



Sede di Pisa

Relazione scientifica nell'ambito di finanziamento short term mobility

Biologia delle degenerazioni retiniche ereditarie: implicazioni terapeutiche di indagini innovative basate sullo studio di singoli neuroni.

Enrica Strettoi

Il mio laboratorio è interessato a comprendere le alterazioni patologiche della retina in una famiglia di malattie ereditarie che causano cecità, collettivamente note con il nome di Retinite Pigmentosa (RP). Si tratta di patologie nelle quali una mutazione genica, tipicamente in un gene espresso dai bastoncelli, ne causa la progressiva degenerazione. Alla morte dei bastoncelli segue quella dei coni, causando quindi la perdita di gran parte della visione utile. In questo studio abbiamo esaminato la morfologia e la sopravvivenza di alcuni tipi cellulari nella retina del topo mutante rd1, un modello molto conosciuto di RP a trasmissione autosomica recessiva. Durante esperimenti di trasfezione virale, abbiamo scoperto che virus adeno-associati esprimenti il gene per la proteina fluorescente GFP, iniettati nello spazio subretinico del mutante rd1, trasducono efficacemente solo alcuni tipi cellulari, in particolare i coni. Questa scoperta è di per sé importante in quanto queste sono le cellule che, nella RP tipica sopravvivono per più tempo ai bastoncelli e garantiscono una visione residua ai pazienti, pur degenerando successivamente. E' quindi probabile che un vettore virale che selezioni proprio queste cellule risulti utile per veicolare ai coni geni o proteine di interesse, quali fattori di sopravvivenza o inibitori per la degenerazione. Nel nostro caso, la selettiva trasduzione dei coni con un gene che li ha resi intrinsecamente fluorescenti ci ha permesso di seguirne a livello di singolo cono le fasi di attivo cambiamento che si accompagnano alla morte massiccia dei bastoncelli. Queste cosiddette fasi di rimodellamento, tuttora largamente sconosciute, sono importanti sia per gli aspetti cinetici che biologici, perché possono aiutare a mettere a punto possibili strategie di salvataggio dei coni stessi. Per prima cosa, abbiamo scoperto che, contrariamente a quanto ritenuto in precedenza basandosi su metodi di



Sede di Pisa

colorazione di massa, i coni sopravvivono più a lungo del previsto. Questo dato prolunga di fatto la possibile finestra temporale di intervento terapeutico. Alcuni coni persistono nella retina anche a 9 mesi di età, ben oltre la scomparsa degli ultimi bastoncelli, che avviene alla fine del primo mese di vita. I coni vanno incontro a una fase regressiva immediatamente seguente la degenerazione dei bastoncelli. In particolare, il segmento esterno, ovvero la porzione fotosensibile della cellula, si accorcia fino a scomparire. Sebbene i coni così rimodellati conservino solo le vestigia della forma originale, continuano ad esprimere tutti i markers caratteristici dei coni differenziati e mantengono inalterata una polarità apico-basale. E' possibile che i coni residui si muovano lateralmente nella porzione esterna della retina, perché tendono a formare dei veri e propri clusters. In una fase successiva, la porzione sinaptica dei coni appare ricrescere e allungarsi attivamente, accentuandone la caratteristica morfologia bipolare. I terminali sinaptici di nuova formazione, talvolta presenti anche in numero multiplo, esprimono proteine caratteristiche delle sinapsi dei fotorecettori, tra cui bassoon e kinesin2. I coni esprimono inoltre recoverina, connessina 36 e RIBEYE. Mancano invece dei markers tipici di altri tipi cellulari retinici, quali cellule bipolari, orizzontali e amacrine. E' molto interessante notare che i coni che esprimono l'opsina sensibile alle più corte lunghezze d'onda (i cosiddetti coni blu) appaiono più resistenti degli altri alla degenerazione. I coni con morfologia alterata sopravvivono per molti mesi, ben più a lungo di quanto si fosse creduto fino a questo momento. Un elemento di notevole interesse è costituito dal fatto che coni evidenziati in sezioni di retina umana provenienti da soggetti affetti da Retinite Pigmentosa e da noi studiati nello stesso periodo appaiono condividere una morfologia in tutto simile a quella descritta per il mutante murino, a dimostrazione di una convergenza fenotipica evidentemente propria della patologia RP. Pertanto, si può concludere che durante la fase di degenerazione dei bastoncelli, che dominano il micro



Consiglio Nazionale delle Ricerche

ISTITUTO DI NEUROSCIENZE

Pisa Milano Padova Roma Cagliari

Sede di Pisa

ambiente della retina esterna, i coni assumono una condizione semistabile nella quale mantengono i caratteri fenotipici salienti. I coni appaiono sorprendentemente plastici e capaci di ricostruire nuovi terminali sinaptici, indicativi del tentativo di stabilire nuove connessioni. La fase plastica di rimodellamento sembra essere comune a mammiferi diversi, e suggerisce una maggiore resistenza alla degenerazione dei fotorecettori filogeneticamente più antichi, i coni blu. La finestra terapeutica per la protezione e il salvataggio dei coni è più lunga di quanto ci si attendesse in base a studi precedenti. Il risultato ottenuto è quindi rilevante per la terapia della Retinite Pigmentosa.

Dott. Enrica Strettoi
Primo Ricercatore
Istituto di Neuroscienze del CNR
Pisa

Tel. 050 3153213, 050 315 3157, 0503153209, cell. 348 3972205

Fax 050 315 3210
enrica.strettoi@in.cnr.it