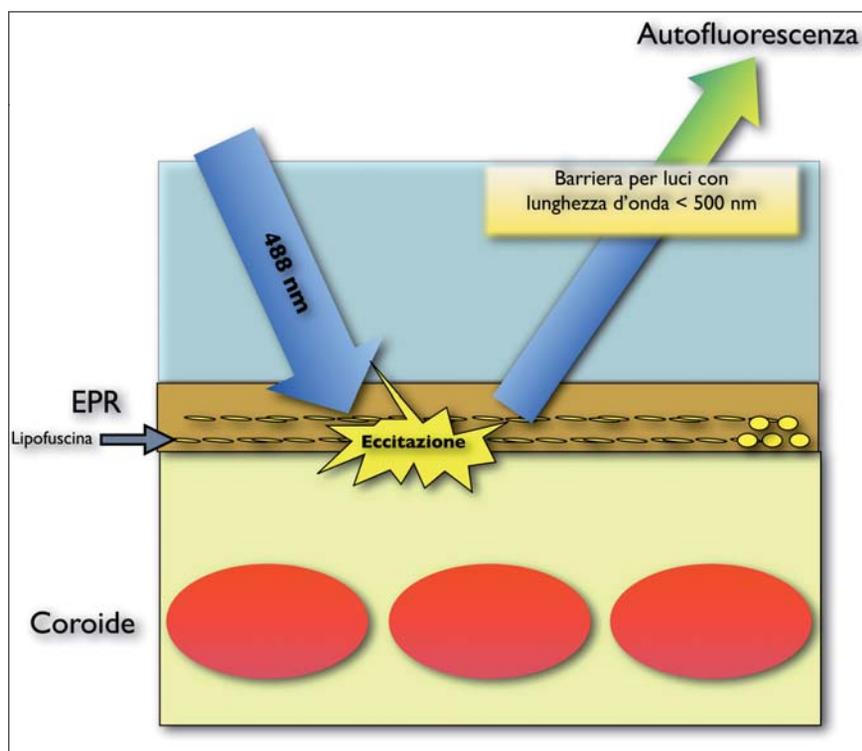


Figura 1. Come funziona l'autofluorescenza

### Definizione

L'autofluorescenza (AF) è tipicamente definita come un'emissione fluorescente che origina da fluorofori endogeni (già presenti nelle cellule) quando questi sono eccitati da una luce a specifica lunghezza d'onda (Schmitz-Valckenber S, 2008). Il prefisso "auto" è utilizzato per distinguere l'AF dall'emissione fluorescente ottenuta con l'uso di coloranti o marcatori esogeni (immessi dall'esterno). L'acquisizione dell'AF necessita di un filtro barriera per escludere la luce riflessa proveniente dall'emissione di eccitazione. Senza questo filtro si può verificare un'acquisizione sovrapposta di AF e luce riflessa, nota con il nome di "pseudofluorescenza" (Machemer R, 1970).

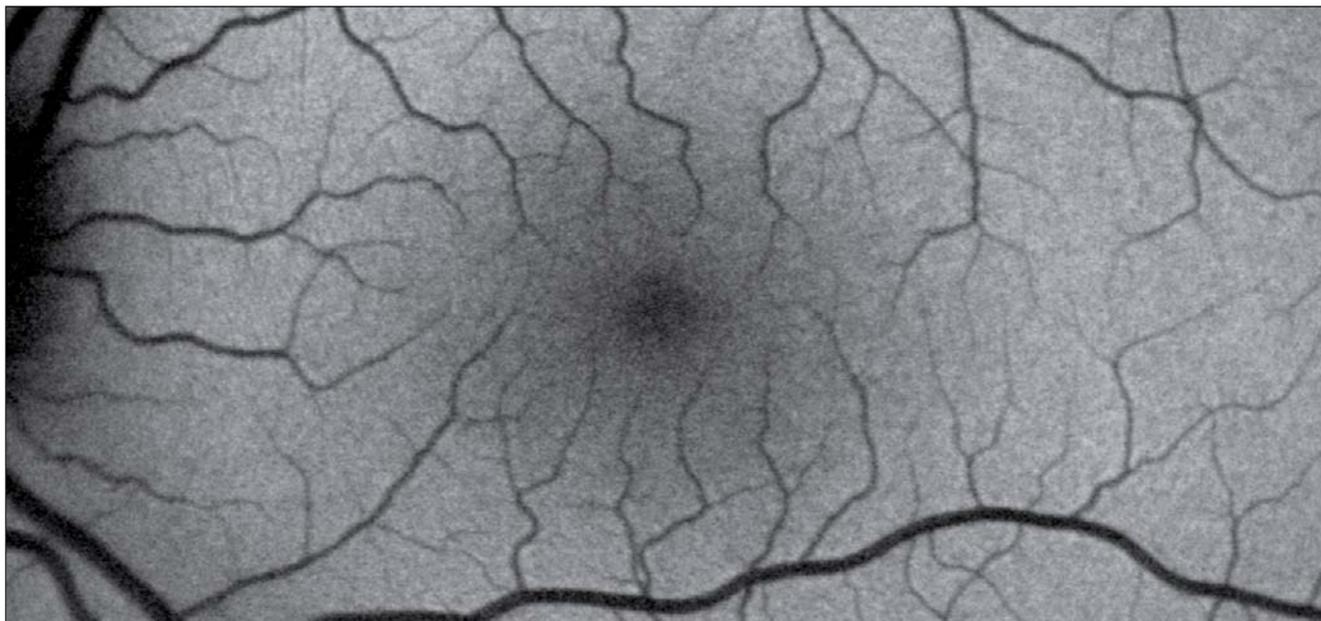
### Origine dell'autofluorescenza con luce blu

In generale, l'autofluorescenza del fun-

cus con luce blu si riferisce all'emissione fluorescente che origina dalla lipofuscina all'interno delle cellule dell'epitelio pigmentato retinico (EPR) (Bindewald-Wittich A, 2006). La lipofuscina è costituita da numerose sostanze fluorofore (bisretinoidi), la più importante delle quali è l'A2E (*N-retinil-retinildene etanolamina*). I diversi fluorofori che costituiscono la lipofuscina hanno spettri di eccitazione variabili, ma inclusi tra 426 e 510 nanometri<sup>1</sup> (nm), ed emettono tutti una radiazione luminosa di lunghezza d'onda pari a 610 nm.

La formazione dei bis-retinoidi inizia all'interno dei fotorecettori a partire da reazioni biochimiche aventi come substrato l'*all-trans-retinal* e il fosfolipide fosfatidiletinolamina. La formazione di *all-trans-retinal* è un passaggio fondamentale nel ciclo visivo, quando la radiazione luminosa attiva l'*11-cis-retinol* e scatena la sequenza di eventi biochimici che generano il segnale elettrico diretto alla corteccia visiva. In condizioni fisiologiche il ciclo visivo si conclude con il ritorno di *all-trans-retinal* alla forma inattivata *11-cis-retinol*. Solo una piccola parte di *all-trans-retinal* reagisce con il fosfolipide e da origine all'A2PE, precursore dell'A2E. L'A2PE non è eliminabile enzimaticamente, e per evitarne l'accumulo nei fotorecettori i dischi dei segmenti esterni vengono fagocitati giornalmente dalle cellule dell'EPR (Boulton M, 1989). All'interno delle cellule dell'EPR l'A2PE viene trasformato in A2E che, non essendo a sua

<sup>1</sup> pari a un miliardesimo di metro (*ndr*).



**Figura 2.** Un soggetto normale analizzato con autofluorescenza a luce blu. A livello dei vasi sanguigni retinici e della regione foveale si osserva una ridotta autofluorescenza: ciò è dovuto all'effetto blocco, esercitato rispettivamente dal sangue nei vasi e dal pigmento maculare della fovea. A sinistra si intravede la papilla ottica, nera per l'assenza di epitelio pigmentato retinico

volta degradabile, si accumula progressivamente come lipofuscina all'interno dei lisosomi dell'EPR (Sparrow, JR 2010) (Holz FG, 1999). Tale accumulo prosegue con l'età ed è stato dimostrato in grado di generare un effetto tossico sulla funzionalità e sulla salute metabolica dell'EPR (Sparrow JR, 2002).

### **Questioni d'interpretazione**

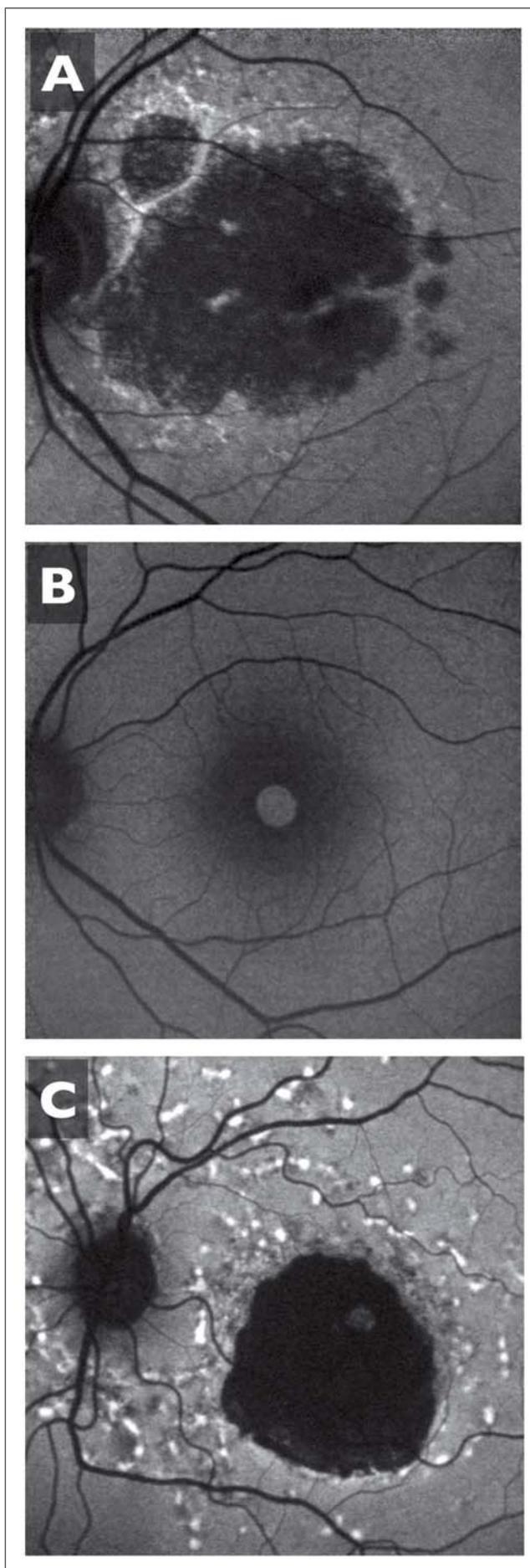
Nei soggetti normali la blu-AF ha un aspetto tipico, caratterizzato da ridotto o assente segnale dalla papilla ottica, dai vasi retinici e dalla regione foveale (Figura 1). A livello della papilla ottica ciò è dovuto all'assenza di epitelio pigmentato retinico, mentre l'assenza di blu-AF in corrispondenza dei vasi retinici è legato all'effetto blocco esercitato dal sangue. La regione foveale appare ipoautofluorescente per la presenza di pigmento maculare (luteina e zeaxantina) nella neuroretina foveale, che essendo di colore giallo è in grado di assorbire la luce blu.

