



Fattori di crescita, impianto di lipociti subsclerali e patologie atrofiche della retina

□ Paolo Limoli □ Renzo Carpi¹ □ Filippo Tassi¹ □ Sergio Z. Scalinci³ □ Enzo M. Vingolo²
□ Laura D'Amato¹ □ Enrico Giacomotti¹ □ Serena Salvatore² □ Giulia Corradetti³

1 Low Vision Research Centre – Milano

2 Università La Sapienza, Roma

3 Università di Bologna

RIASSUNTO

L'obiettivo di questo studio è valutare l'influenza dei fattori di crescita, veicolati dall'inserimento di un peduncolo adiposo tra la sclera e la coroide, sulle performance visive rispetto ad un gruppo controllo. Il peduncolo adiposo viene inserito con un intervento in anestesia topica denominato "Impianto di lipociti subsclerale".

ABSTRACT

The objective of this study is to evaluate the influence of growth factors, conveyed by the insertion of a pedicle between sclera and choroid, on the retinal condition. We considered retrospectively 48 patients suffering from atrophic pathologies of the retinal cells. These patients were divided in two groups according to the acceptance of therapeutic proposal: Group A (20 eyes) performed the adipocytes subscleral implant (ILS) and Group B (56 eyes) did not performed.

For each eye was evaluated BCVA, residual visual acuity for near, sensitivity to Nidek microperimetry (MP1). The measurements were recorded at T0, T30, T90, T360 and T720.

Two years after surgery the parameters improved: the BCVA of 38%, near visual acuity of 30%, and retinal sensitivity analyzed with MP1 of 41%.

The secretion of growth factors in choroidal space has proven capable of slowing the retinal apoptosis and the visual performances increased as consequence of the better retinal tropism.

PAROLE CHIAVE

apoptosi
atrofia della retina
adipociti
fattori di crescita
microperimetria

KEY WORDS

apoptosis
retinal atrophy
adipocytes
growth factors
microperimetry

>> Introduzione

La retina è una struttura complessa, programmata e guidata da espressioni multigeniche.

Nell'ampio capitolo delle degenerazioni retiniche eredo-familiari, le alterazioni poligeniche non univoche e costanti nelle diverse genealogie si esprimono in quadri clinici caratterizzati da sostanziali comunanze di segni e sintomi. Prospettive di risoluzione causale derivano dalla sostituzione o neutralizzazione dei geni alterati, anche se oggi si tratta di problematiche complesse di non attuale applicazione clinica.

Alternativa alla sostituzione dei geni è la modulazione del fenotipo cellulare attraverso i fattori di crescita. Esistono evidenze che, in molteplici patologie genetiche la turba metabolica causa morte cellulare per apoptosi. Basti considerare la degenerazione tapeto-retinica e le degenerazioni maculari atrofiche in cui la perdita dei fotorecettori si ha proprio per apoptosi.

La via dell'apoptosi può essere evitata o comun-

que procrastinata, attivando il gene Bcl2. I fattori di crescita hanno, fra le altre molteplici peculiarità, la capacità di attivare l'espressione del gene Bcl2 indipendentemente dalla causa innescante. Questi penetrano nelle cellule attraverso specifici recettori il cui numero varia in rapporto alle condizioni metabolico-funzionali cellulari. Tale modalità di trattamento ha quindi il vantaggio di risultare efficace indipendentemente dalla mutazione genica in causa. Le iniezioni intravitreali di fattori di crescita (BDNF, CNTF, bFGF) proteggono la retina dall'ischemia indotta da ipertono, da fototraumatismo, ritardano la degenerazione fotorecettoriale nei topi r-d e nei topi mutanti 0344 transgenici per la rodopsina. Purtroppo l'effetto dei fattori di crescita esogeni ha durata relativamente breve (circa 30 giorni) e l'esecuzione di iniezioni intravitreali espone a rischi flogistici ed emorragici.