La valutazione clinica di immagini di

blu-AF si basa su ogni alterazione rispetto all'aspetto tipico appena descritto. La focale riduzione o assenza di blu-AF può essere legata sia all'assenza o alla sofferenza dell'epitelio pigmentato retinico, ad esempio nelle atrofie geografiche dovute alla degenerazione maculare legata all'età (Figura 3A), sia ad un effetto blocco esercitato da sangue, fibrosi o accumuli di pigmento (ad esempio nelle lesioni neovascolari corioidali). L'aumento focale di blu-AF può essere spiegato con l'assenza di tessuto che normalmente blocca l'autofluorescenza, ad esempio nei fori maculari (Figura 3B), o con un accumulo di materiale ad alto contenuto di fluorofori, ad esempio nella distrofia pseudovitelliforme dell'adulto o nella malattia di Stargardt (Figura 3C), o a stati di sofferenza metabolica dell'epitelio pigmentato retinico (ad esempio nella corioretinopatia sierosa centrale cronica).

### **Ricerca... in blu**

L'interpretazione patofisiologica delle aree a ridotta o assente autofluorescenza



**Figura 3.** Tre pazienti affetti da patologie retiniche analizzati con autofluorescenza a luce blu. **A.** Un caso di atrofia geografica in degenerazione maculare di tipo non-essudativo: l'assenza di epitelio pigmentato retinico determina l'assenza di autofluorescenza in regione maculare; ai bordi dell'atrofia le aree di aumentata autofluorescenza sono associate ad una progressione della patologia. **B.** Un caso di foro maculare a tutto spessore: la mancanza di tessuto e di pigmento maculare nella regione foveale elimina l'effetto blocco e la normale autofluorescenza dall'epitelio pigmento retinico sotto-foveale può essere visualizzata. **C.** Un paziente affetto da malattia di Stargardt: nella zona maculare un'estesa area di atrofia dell'epitelio pigmentato retinico appare non autofluorescente; segno caratteristico della patologia sono le numerose lesioni focali iperautofluorescenti (flecks), determinate da depositi sottoretinici ricchi di materiale fluoroforo.

non pone generalmente particolari problematiche. Al contrario, l'interpretazione dell'aumentata autofluorescenza che si può riscontrare in alcune situazioni è più complessa (Sparrow JR, 2010). In particolare, l'iperautofluorescenza che talora circonda le aree di atrofia nella degenerazione maculare legata all'età non essudativa, che pare precedere l'estensione dell'atrofia stessa (Figura 3A), è stata interpretata diversamente da diversi autori. L'ipotesi classica è che essa sia costituita da un aumento della lipofuscina nelle cellule dell'epitelio pigmentato retinico: una moltiplicazione e/o ipertrofia delle cellule potrebbe spiegare questa situazione (Holz FG, 2001). Un'altra ipotesi prevede che la blu-AF proveniente da queste aree abbia origine prevalentemente dai fotorecettori, e in particolare da un'aumentata produzione del fluoroforo A2PE (Sparrow JR, 2010). Infatti tale fluoroforo, quando stimolato da luce blu, emette un'intensità maggiore di fluorescenza rispetto all'A2E, che è il più importante costituente della lipofuscina nell'epitelio pigmentato retinico (Sparrow JR, 2010). Se questa ipotesi fosse verificata

si dimostrerebbe che anche i fotorecettori, in particolari condizioni di sofferenza metabolica, possono generare autofluorescenza.

Un'altra caratteristica della blu-AF oggetto di particolare interesse è la possibilità di essere utilizzata per valutare la presenza di pigmento maculare. Infatti, valutando la mancanza del normale effetto blocco – che si ha nella regione foveale da parte del pigmento maculare quando si utilizza la luce blu per ottenere autofluorescenza – è possibile studiare le situazioni in cui si ha perdita di neuroretina, come nei fori maculari lamellari (Bottoni F, 2008), o alterazioni cellulari, come nelle telangiectasie maculari di tipo 2 (Zeimer MB, 2010).

Un campo di ricerca sempre molto attivo e oggetto di grande discussione è, infine, il tentativo di classificare specifici pattern di presentazione della blu-AF in diverse patologie, tra cui la degenerazione maculare legata all'età (Choudhry N, 2010, Holz FG, 1999) e l'edema maculare diabetico (Vujosevic S, 2011), per aumentare l'efficacia nella valutazione e follow-up dei pazienti.

### Conclusioni

La blu-AF è una metodica di facile esecuzione, rapida e non invasiva. Attualmente è l'unica procedura diagnostica disponibile in oftalmologia in grado di fornire informazioni riguardanti la funzionalità metabolica di elementi cellulari estremamente importanti come quelli dell'epitelio pigmentato retinico e, verosimilmente, dei fotorecettori. È auspicabile che i progressi nell'ambito della ricerca sia clinica che di base potranno presto fornire sia nuove indicazioni sulla patogenesi di molte patologie, sia nuovi strumenti clinici per una migliore diagnosi e follow-up dei pazienti.

### Bibliografia

- Bindewald-Wittich A, Han M, Schmitz-Valekenberg S et al. Two-photon-excited fluorescence imaging of human RPE cells with a femtosecond Ti:Sapphire laser. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:4553-4557
- Bottoni F, Carmassi L, Cigada M et al. Diagnosis of macular pseudoholes and lamellar macular holes: is optical coherence tomography the “gold standard”? *Br J Ophthalmol* 2008;92:635-639
- Boulton M, McKechnie NM, Breda J et al. The formation of autofluorescent granules in cultured human RPE. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989;30:82-89
- Choudhry N, Giani A, Miller JW. Fundus autofluorescence in geographic atrophy: a review. *Semin Ophthalmol* 2010;25:206-213
- Delori FC. Spectrophotometer for noninvasive measurement of intrinsic fluorescence and reflectance of the ocular fundus. *Appl Opt* 1994;33:7439-7452
- Delori FC, Dorey CK, Staurenghi G et al. In vivo fluorescence of the ocular fundus exhibits retinal pigment epithelium lipofuscin characteristics. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:718-729
- Holz FG, Bellman C, Staudt S et al. Fundus autofluorescence and development of geographic atrophy in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:1051-1056
- Holz FG, Bellmann C, Margaritidis M et al. Patterns of increased in vivo fundus autofluorescence in the junctional zone of geographic atrophy of the retinal pigment epithelium associated with age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1999;237:145-152
- Machemer R, Norton EW, Gass JD, Choromokos E. Pseudofluorescence—a problem in interpretation of fluorescein angiograms. *Am J Ophthalmol* 1970;70:1-10
- Schmitz-Valekenberg S, Holz FG, Bird AC, Spaide RF. Fundus autofluorescence imaging: review and perspectives. *Retina* 2008;28:385-409
- Sparrow JR, Yoon KD, Wu Y, Yamamoto K. Interpretations of fundus autofluorescence from studies of the bisretinoids of the retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:4351-4357
- Sparrow JR, Zhou J, Ben-Shabat S et al. Involvement of oxidative mechanisms in blue-light-induced damage to A2E-laden RPE. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:1222-1227
- Vujosevic S, Casciano M, Pilotto E et al. Diabetic macular edema: fundus autofluorescence and functional correlations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:442-448
- Zeimer MB, Kromer I, Spital G et al. Macular telangiectasia: patterns of distribution of macular pigment and response to supplementation. *Retina* 2010;30:1282-1293

## RECENSIONI LIBRI

### PORTE APERTE AL PENSIERO

**La cecità è principalmente mentale e la fisicità della visione è fragile. Lo sottolinea Maurizio Soldini, nel suo poema breve “La porta sul mondo”**

**S**i parla anche di cecità, ma dal punto di vista mentale<sup>1</sup>, nell’ultima breve (e bella) opera letteraria di Maurizio Soldini, docente di medicina e bioetica a Roma. “La porta sul mondo” è un poemetto dal sarcasmo pungente, a cui fa da sfondo uno spazio familiare: il centro commerciale. Gli echi omerici non mancano; ma è soprattutto una breve opera poetica dal carattere postmoderno, sospesa tra le profonde questioni esistenziali dell’uomo e le vetrine sfavillanti dei negozi tra cui gli uomini vagano alla vana ricerca esteriore di sé. Il poemetto è articolato in 27 brevi canti – divisi in cinque parti più proemio ed epilogo –, profondamente legati da un filo rosso che accompagna

il protagonista-autore attraverso la multiforme varietà di colori, suoni e profumi: è una sorta di nuovo Ulisse immerso tra le tentazioni dello shopping. Quasi ipnotizzato nel tempio della spesa, finisce con lo smarrirsi e perdere il senso complessivo di se stesso.

“La cecità è – ha commentato il Prof. Soldini – alla fine soltanto mentale, nel senso che la fisicità della visione è stentorea, fragile, provvisoria, spesso cieca di per sé. Difatti vediamo solo quando vogliamo vedere. E esemplarmente il poeta Omero era cieco ma nello stesso tempo lungimirante, nel senso che ha saputo e voluto guardare più lontano di molti vedenti. La poesia non ha bisogno degli oggetti. Basta la loro presenza metafisica. Questo però – precisa l’autore – non significa che la preziosità dell’apparato visivo che ci consente di avere una finestra in più sul mondo non sia importante”.

### MENO SOLUZIONI REALI DALLE STAMINALI

**Combattere le false speranze di chi propone l’uso di staminali senza una reale dimostrazione scientifica. Gianluca Ferrari e Ilaria Molinari hanno raccolto le esperienze di chi, in prima persona, ha provato invano a rivolgersi a strutture che proponevano cure fantomatiche, soprattutto in Russia e in Cina.**

**D**isilludere chi crede ciecamente che siano già disponibili cure ‘miracolose’ con le staminali per le malattie più disparate. Contro queste false aspettative terapeutiche si scagliano i due autori di un nuovo libro, *Le cellule della speranza*<sup>2</sup>, che cerca di mettere un freno

a chi guarda acriticamente ai trattamenti a base di cellule ‘bambine’ come panacea di ogni male. Si predilige, quindi, un’impostazione scientifica facendo tesoro delle vane esperienze vissute dai malati e dai loro parenti: si combattono apertamente i “venditori di speranze”, i millantatori d’illusioni equiparati agli stregoni che frodano e, in ultima analisi, si dà voce a tre medici e ricercatori con altrettante interviste. In conclusione si sottolinea come le staminali attualmente rappresentino una possibilità terapeutica concreta solo contro le leucemie, per rigenerare la cornea (in alcuni casi) e per chi ha subito gravi ustioni (aiutano la rigenerazione cutanea).

<sup>1</sup> “Poi ti ritrovi nella gettatezza/Dell’universo/Mediatico e ricerchi/I cristalli liquidi perfetti/Che aprano finestre sulle scale./Comprendi che la cecità mentale/Si avvale anche di protesi efficaci”, in *La porta sul mondo*, Roma, Giuliano Ladolfi Editore, 2011, p. 30.

<sup>2</sup> di Gianluca Ferrari e Ilaria Molinari, Sperling & Kupfer, 2011.

# Riabilitazione visiva nella maculopatia di Stargardt

Applicazione del Microperimetro MP-1 in pazienti affetti  
dalla patologia oculare degenerativa genetica

## LAVORO SCIENTIFICO

D. Domanico<sup>a</sup>, F. Verboschi<sup>b</sup>, I. Domanico<sup>b</sup>, V. De Rosa<sup>b</sup>, F. Martella<sup>b</sup>, E. M. Vingolo<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Ospedale "S. Maria Goretti"-Latina

<sup>b</sup> Dipartimento di Scienze Oftalmologiche, Università "Sapienza" di Roma, Ospedale A. Fiorini - Terracina (Latina)

### Abstract

Abbiamo voluto valutare l'efficacia della riabilitazione visiva con Microperimetro MP-1 in pazienti affetti da maculopatia degenerativa di tipo Stargardt nel localizzare e mantenere nel tempo una nuova sede di fissazione. Abbiamo arruolato 5 pazienti (10 occhi) e abbiamo valutato: acuità visiva, fundus oculi, campo visivo, fluorangiografia (FAG+ICG), OCT, microperimetria MP-1, PEV, ERG e test della velocità di lettura. Sono stati, quindi, inseriti in un programma riabilitativo di biofeedback personalizzato della durata di 10 minuti in ciascun occhio – per un totale di 10 sedute – per insegnare loro a spostare la fissazione naturale verso un'area di retina sana. A fine lavoro abbiamo notato un miglioramento della fissazione da relativamente stabile o instabile a stabile, con valori statisticamente significativi ( $p=0,0271$ ); la sensibilità retinica media dei trenta gradi centrali è aumentata ( $p=0,0473$ ) e, anche in base al test della velocità di lettura, abbiamo ottenuto risultati rilevanti ( $p=0,0498$ ). Prendendo poi in esame gli ingrandimenti ottici e gli ingrandimenti elettronici abbiamo ottenuto un incremento medio a favore dei secondi del

56,33%. I nostri risultati evidenziano che la microperimetria è determinante nella riabilitazione anche nella maculopatia di Stargardt e che, coadiuvata da un videoingranditore, rende il percorso riabilitativo più preciso e duraturo nel tempo.

### Introduzione

La malattia degenerativa di tipo Stargardt è una forma giovanile di degenerazione ereditaria maculare caratterizzata oftalmoscopicamente da macchie giallastre rotonde o pisciformi attorno alla macula a livello dell'epitelio pigmentato della retina. Negli stadi precoci la macula mostra, infatti, evidenti modificazioni dell'epitelio pigmentato della retina seguite dalla comparsa di una zona ovoidale di atrofia bronzea; mentre negli ultimi stadi della malattia le lesioni della macula possono associarsi a distrofia areolare centrale della coroide. Questa maculopatia ha di solito un'eredità autosomica recessiva, ma sono state descritte alcune forme dominanti. La forma autosomica è dovuta a mutazioni nel gene ABCR (*retina-specific ATP binding cassette*) che codifica per una proteina del trasporto energetico (RmP) a

livello della membrana cellulare dei segmenti esterni dei bastoncelli. Ne consegue una progressiva degenerazione dei fotorecettori con perdita dell'acuità visiva. La comprensione del funzionamento del gene ABCR è presupposto essere fondamentale per la messa a punto di una futura terapia. Tale degenerazione determina la presenza di uno *scotoma centrale assoluto* che comporta diminuzione della visione centrale e deformazione delle immagini, provocando una notevole difficoltà alla lettura. Nonostante sinora non sia ancora disponibile un trattamento scientificamente provato, le persone affette possono giovare del valido aiuto di *moderni mezzi ausiliari ottici* e della *riabilitazione visiva*, amplificando le potenzialità del residuo visivo presente qualora la fissazione sia decentrata rispetto alla fovea. La riabilitazione visiva ha come obiettivo quello di rendere il paziente ipovedente nuovamente abile nel leggere. In questo caso l'obiettivo consiste nello spostare, attraverso idonei esercizi, la PRL (Locus Preferenziale Retinico) nella sede più consona alla lettura, ossia nell'*emiretina superiore* (temporale per l'occhio destro e nasale per l'occhio sinistro), a patto che la microperimetria mostri un sufficiente canale di lettura orizzontale.

Lo scopo di questo lavoro è stato verificare l'efficacia della riabilitazione visiva in pazienti affetti da Stargardt permettendo loro di:

- localizzare in maniera stabile una nuova sede di fissazione;
- imparare ad utilizzare in maniera più appropriata la nuova pseudofovea attraverso il monitoraggio preciso della Microperimetria MP-1.

Tale strumento consente la misurazione della soglia differenziale di sensibilità retinica punto per punto e l'analisi

della fissazione retinica in riferimento a sede, area e stabilità. Questo è utile non solo in fase di diagnosi di malattia ma, soprattutto, per monitorarne la storia naturale e valutare l'efficacia terapeutica di qualsiasi metodica utilizzata, avendo come parametro di valutazione la *funzionalità maculare in termini di sensibilità e fissazione* e non il semplice aspetto morfologico della macula.

### Materiali e metodi

Presso gli ambulatori dell'Ospedale "Santa M. Goretti" di Latina e dell'Ospedale "A. Fiorini" di Terracina (LT) è stato reclutato un gruppo di 5 pazienti (per un totale di 10 occhi), di sesso femminile ed età media di circa 35 anni, affetti da maculopatia degenerativa di tipo Stargardt. Per la diagnosi di tale patologia è stato eseguito uno studio oftalmologico completo comprensivo di:

- esame dell'acuità visiva per lontano, studiata mediante ottotipo Snellen a 5 m, test duocromatico rosso-verde, cilindro crociato (0,25D-0,50D) e quadranti astigmatometrici di Pannarale. L'acuità visiva per vicino è stata esaminata con ottotipo a norme ICAO a luminosità costante;

- esame del *fundus oculi* mediante oftalmoscopio di Schepens, che ha mostrato la presenza di macchie giallastre o pisciformi attorno alla macula associate a distrofia areolare centrale della coroide e pallore papillare;

- campo visivo mediante perimetria computerizzata Humphrey (programma 10-2, stimolo Goldmann III, Sita-Standard Strategy testato su 68 punti);

- esame fluorangiografico (FAG + ICG);

- tomografia a coerenza ottica (OCT) Spectral Domain (Heidelberg HRA-2, OCT module Heidelberg, Germany);

- microperimetria mediante Microperimetro MP-1\* (programma *Macular*, con stimolo Goldmann III a sfondo bianco e target di fissazione rappresentato da una croce singola 1° con strategia di soglia 4-2 con sondaggio di 68 punti). L'esame permette di definire fissazione e soglia differenziale retinica sfruttando la tecnologia dell'osservazione oftalmoscopica con laser ad infrarosso per una visualizzazione in tempo reale della retina: il paziente è invitato a fissare un determinato target (croce) e l'andamento dell'esame è controllato elettronicamente da un sistema di tracking che agisce in tempo reale. La fissazione è stata valutata nei 2° e nei 4° centrali, con particolare attenzione alla sensibilità retinica media ed al difetto medio, misurati in dB. Prima di cominciare il paziente viene istruito sulla modalità dell'esame ed è sottoposto ad un adattamento visivo di 5 minuti prima dell'inizio del test. Sono stati forniti stimoli modulati nella zona maculare attraverso un sistema di proiezione programmabile e le risposte dei pazienti sono state raccolte e mappate.

- esami elettrofunkzionali ERG e PEV;

- test della velocità di lettura, calcolata misurando il numero di parole che i pazienti erano in grado di leggere in un minuto, utilizzando ottotipi a norme ICAO sempre diversi ad ogni test di lettura per evitare comuni memorizzazioni delle parole da parte dei pazienti. Le dimensioni dei caratteri si basavano sulle dimensioni dei corpi di stampa.

Sulla base dei suddetti esami è stata posta diagnosi di maculopatia degenerativa di tipo Stargardt ed è stato proposto a queste pazienti un protocollo riabilitativo di fotostimolazione neurale ottenuta

mediante biofeedback. Prima di procedere alle sedute riabilitative è stato presentato a tutte le pazienti un questionario contenente domande sulle loro abitudini, attività quotidiane, aspettative e relative difficoltà incontrate a causa delle limitazioni che comporta questa patologia. Durante la prima seduta del piano riabilitativo è stato eseguito l'esame del visus corretto per lontano e per vicino, un esame microperimetrico con studio della fissazione e della sensibilità retinica per la ricerca delle aree scotomatoze e l'individuazione del PRL. In questa seduta a tutte le pazienti sono stati eseguiti vari test di lettura con diverse modalità ed è stato impiegato un videoingranditore per determinare oggettivamente l'acuità visiva per vicino. In questa fase è stato proposto un programma riabilitativo di biofeedback personalizzato, della durata di dieci minuti in ciascun occhio, per un totale di dieci sedute, allo scopo di imparare a spostare il proprio locus di fissazione verso un'altra area retinica che risulti preferibile per la lettura rispetto a quella di scelta naturale. Un suono intermittente di frequenza variabile aiuta il paziente ad allineare l'area di retina scelta dall'operatore con la mira di fissazione, in modo che al diminuire della distanza tra la mira di fissazione e l'area di retina prescelta tale suono aumenti di frequenza fino a diventare continuo (quando i due elementi sono allineati). Al termine del training di 10 sedute sono stati ripetuti tutti gli esami al fine di analizzare i risultati ottenuti.

Per l'analisi statistica è stato utilizzato il test t di Student e valori inferiori a 0,05 sono stati considerati statisticamente significativi.

\* Nidek Technologies, Padova, Italia

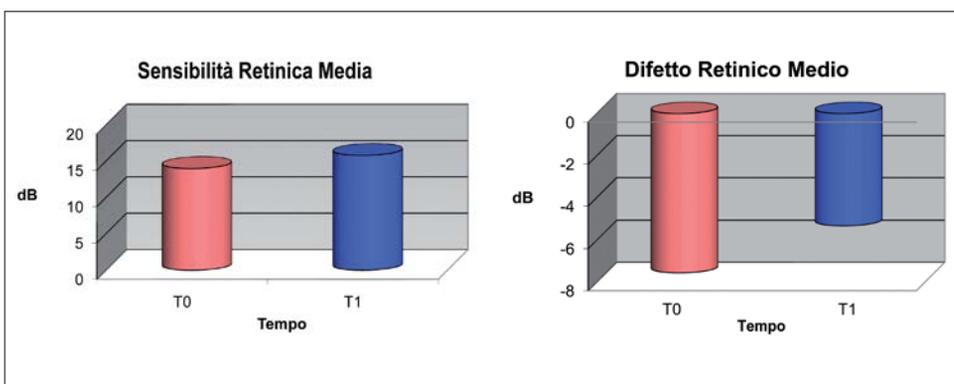
È stato ottenuto un consenso informato da parte delle pazienti arruolate per la ricerca ed il Comitato Etico del nostro Istituto ha approvato il protocollo di studio.