Considerando che i fattori di crescita sono secreti dalle cellule quando il tessuto è esposto ad

insulti ischemici-flogistici, o comunque quando subentrino danni cellulari, si è proposta nelle retiniti pigmentose, la fotocoagulazione delle aree periferiche. In effetti, al fototraumatismo conseguente, da parte del tessuto residuo, il rilascio di fattori di crescita ed in particolare di bFGF, con effetti positivi sulla retina circostante. Si tratta, tuttavia di una procedura non ripetibile ed i cui effetti si esauriscono nel tempo. Strategia alternativa è l'impianto, a livello corioretinico, di lipociti peduncolati, secondo la tecnica messa a punto nel 1993 da Pelaez ed applicata su una casistica di 1600 pazienti.

L'Autore ha riferito una stabilizzazione dell'evoluzione in oltre il 60% dei casi, miglioramenti in oltre il 20%, per monitoraggi parziali di cinque anni. Il razionale dell'intervento deriva dalla particolare attitudine dei lipociti orbitari che, quando immersi in ambiente eterotopico, producono quantità elevate di fattori di crescita ed in particolare bFGF. Essendo un peduncolo con apporto nutrizionale autonomo, tali cellule si mantengono vitali, diversamente da quanto si verifica in caso di impianto cellulare libero. Inoltre, l'incompleta chiusura dello sportello sclerale, che si cicatrizza su due dei tre lati praticati, restando pervio l'ingresso del peduncolo adiposo, favorisce l'increzione continua di VeGF.

>> Materiali e Metodi

Abbiamo preso in considerazione in maniera retrospettiva 48 pazienti (79 occhi) affetti da pa-

tologie atrofiche delle cellule retiniche (eredodistrofie, degenerazioni maculari legate all'età, otticopatie).

Tutti i pazienti sono stati seguiti per due anni, nei quali hanno assunto periodicamente integratori con caratteristiche antiapoptotiche e sono stati sottoposti a due cicli annui di 5 sedute di fotostimolazione neurale a scopo riabilitativo.

Tali pazienti sono stati suddivisi in due gruppi in base all'accettazione della proposta terapeutica: il Gruppo A (20 occhi) ha effettuato l'intervento di Impianto di lipociti subsclerali e il Gruppo B (56 occhi) di controllo non l'ha effettuato.

Per ogni occhio è stato valutato BCVA e Pts residui, sensibilità alla microperimetria Nidek MP1. Le misurazioni sono state rilevate per il gruppo A al momento T0, T30, T90, T360 e T720, per il gruppo B al momento T0, T180, T360 e T720; e l'obiettivo è stato quello di valutare il differente comportamento dei parametri osservati nei due gruppi.

>> Tecnica chirurgica

La tecnica adottata è quella di Palaez, modificata da Meduri prima e perfezionata, in seguito, da Limoli e Carpi, che l'hanno resa meno invasiva.

1. Incisione della congiuntiva per 8 mm sul quadrante temporale inferiore. Si identifica e si apre la capsula di Tenone, quindi si scolla il suo foglietto viscerale rendendo reale lo spazio suprasclerale. Si crea il campo operatorio evitando che questa interessi le inserzioni tendinee dei muscoli retto inferiore e laterale.

tabella 1

	T0	T30	T90	T180	T360	T720	Delta	%
BCVA (ILS)	0,22	0,26	0,31		0,31	0,27	0,05	21,90
BCVA (Check)	0,29			0,27	0,31	0,28	-0,02	-5,74
Residual Pts (ILS)	24,80	23,15	23,60		21,70	24,05	0,75	3,02
Residual Pts (Check)	33,83			29,86	31,45	37,09	-3,26	-9,64
M. Pts. (ILS)	10,80	9,70	10,90		10,23	7,91	2,89	26,77
M. Pts. Check)	11,10			12,69	9,29	10,10	1,00	9,01
X (ILS)	4,46	4,46	4,51		4,59	4,79	0,33	7,45
X (Check)	4,39			3,54	3,85	4,95	0,56	12,76
Db (ILS)	5,83	6,68	8,53		9,27	9,49	3,66	62,81
DB (Check)	4,56			6,60	7,10	6,43	1,87	40,88

2. Sclerotomia. Localizzata l'inserzione del muscolo Obliquo Inferiore, l'emergenza dei vasi vorticosi ed il tessuto adiposo vascolare orbitario sottostante al piccolo obliquo, si realizza uno sportello sclerale tra i muscoli retto esterno ed inferiore, 3 mm posteriormente alla loro inserzione sclerale. La sclerotomia avrà un'e-

stensione di 5x5 mm. La sclera è incisa a tutto spessore, così da evidenziare la colorazione scura della coroide e della lamina fusca. È importante che la superficie esterna coroidale sia libera da tralci sclerali.