## Risultati

La microperimetria effettuata prima della riabilitazione ha rilevato la presenza di uno scotoma centrale assoluto con fissazione instabile e sensibilità retinica ridotta. Dal confronto con l'esame microperimetrico effettuato dopo le 10 sedute riabilitative è stato possibile osservare un generale aumento della sensibilità retinica soprattutto attorno all'area foveale, con una conseguente modificazione del sito di PRL, che tende ad avvicinarsi al margine dello scotoma centrale. Abbiamo osservato, inoltre, che la zona lesionata centrale con scotoma assoluto rimane sia prima che dopo le sedute riabilitative con bassa soglia. Ciò che migliora è l'area circostante, che aumenta di sensibilità grazie ad una più stabile fissazione e a una buona individuazione della PRL.

Per quanto riguarda la fissazione, dopo le dieci sedute riabilitative abbiamo potuto notare un aumento della stabilità dei punti di fissazione entro i 2° ed entro i 4°. La fissazione, infatti, è apparsa in netto miglioramento, passando da relativamente stabile o instabile a stabile, con valori di  $p$  statisticamente significativi ( $p=0,0271$ ). I risultati presentati nella tabella 1 comprendono le percentuali medie dei punti di fissazione calcolati – nei 2° centrali e nei 4° centrali – per tutto il gruppo delle pazienti sia prima delle sedute riabilitative (T0) che dopo (T1). Dai

nostri risultati è emerso un incremento percentuale medio – calcolato considerando tutti i valori in T0 e T1 – di circa lo 29,02%.



In tutte le pazienti la fissazione risultava notevolmente compromessa nei 2° centrali, mentre era più stabile nei 4° centrali prima della riabilitazione; dopo le sedute di biofeedback è stato ottenuto un miglioramento generale, ma soprattutto nei 2°: si è passati, infatti, da un valore percentuale medio del 49,8% con fissazione instabile a una percentuale media di 83,7% con fissazione relativamente stabile; per quanto riguarda i 4° si è passati da un valore di 77,2% con fissazione relativamente stabile a una percentuale media di 95,8% con fissazione stabile. Il punto di fissazione tende ad avvicinarsi al margine dello scotoma sino a sfiorarlo; inoltre, il tempo per eseguire l'esame microperimetrico è nettamente diminuito.

Un altro dato significativo è l'aumento della sensibilità retinica media calcolata nei 30° centrali e la conseguente diminuzione del difetto retinico medio. Applicando il test  $t$  di Student alle due medie di sensibilità retinica abbiamo ottenuto risultati statisticamente significativi ( $p=0,0473$ ).

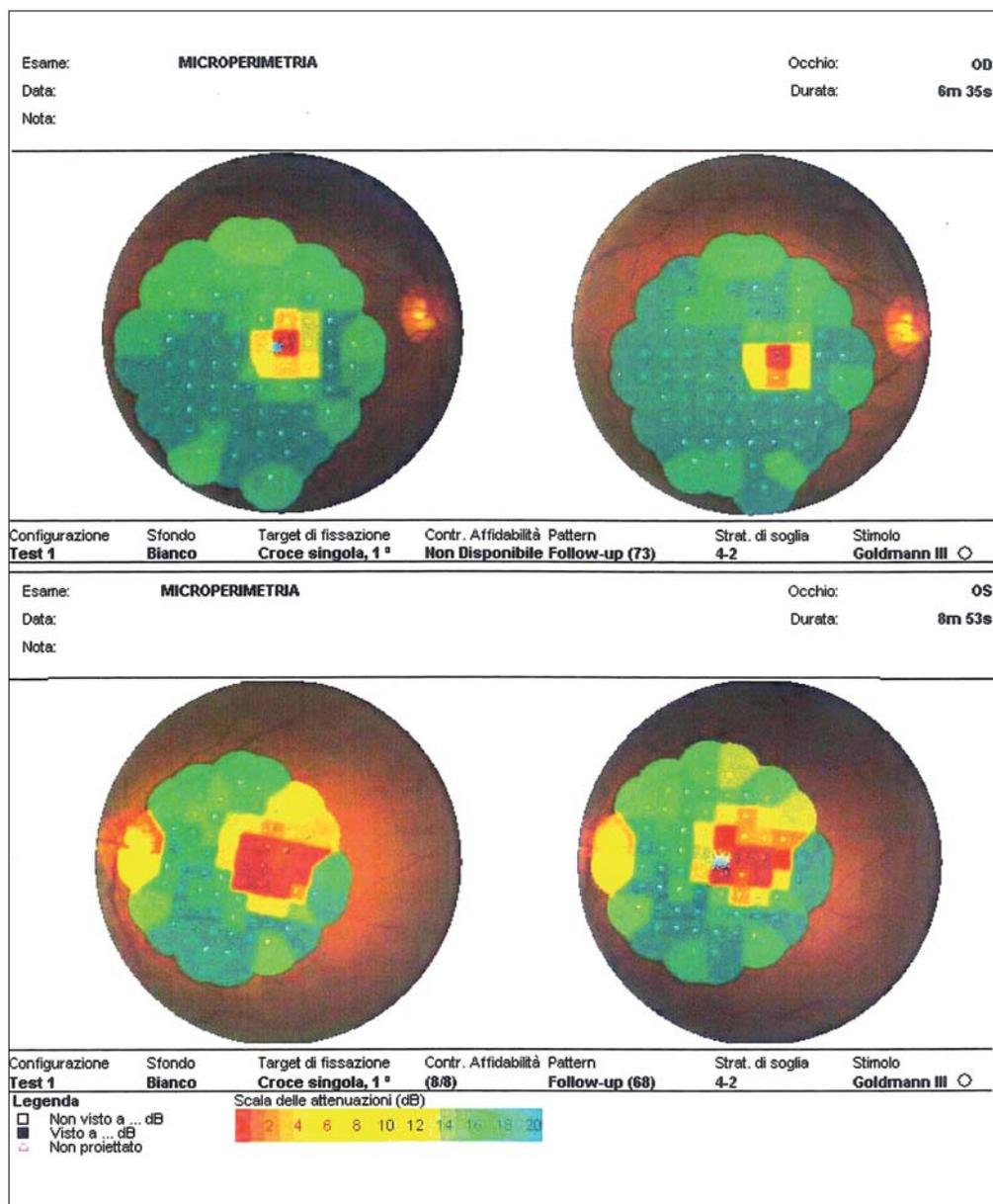
Per quanto riguarda il test della velocità di lettura si è avuto un miglioramento dopo la riabilitazione e, anche in questo

caso, i risultati ottenuti confrontando le due medie (prima e dopo il training) sono stati statisticamente significativi ( $p=0,0498$ ). Abbiamo notato, inoltre, un'importante differenza tra i test di lettura eseguiti con ingrandimenti ottici e quelli eseguiti con ingrandimento elettronico. Secondo quanto emerso dai dati, prendendo in esame gli ingrandimenti ottici in T0, il numero delle parole al minuto è stato di 59,2 p/m, mentre in T1 89,2 p/m (con un incremento di circa 47,29%); analizzando gli ingrandimenti elettronici in T0 la velocità di lettura è stata pari a 99,36 p/m e in T1 di 126,3 p/m, ottenendo un incremento percentuale a favore degli ingrandimenti ottici di circa il 67,83% in T0 e di 44,83% in T1, con un incremento medio totale di 56,33%.

### Discussione

Il biofeedback è una tecnica per apprendere il controllo volontario di una funzione automatica. Da molti anni viene applicata al controllo di disturbi neurovegetativi come la sudorazione, la cefalea e le aritmie cardiache con componente psico-

gena. Da qualche anno ormai le tecniche di BF sono state applicate in oftalmologia. Alcuni segnali biologici interni – che nel nostro caso possono essere considerati potenziali neuroelettrici provenienti dalle cellule ganglionari retiniche dietro stimolo di una data lunghezza d'onda – vengono trasformati dall'apparecchiatura utilizzata in un determinato segnale elettrico che viene, quindi, amplificato e restituito al soggetto (feedback) sotto forma di segnale individuabile (in genere ha un carattere acustico). Mezawa<sup>1</sup>, utilizzando le



Esempi di microperimetria prima e dopo riabilitazione

tecniche di biofeedback sonoro in pazienti con nistagmo congenito, ha dimostrato un miglioramento dell'apprendimento alla fine del training grazie a una migliore abilità della fissazione. Un nostro precedente studio<sup>2</sup> ha avuto come obiettivo quello di verificare l'effetto del training visivo con la tecnica del biofeedback sonoro del *Visual Pathfinder* (LACE inc.) sulle variazioni dell'acuità visiva e dei potenziali evocati visivi (*pattern reversal*) nonché sulle prestazioni visive nelle attività della vita quotidiana in pazienti affetti da retinite pigmentosa. Da questo studio è emerso un miglioramento delle prestazioni visive, dell'acuità visiva e dell'ampiezza dei potenziali evocati visivi nella retinite pigmentosa e, di conseguenza, una migliore qualità della vita di questi pazienti. I nostri risultati confermano un altro precedente studio<sup>3</sup> nel quale abbiamo, invece, valutato l'efficacia su funzionalità visiva e qualità della vita di un training con stimolo strutturato attraverso il biofeedback microperimetrico MP-1\* in pazienti con degenerazione maculare legata all'età (AMD); abbiamo dimostrato che tale tecnica aiuta il paziente ad esercitare e stabilizzare un nuovo locus retinico preferenziale (PRL) sia nella maculopatia senile che in altre patologie retiniche centrali<sup>4</sup>. La stimolazione strutturata stimola i processi integrativi a livello degli strati retinici interni, permettendo un'ottimizzazione del riconoscimento dello stimolo, della sua elaborazione e quindi della sua trasmissione a livello della corteccia visiva.

I nostri risultati confermano dunque che pazienti ipovedenti hanno una buona possibilità di recupero funzionale e di miglioramento della qualità della vita per mezzo di tecniche di biofeedback. Tecni-

che di feedback sonoro facilitano la trasmissione di stimoli tra neuroni intraretinici così come tra retina e cervello, dove avviene il più alto grado di elaborazione per un fenomeno presumibilmente di "re-mapping".

Contestabile<sup>5</sup> e Giorgi<sup>6</sup> hanno dimostrato l'aumento dell'acuità visiva, della visione dei colori, della sensibilità al contrasto e dei flash PEV in pazienti ipovedenti sottoposti a riabilitazione visiva con l'IBIS (*Improved Biofeedback Integrated System*).

Un più recente studio condotto su pazienti affetti da degenerazione maculare legata all'età<sup>7</sup> ha dimostrato che la riabilitazione visiva mediante tecniche di biofeedback utilizzando il microperimetro MP-1 possono aiutare il cervello a memorizzare la posizione finale di fissazione aumentando l'attenzione, fornendo così un efficiente PRL per i compiti visivi in pazienti con malattia maculare e scotoma centrale.

Una peculiarità della fotostimolazione neurale ottenuta mediante biofeedback è che l'effetto terapeutico non si limita al periodo di training in cui il paziente apprende una metodica in tempi variabili e a seconda della propria capacità di acquisizione, ma continua e si stabilizza nella quotidiana applicazione a patto che ogni 6 mesi circa si ripeta il training riabilitativo. La microperimetria con MP-1 è un esame che offre un quadro funzionale visivo, qualitativo e quantitativo della visione utile alla riabilitazione delle maculopatie; ci permette, inoltre, una valutazione quantitativa del diametro del PRL e della distanza del PRL dal margine dello scotoma. La lesione maculare porta a una riorganizzazione dell'insieme del si-

\*\* Nidek Technologies

stema visivo di tutte le vie ottiche: dalla retina alla corteccia cerebrale che costituisce, quindi, una vera e propria unità funzionale. Le dieci sedute riabilitative attraverso l'uso del microperimetro MP-1 permettono al paziente di localizzare un nuovo PRL, in modo tale da escludere l'area lesionata e favorendo una fissazione più stabile; lo scopo della riabilitazione non è solo quello di migliorare il residuo visivo del paziente, ma anche di migliorare la qualità visiva intesa come qualità d'immagine che raggiunge le aree corticali. È, inoltre, importante ottenere la massima collaborazione dei pazienti affetti da maculopatia degenerativa; per tale motivo è necessario che siano al corrente che la malattia, essendo degenerativa, continuerà a seguire il proprio corso e che le sedute di riabilitazione si eseguono per tentare di migliorare le condizioni visive rallentandone l'evoluzione, ma non per fini guaritivi.

Dai risultati ottenuti in questo studio emerge come il processo riabilitativo che abbiamo eseguito abbia portato esiti positivi: le pazienti hanno riferito una maggiore sicurezza visiva, una sensazione di miglior visione (con e senza l'uso di ausili ottici), confermata dai risultati ottenuti con i test di lettura sia prima che dopo il programma riabilitativo e la microperimetria. Dall'analisi con il test t di Student emergono risultati statisticamente significativi ( $p < 0,05$ ), dimostrando che la riabilitazione migliora realmente la fissazione, la sensibilità retinica media e la velocità di lettura. Per quanto riguarda quest'ultimo risultato è stato visto che prima della riabilitazione le pazienti hanno in media una velocità di lettura pari a 78,06 p/m, mentre dopo la riabilitazione 98,4 p/m – con un conseguente incremento percentuale medio del 25,85% –, una riduzione della

grandezza del carattere di stampa e un valore di p statisticamente significativo.

In conclusione, è possibile dedurre dai nostri risultati che la microperimetria possa giocare un ruolo determinante nella riabilitazione della maculopatia di tipo Stargardt nel migliorare la fissazione e quindi la sensibilità retinica e che, coadiuvata dall'uso di un videoingranditore, possa permettere di determinare più specificatamente la nuova PRL rendendo, quindi, il percorso riabilitativo di tali pazienti più preciso e duraturo nel tempo.

### Bibliografia

1. Mezawa M, Ishikawa S, Ukai K. Changes in wave-form of congenital nystagmus associated with biofeedback treatment. *Br J Ophthalmol.* 1990;74(8):472-6.
2. Vingolo EM, Salvatore S, Grenga PL, Limoli P. Visual training in retinitis pigmentosa patients: neural plasticity and function recovery. In *Retinal Degeneration: causes, diagnosis and treatment.* Nova Publisher. New York 2009; 249- 261.
3. Salvatore S, Turano G, Petracca S. Allenamento visivo con stimolo strutturato in pazienti con degenerazione maculare legata all'età (AMD). *Euvision* 2009; 24-29.
4. EM Vingolo, S. Salvatore, S. Cavarretta. Low Vision rehabilitation by means of MP-1 biofeedback examination in patients with different macular diseases: a pilot study. *Appl Psychophysiol Biofeedback* 2009; 34: 127-133.
5. Contestabile MT, Recupero SM, Palladino D, De Stefanis M, Abdolrahimzadeh S, Suppressa F, Balacco Gabrieli C. A new method of biofeedback in the management of low vision. *Eye.* 2002;16(4):472-80.
6. Giorgi D, Contestabile MT, Pacella E, Gabrieli C.B. An instrument for biofeedback applied to vision. *Appl Psychophysiol Biofeedback.* 2005;30(4):389-95.
7. Vingolo EM, Cavarretta S, Domanico D, Parisi F, Malagola R. Microperimetric biofeedback in AMD patients. *Appl Psychophysiol Biofeedback.* 2007;32 (3-4):185-9

# Sperimentate staminali per riparare la retina

**Il trapianto di cellule staminali riprogrammate retiniche di topo adulto ottenute dai precursori dei fotorecettori ha parzialmente ripristinato nelle cavie la struttura e la funzionalità della retina; ma il rischio di tumori è in agguato**

## LAVORO SCIENTIFICO<sup>1</sup>

***Budd A. Tucker<sup>a</sup>, In-Hyun Park<sup>c</sup>, Sara D. Qi<sup>b</sup>, Henry J. Klassen<sup>f</sup>, Caihui Jiang<sup>a</sup>, Jing Yao<sup>b,g</sup>, Stephen Redenti<sup>a</sup>, George Q. Daley<sup>d,e</sup>, Michael J. Young<sup>b</sup>***

<sup>a</sup> Department of Ophthalmology, Institute for Vision Research, Carver College of Medicine, University of Iowa, Iowa City, Iowa, United States of America. E-mail: budd-tucker@uiowa.edu

<sup>b</sup> Department of Ophthalmology, Schepens Eye Research Institute, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, United States of America

<sup>c</sup> Division of Pediatric Hematology/Oncology, Children's Hospital Boston and Dana Farber Cancer Institute, Boston, Massachusetts, United States of America,

<sup>d</sup> Department of Biological Chemistry and Molecular Pharmacology, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, United States of America

<sup>e</sup> Manton Center for Orphan Disease Research, Harvard Stem Cell Institute, Howard Hughes Medical Institute, Children's Hospital Boston, Boston, Massachusetts, United States of America

<sup>f</sup> Department of Ophthalmology, School of Medicine, Gavin Herbert Eye Institute, University of California Irvine, Orange, California, United States of America

<sup>g</sup> Department of Ophthalmology, Eye&ENT Hospital, Shanghai Medical School, Fudan University, Shanghai, China

### ***Abstract***

*Questo studio<sup>2</sup> è stato concepito per stabilire se le cellule adulte di topo pluripotenti indotte (iPSC) possano essere usate per produrre precursori retinici e, di conseguenza, i fotorecettori da trapiantare nella retina, in modo da ripristinare la funzionalità retinica nei riceventi colpiti da degenerazione. Le iPSC sono state generate impiegando i fibroblasti dermici murini dsRed<sup>3</sup> via induzione retrovirale dei fattori di trascrizione*

*Oct4, Sox2, KLF4 e c-Myc. Come con le normali cellule di topo ES [staminali embrionali, ndt], le cellule adulte iPSC dsRed hanno espresso i geni pluripotenti SSEA1, Oct4, Sox2, KLF4, c-Myc e Nanog. In seguito al trapianto nell'occhio dei topi immunocompromessi colpiti da patologie retiniche degenerative, queste cellule hanno formato teratomi<sup>4</sup>, i quali contenevano tessuto che includeva tutti e tre gli strati germinali. 33 giorni dopo la differenziazione un'ampia*

<sup>1</sup> Questo articolo – pubblicato nella sua versione integrale inglese nel sito ufficiale di PLoS ([www.plosone.org](http://www.plosone.org)) e in queste pagine parzialmente tradotto in italiano – è ad accesso libero ed è distribuito nei termini della *Creative Commons Attribution License*, che consente un uso, una distribuzione e una riproduzione illimitati, con qualunque mezzo, ammesso che l'autore e la fonte originale siano citati: Tucker BA, Park I-H, Qi SD, Klassen HJ, Jiang C, et al. (2011), "Transplantation of Adult Mouse iPS Cell-Derived Photoreceptor Precursors Restores Retinal Structure and Function in Degenerative Mice", PLoS ONE 6(4): e18992. doi:10.1371/journal.pone.0018992, © 2011 Tucker et al. Ricevuto il 22 ottobre 2010. Accettato il 23 marzo 2011. Pubblicato su PLoS il 29 aprile 2011. Editor: Branden Nelson, Seattle Children's Research Institute, United States of America.

<sup>2</sup> Hanno contribuito alla ricerca le borse di studio finanziate da: National Institutes of Health (NIH) (DP2 *new innovators award*) e la *Foundation Fighting Blindness* a beneficio di Tucker; le fondazioni *Lincy* e *Discovery Eye* nonché *Research to Prevent Blindness* a favore di Young; Daley è stato finanziato dall'NIH ed è un ricercatore del *Manton Center for Orphan Disease Research* nonché del *Howard Hughes Medical Institute*. I finanziatori non hanno avuto alcun ruolo nel concepire, raccogliere i dati e nell'analizzarli e neanche nella decisione di pubblicare o preparare il manoscritto.

<sup>3</sup> La dsRed è una proteina che rende un tessuto fluorescente se irradiato con un'appropriata fonte luminosa, ndt.

<sup>4</sup> tumori generalmente benigni ma voluminosi, ndt

<sup>5</sup> proteina presente nei fotorecettori retinici, ndt

quota di cellule ha espresso il marker cellulare del progenitore retinico *Pax6* e ha proseguito [lo sviluppo] esprimendo i marcatori

dei fotorecettori *CRX*, *recoverina*<sup>5</sup> e *rodopsina*. Quando sono state testate mediante l'imaging del calcio, queste cellule hanno di-

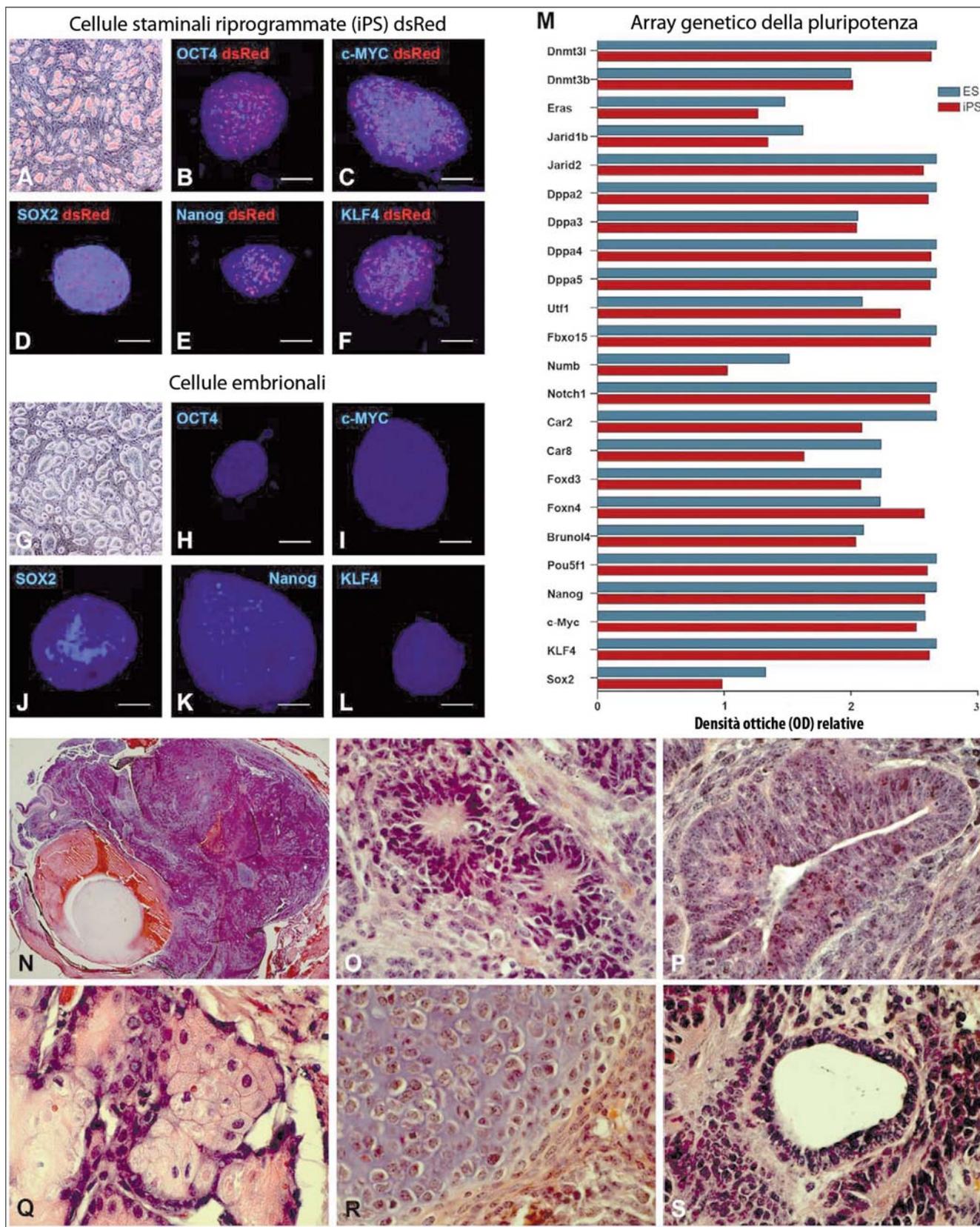


Figura 1. Caratterizzazione di cellule adulte di topo iPS dsRed

*mostrato di avere le caratteristiche della normale fisiologia retinica, rispondendo allo stimolo di neurotrasmettitori. In seguito al trapianto subretinico nei riceventi colpiti da degenerazione, le iPSC si sono differenziate insediandosi nello strato retinico nucleare esterno, dando origine a un incremento della funzionalità elettroretinica, come riscontrato con l'ERG e l'anatomia funzionale. Pertanto le iPSC derivate da fibroblasti adulti offrono una fonte vitale per la produzione di precursori retinici da impiegare per il trapianto e il trattamento delle malattie retiniche degenerative.*

### **Introduzione**

Le malattie retiniche degenerative come la retinite pigmentosa (RP) e la degenerazione maculare legata all'età (AMD) sono attualmente le principali cause di cecità incurabile dell'Occidente [1,2,3]. Queste patologie sono caratterizzate dalla morte delle cellule sensibili alla luce (fotorecettori) della retina esterna. Poiché l'intrinseca capacità rigenerativa della retina dei mammiferi è estremamente limitata, la sola opzione di trattamento possibile per le persone che soffrono di perdita dei fotorecettori è la sostituzione cellulare.

Lo scorso decennio il trapianto di cellule staminali/progenitrici come mezzo per indurre la ricostruzione dei tessuti e la rigenerazione funzionale ha guadagnato grande interesse nel campo della medicina rigenerativa. In particolare con la retina sono state fatti molti progressi entusiasmanti. Un progresso significativo venne compiuto nel 2004 quando un gruppo di cellule progenitrici retiniche trapiantate venne fatto sviluppare in una varietà di neuroni retinici maturi, tra cui le cellule gangliari retiniche e i fotorecettori [4]. Da allora numerosi studi hanno conseguito diversi livelli di successo nell'impiegare un

assortimento di diversi tipi di cellule che vanno dai precursori dei fotorecettori con potenzialità limitata [5] fino alle cellule staminali embrionali pluripotenti (ES) [6,7,8,9]. Le cellule ES sono particolarmente interessanti a causa della loro capacità di avere un'espansione illimitata e una conseguente differenziazione nei tessuti specifici. Queste proprietà inerenti possono consentire di generare un numero sufficientemente ampio di cellule in modo da eseguire il trapianto clinico da singoli donatori invece di richiedere nuove donazioni multiple, poiché tale problema potenzialmente si presenta quando si impiegano più tipi cellulari definitivamente differenziati. Tuttavia, come avviene per i precursori dei fotorecettori e i progenitori retinici, isolare le cellule solleva problemi di compatibilità col donatore e problemi etici (ad esempio le versioni umane delle cellule sopra menzionate vengono isolate durante lo sviluppo embrionale). Dunque sarebbe preferibile la generazione/selezione di un tipo cellulare più adatto alle applicazioni cliniche.

Un tipo cellulare che ovvia a tali problemi è stato generato recentemente: è la cellula staminale pluripotente indotta (iPSC). Inizialmente prodotte da Takahashi e Yamanaka (2006), le cellule iPSC sono state generate mediante la riprogrammazione genetica dei fibroblasti dermici fino alla pluripotenza mediante i quattro fattori di trascrizione Oct4, Sox2, KLF4 e c-Myc, usando la trasduzione retrovirale [10]. Sebbene i protocolli pubblicati originariamente rimangano i mezzi più efficaci ed efficienti per indurre la pluripotenza nei fibroblasti dermici dell'adulto, sono stati sviluppati una serie di nuovi protocolli con variazioni del tipo cellulare, dei mezzi vettore e dei fattori di riprogrammazione [11-19]. Tali variazioni

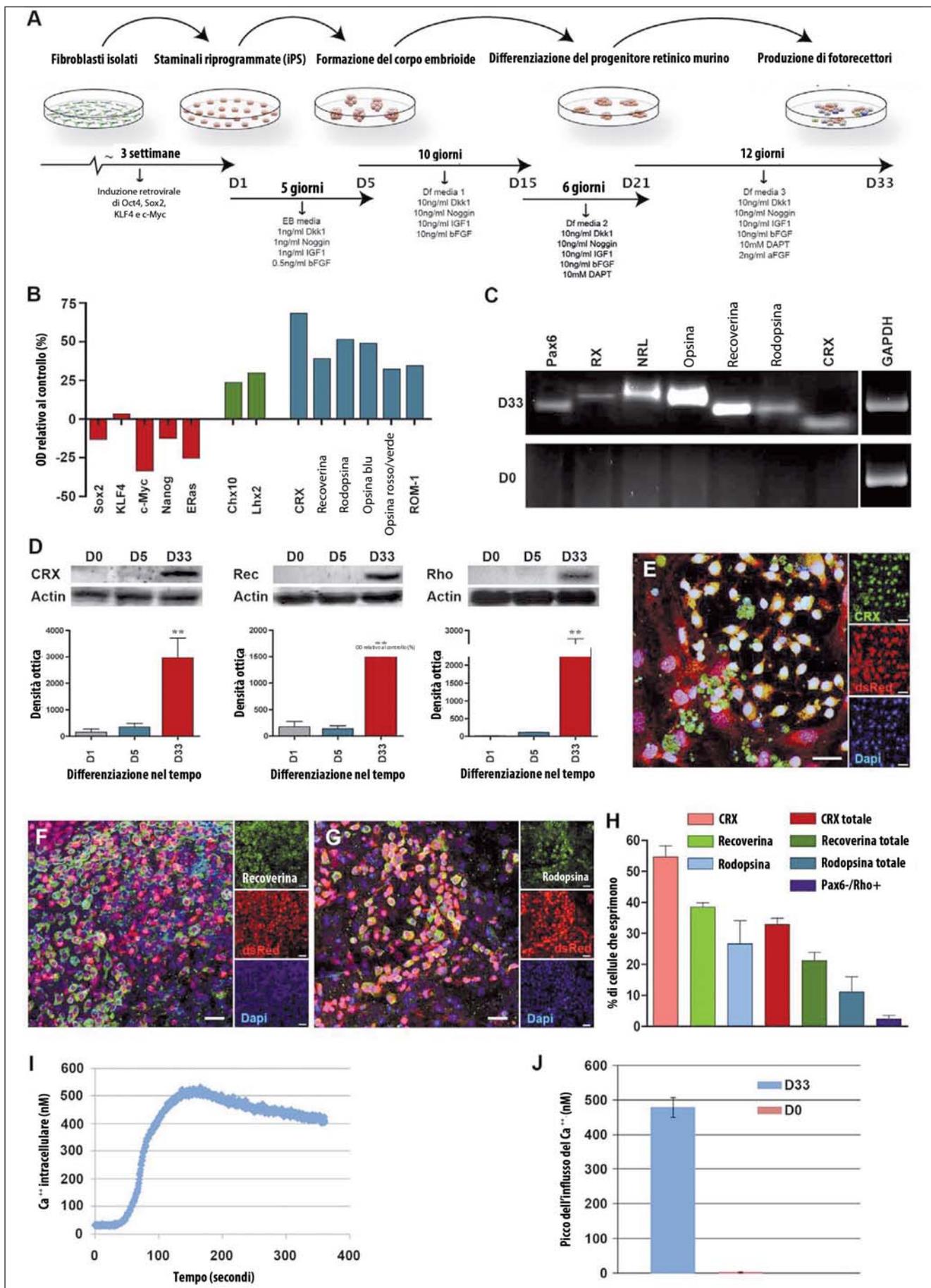


Figura 2. Differenziazione delle cellule dsRed-iPS in fotorecettori retinici usando colture specifiche

sono finalizzate a ridurre l'esigenza di innestare mediante virus c-Mys e KLF4, fattori potenzialmente cancerogeni. Nel fare questo è divenuto evidente che la riprogrammazione è esponenzialmente più efficiente, richiedendo meno manipolazione genetica, quando vengono impiegate cellule isolate da tessuti immaturi a livello di sviluppo. Ad esempio, a differenza dei fibroblasti isolati nella pelle degli adulti i fibroblasti embrionali sono stati riprogrammati con successo impiegando solo i fattori di trascrizione OCT4 e Sox2 [20]. Tuttavia, poiché le malattie retinico-degenerative sono in ampia parte patologie dell'età adulta, per essere clinicamente rilevante sarà richiesta la derivazione di iPSCs, specifiche per il paziente, da un tessuto adulto accessibile.

Come è stato dimostrato utilizzando i tipi cellulari sopra menzionati, è stata ottenuta la produzione di cellule retiniche derivate dalle iPSC, che esprimono una varietà di proteine retiniche, incluse quelle specifiche per i fotorecettori [21,22]. Inoltre è stato recentemente dimostrato che i neuroni retinici ottenuti dalle iPSC umane si possono innestare nella retina inserendoli nello spazio subretinico [23]. Tuttavia allo stato attuale devono ancora essere indagate la sicurezza e la potenzialità dell'integrazione funzionale in seguito a trapianto oculare. In questo studio le iPSC sono state generate partendo da fibroblasti dermici di topo dsRed, differenziate fino a ottenere precursori retinici dei fotorecettori, trapiantati in riceventi colpiti da degenerazione retinica. Sono stati osservati il ripopolamento dei coni e dei bastoncelli (cellule fotorecetrici), la formazione delle sinapsi e l'integrazione cellulare associati al ripristino dei correlati elettrofisiologici e anatomici della funzionalità retinica. Queste scoperte rappresentano una prova di

principio delle applicazioni delle iPSC autologhe per un trattamento sicuro ed efficace delle malattie retiniche degenerative.

## **Risultati e discussione**

[...]

Per determinare se i fotorecettori derivati dalle cellule iPS si integrassero nel circuito retinico del ricevente, è stata effettuata un'analisi immunocitochimica dell'espressione dei marker sinaptici. Sono stati osservati una pronunciata co-localizzazione del marker sinaptico sinaptofisina e del marker cellulare dsRed del donatore (frecche nella fig. 3J), particolarmente a livello dello strato plessiforme esterno. Analogamente sono state identificate una co-localizzazione della sinapsina e del dsRed (frecche nella fig. S8A). [...]. Questi risultati chiariscono che le cellule impiantate formano nuove sinapsi con la retina ricevente, spingendoci a investigare la possibilità di un recupero funzionale negli animali riceventi.

Per determinare se i fotorecettori integrati [nella retina] e derivati dalle cellule iPS consentano di recuperare la funzionalità retinica, è stata condotta l'analisi elettroretinografica (ERG) sugli occhi animali rho-/-, trapiantati o non trapiantati, dopo 28 giorni dall'operazione (al momento dell'analisi gli animali avevano 8-10 settimane). Per assicurarsi che i cambiamenti della funzionalità visiva dopo il trapianto fossero dovuti alla presenza di nuovi fotorecettori derivanti dall'innesto e non fossero correlati ai coni residui del ricevente, gli animali riceventi affetti da degenerazione retinica sono stati analizzati prima dell'iniezione e sono stati scelti in base all'assenza di un'ampiezza rilevabile di onde B. Come mostrato nella figura 4, un aumento statisticamente significativo di circa 95  $\mu$ V nell'ampiezza delle onde B è stato

osservato 21 giorni dopo il trapianto subretinico in confronto all'occhio controlaterale in cui non era stata praticata l'iniezione (A, B). Scoperte analoghe sono state fatte per i precursori dei fotorecettori derivati da cellule ES nei topi CRX-/-, in cui, dopo il trapianto, è stato osservato un incremento approssimativo di 40-50  $\mu$ V nell'ampiezza di onde B [6]. [...]. Per dimostrare ulteriormente la relazione tra l'integrazione cellulare e il recupero della funzionalità retinica è stata effettuata un'analisi della regressione lineare. Come illustrato nella Figura 4, è stata identificata una correlazione positiva significativa tra l'ampiezza del picco dell'onda B e l'integrazione del fotorecettore nel ricevente positivo al dsRed (Fig. 3C [...]). Queste scoperte suggeriscono che, quanto più le cellule sono integrate nell'architettura retinica distrofica, tanto maggiore è l'incremento riscontrato nel recupero della funzionalità elettroretinica. Nonostante questi dati suggeriscano che le cellule trapiantate iPSC-RPC si integrino funzionalmente nell'architettura retinica del ricevente (ad esempio un ERG rilevabile è stato riscontrato dopo il trapianto in topi di 8-10 settimane), non possiamo escludere la possibilità che l'aumento della risposta dell'ERG sia attribuibile parzialmente al ripristino, indotto dal trapianto, della vitalità dei coni residui del ricevente.

Per verificare ulteriormente la funzionalità retinica confrontando gli occhi trapiantati con quelli non trapiantati, è stata condotta una verifica anatomica funzionale focalizzata sull'attivazione dei neuroni nello strato retinico nucleare interno (INL). Poiché è noto che l'esposizione alla luce e la conseguente attivazione/fototrasduzione dei fotorecettori induce l'espressione nucleare c-Fos negli interneuroni dell'INL [35] si è fatto ricorso all'analisi

immunocitochimica specifica per l'espressione di questo marcatore. Si è scoperto che gli occhi che avevano ricevuto i precursori dei fotorecettori derivati dalle iPSC avevano un incremento significativo dell'espressione del c-Fos indotta dall'INL (Fig. 4F), come da confronto con gli occhi controlaterali non trapiantati (controlli) che non esprimono la rodopsina funzionalmente e, viceversa, sono privi di significativa fototrasduzione indotta dalla luce (Fig. 4D&E). Per la maggior parte le cellule che esprimono il c-Fos sono state localizzate in prossimità delle nuove cellule dsRd-iPSC innestate e derivate dai processi fotorecettoriali (frecche nella Fig. 4E).

Nel complesso questi dati suggeriscono che le cellule iPS derivate dai fibroblasti del derma di adulto rappresentano una fonte utile di neuroni retinici di ricambio, in particolare di fotorecettori, e che questo metodo di trattamento è in grado di fornire almeno un parziale ripristino della funzionalità retinica. È il caso di notare che un approccio simile nelle distrofie genetiche come la retinite pigmentosa richiederà o la correzione dei geni, così com'è utilizzata in un modello animale di anemia falciforme [36], oppure con l'innesto del normale tessuto allogenico, poiché le cellule specifiche per il paziente esprimono lo stesso difetto genetico che si trova nei fotorecettori del ricevente. Inoltre, se dovranno essere adottate per questa malattia strategie rigenerative basate su trapianto, occorreranno ulteriori indagini con ampi modelli animali di patologie somiglianti alla degenerazione maculare legata all'età.

Questi dati dimostrano, inoltre, l'utilità potenziale della rimozione attiva delle cellule pluripotenti residue anteriormente al trapianto. Poiché le cellule staminali embrionali non sono soggette a manipolazione con i vettori virali, non sembrano

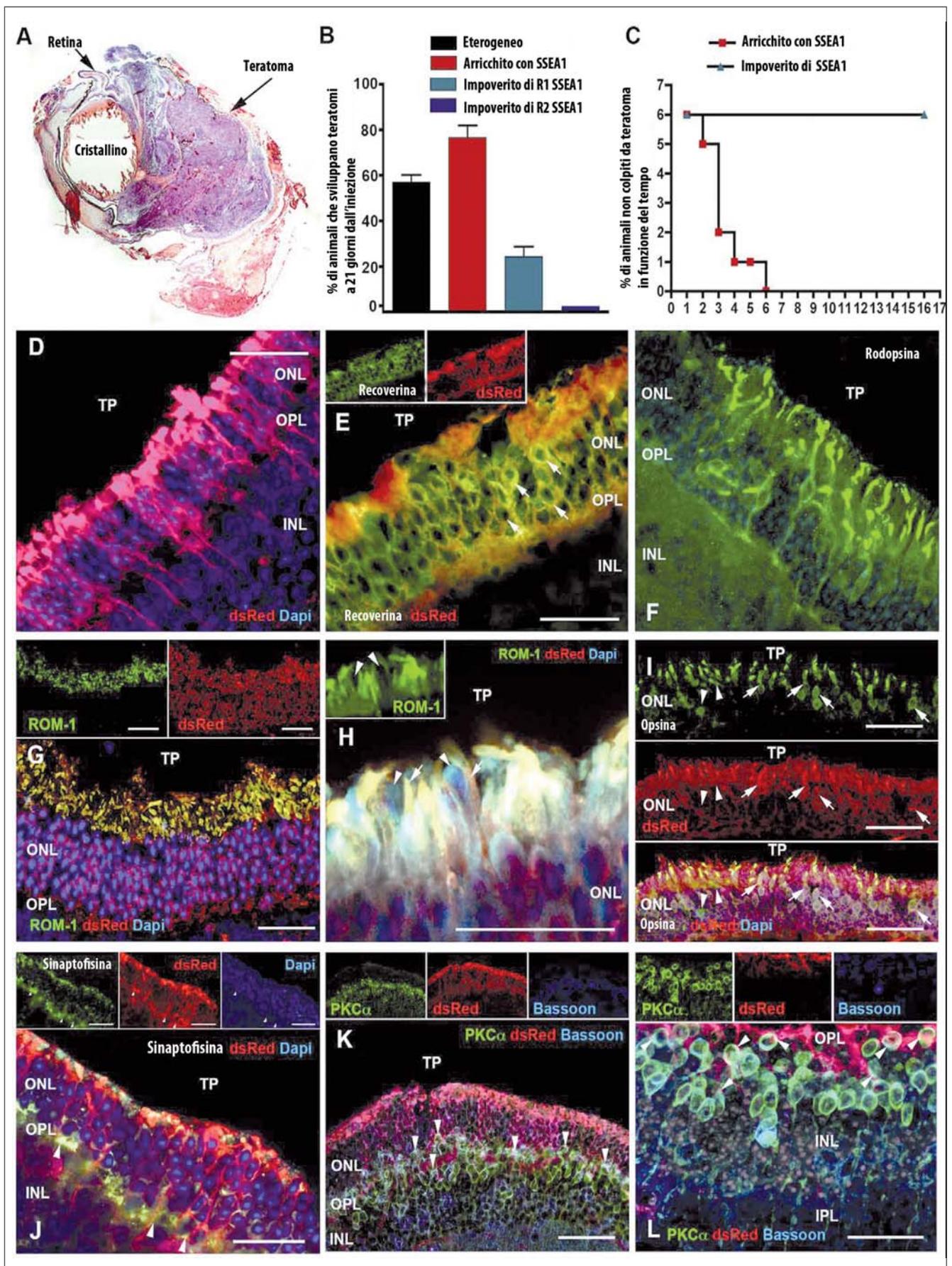
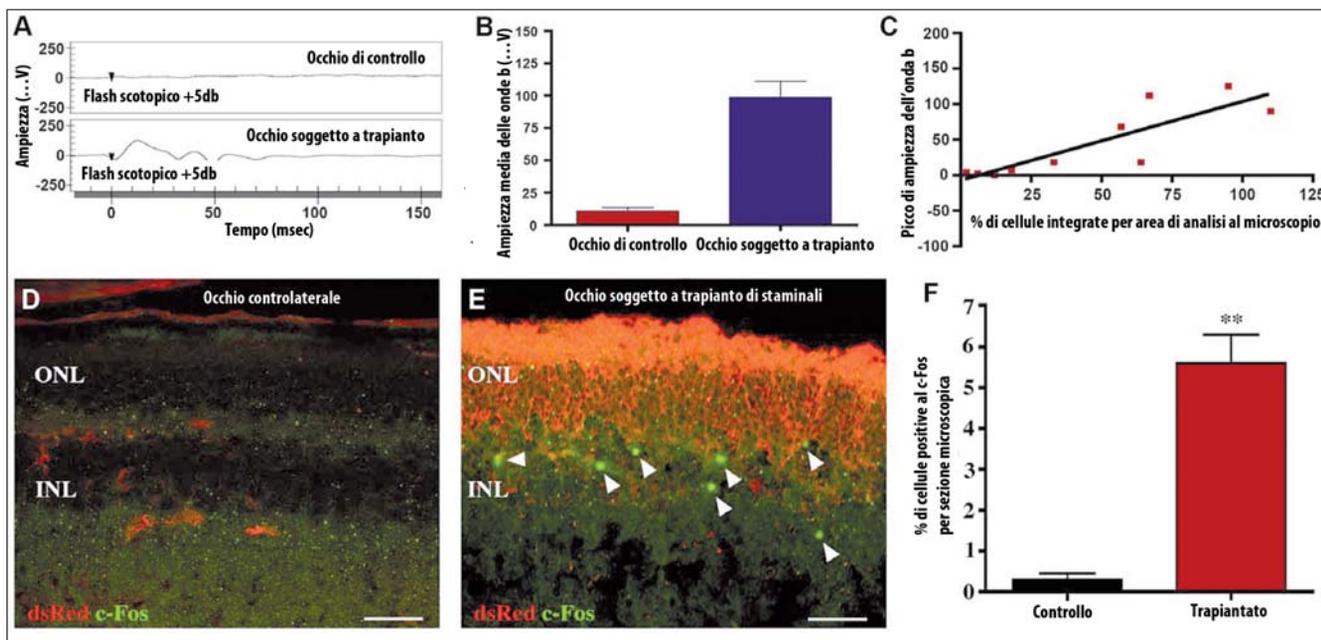


Figura 3. Trapianto di precursori dei fotorecettori derivati da cellule SSEA1-dsRed-iPS, che inducono una ripopolazione degli strati nucleari esterni della retina



**Figura 4. Il trapianto di precursori dei fotorecettori derivati da cellule SSEA1-dsRed-iPS ha indotto un incremento della funzionalità elettroretinica**

possedere la stessa propensione alla formazione dei tumori successivamente al trapianto [6,27,28]: sarebbero vantaggiosi mezzi alternativi di riprogrammazione delle cellule dermiche dell'adulto che non utilizzino virus che si incorporano nel genoma. È ragionevole attendersi una conferma del fatto che la sovraespressione prolungata dei transgeni impiegati per indurre la pluripotenza possa interferire con la differenziazione terminale e con i dati presentati nella Figura 2B, dimostrando il mantenimento dell'espressione del gene *Klf4* in colture eterogenee non selezionate in seguito a differenziazione. La rimozione efficiente di cellule indifferenziate che esprimono l'SSEA1 mitiga il rischio della formazione di teratomi, consentendo perciò un migliore risultato sperimentale, compresa una sostituzione ortotopica di fotorecettori e il ripristino parziale della funzionalità elettroretinica. [...].

*(Traduzione di G. Galante.  
Revisione scientifica di C. M. Villani)*

## Bibliografia

1. Mitchell J, Bradley C (2006) Quality of life in age-related macular de-

- generation: a review of the literature. *Health Qual Life Outcomes* 4: 97.
2. Chopdar A, Chakravarthy U, Verma D (2003) Age related macular degeneration. *Bmj* 326: 485-488.
3. Earnshaw SR, Moride Y, Rochon S (2007) Cost-effectiveness of pegaptanib compared to photodynamic therapy with verteporfin and to standard care in the treatment of subfoveal wet age-related macular degeneration in Canada. *Clin Ther* 29: 2096-2106.
4. Klassen HJ, Ng TF, Kurimoto Y, Kirov I, Shatos M, et al. (2004) Multipotent retinal progenitors express developmental markers, differentiate into retinal neurons, and preserve light-mediated behavior. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45: 4167-4173.
5. MacLaren RE, Pearson RA, MacNeil A, Douglas RH, Salt TE, et al. (2006) Retinal repair by transplantation of photoreceptor precursors. *Nature* 444: 203-207.
6. Lamba DA, Gust J, Reh TA (2009) Transplantation of human embryonic stem cell-derived photoreceptors restores some visual function in *Crx*-deficient mice. *Cell Stem Cell* 4: 73-79.
7. Lamba DA, Karl MO, Ware CB, Reh TA (2006) Efficient generation of retinal progenitor cells from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 12769-12774.
8. Ikeda H, Osakada E, Watanabe K, Mizuseki K, Haraguchi T, et al. (2005) Generation of *Rx+/Pax6+* neural retinal precursors from embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102: 11331-11336.
9. Osakada E, Ikeda H, Mandai M, Wataya T, Watanabe K, et al. (2008) Toward the generation of rod and cone photoreceptors from mouse, monkey and human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 26: 215-224.

10. Takahashi K, Yamanaka S (2006) Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126: 663–676.
11. Carey BW, Markoulaki S, Hanna J, Saha K, Gao Q, et al. (2009) Reprogramming of murine and human somatic cells using a single polycistronic vector. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106: 157–162.
12. Gonzalez F, Barragan Monasterio M, Tiscornia G, Montserrat Pulido N, Vassena R, et al. (2009) Generation of mouse-induced pluripotent stem cells by transient expression of a single nonviral polycistronic vector. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106: 8918–8922.
13. Kim JB, Greber B, Arauzo-Bravo MJ, Meyer J, Park KI, et al. (2009) Direct reprogramming of human neural stem cells by OCT4. *Nature*.
14. Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, Takahashi K, Ichisaka T, et al. (2008) Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts. *Nat Biotechnol* 26: 101–106.
15. Okita K, Nakagawa M, Hyenjong H, Ichisaka T, Yamanaka S (2008) Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. *Science* 322: 949–953.
16. Shao L, Feng W, Sun Y, Bai H, Liu J, et al. (2009) Generation of iPS cells using defined factors linked via the self-cleaving 2A sequences in a single open reading frame. *Cell Res* 19: 296–306.
17. Sommer CA, Stadtfeld M, Murphy GJ, Hochedlinger K, Kotton DN, et al. (2009) Induced pluripotent stem cell generation using a single lentiviral stem cell cassette. *Stem Cells* 27: 543–549.
18. Welstead GG, Brambrink T, Jaenisch R (2008) Generating iPS cells from MEFS through forced expression of Sox-2, Oct-4, c-Myc, and Klf4. *J Vis Exp*.
19. Park IH, Lerou PH, Zhao R, Huo H, Daley GQ (2008) Generation of human-induced pluripotent stem cells. *Nat Protoc* 3: 1180–1186.
20. Huangfu D, Osafune K, Maehr R, Guo W, Eijkelenboom A, et al. (2008) Induction of pluripotent stem cells from primary human fibroblasts with only Oct4 and Sox2. *Nat Biotechnol* 26: 1269–1275.
21. Meyer JS, Shearer RL, Capowski EE, Wright LS, Wallace KA, et al. (2009) Modeling early retinal development with human embryonic and induced pluripotent stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*.
22. Osakada E, Jin ZB, Hirami Y, Ikeda H, Danjyo T, et al. (2009) In vitro differentiation of retinal cells from human pluripotent stem cells by small-molecule induction. *J Cell Sci* 122: 3169–3179.
23. Lamba DA, McUsic A, Hirata RK, Wang PR, Russell D, et al. (2010) Generation, purification and transplantation of photoreceptors derived from human induced pluripotent stem cells. *PLoS One* 5: e8763.
24. Reh TA, Lamba D, Gust J (2010) Directing human embryonic stem cells to a retinal fate. *Methods in molecular biology* 636: 139–153.
25. Tucker BA, RS, Park I-H, Daley GQ, Young MJ (2009) Generation of retinal precursors from murine iPS cells. *Association for Research in Vision and Ophthalmology*.
26. Mukhopadhyay M, Shtrom S, Rodriguez-Esteban C, Chen L, Tsukui T, et al. (2001) Dickkopf1 is required for embryonic head induction and limb morphogenesis in the mouse. *Dev Cell* 1: 423–434.
27. Anderson RM, Lawrence AR, Stottmann RW, Bachiller D, Klingensmith J (2002) Chordin and noggin promote organizing centers of fore-brain development in the mouse. *Development* 129: 4975–4987.
28. Lamb TM, Knecht AK, Smith WC, Stachel SE, Economides AN, et al. (1993) Neural induction by the secreted polypeptide noggin. *Science* 262: 713–718.
29. Pera EM, Wessely O, Li SY, De Robertis EM (2001) Neural and head induction by insulin-like growth factor signals. *Dev Cell* 1: 655–665.
30. Jadhav AP, Mason HA, Cepko CL (2006) Notch 1 inhibits photoreceptor production in the developing mammalian retina. *Development* 133: 913–923.
31. Sun W, Seigel GM, Salvi RJ (2002) Retinal precursor cells express functional ionotropic glutamate and GABA receptors. *Neuroreport* 13: 2421–2424.
32. Tomita M, Lavik E, Klassen H, Zahir T, Langer R, et al. (2005) Biodegradable polymer composite grafts promote the survival and differentiation of retinal progenitor cells. *Stem Cells* 23: 1579–1588.
33. Humphries MM, Rancourt D, Farrar GJ, Kenna P, Hazel M, et al. (1997) Retinopathy induced in mice by targeted disruption of the rhodopsin gene. *Nat Genet* 15: 216–219.
34. Lee ES, Burnside B, Flannery JG (2006) Characterization of peripherin/rds and rom-1 transport in rod photoreceptors of transgenic and knockout animals. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 47: 2150–2160.
35. Huerta JJ, Llamosas MM, Cernuda-Cernuda R, Garcia-Fernandez JM (1997) Fos expression in the retina of rd/rd mice during the light/dark cycle. *Neurosci Lett* 232: 143–146.
36. Hanna J, Wernig M, Markoulaki S, Sun CW, Meissner A, et al. (2007) Treatment of sickle cell anemia mouse model with iPS cells generated from autologous skin. *Science* 318: 1920–1923.
37. Schraermeyer U, Thumann G, Luther T, Kociok N, Armhold S, et al. (2001) Subretinally transplanted embryonic stem cells rescue photoreceptor cells from degeneration in the RCS rats. *Cell Transplant* 10: 673–680.
38. Vugler A, Carr AJ, Lawrence J, Chen LL, Burrell K, et al. (2008) Elucidating the phenomenon of HESC-derived RPE: anatomy of cell genesis, expansion and retinal transplantation. *Exp Neurol* 214: 347–361.
39. Jiang C, Klassen H, Zhang X, Young M (2010) Laser injury promotes migration and integration of retinal progenitor cells into host retina. *Molecular vision* 16: 983–990.