3. Peduncolo adiposo. Si isola dal grasso orbitario che emerge di norma al di sotto del ventre del muscolo obliquo inferiore, un peduncolo adiposo vascolarizzato di grandezza tale da permettere una completa copertura della superficie uveale esposta. È importante che la vascolarizzazione del lembo sia ampiamente rappresentata e che il peduncolo stesso sia sufficientemente lungo da non creare trazione.
4. Si sutura il portello sclerale con Vicryl 7/0, avendo cura che i fili di sutura ancorino il lembo fibro-adiposo. Al fine di evitare compressione del peduncolo, è opportuno creare, nel suo punto di ingresso sotto il portello sclerale, un ostio che lo contenga.
5. Si sutura l'incisione congiuntivale.

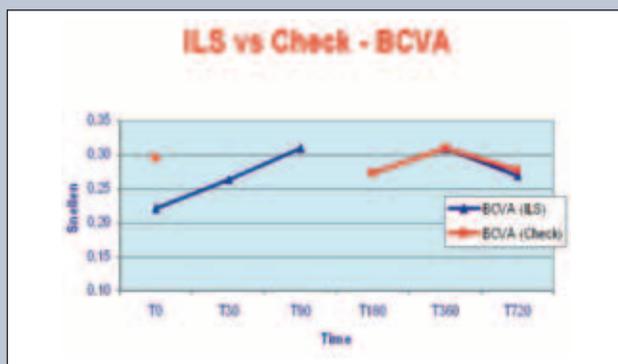


Figura 1 Confronto tra i due Gruppi della BCVA e del suo andamento nel tempo

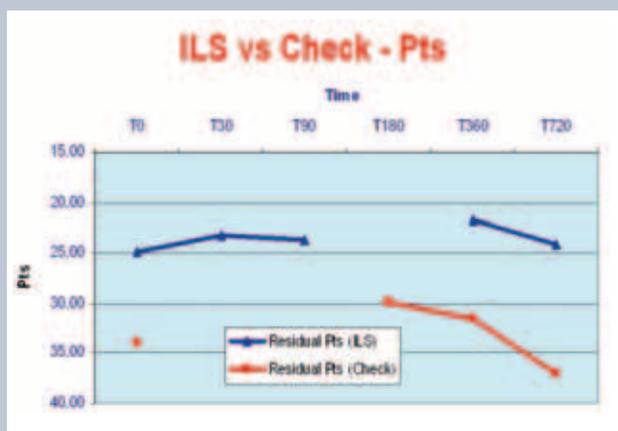


Figura 2 Confronto tra i due Gruppi della capacità visiva per vicino e del suo andamento nel tempo

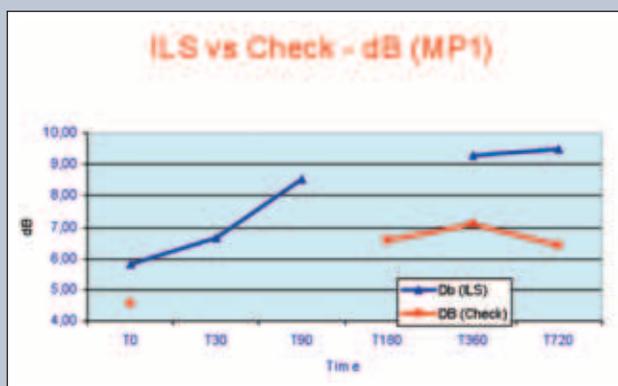


Figura 3 Confronto tra i due Gruppi della sensibilità retinica e del suo andamento nel tempo

>> Risultati

Dalla nostra esperienza la BCVA a due anni ha un miglioramento del 21,90% nei casi trattati, rispetto a una riduzione del 5,74% nei casi controllo (Figura 1).

Il visus residuo per vicino a due anni ha un miglioramento del 3,02% nei casi trattati, rispetto a una riduzione del 9,64% nei casi controllo (Figura 2). La sensibilità analizzata con MP1 a due anni ha un miglioramento del 62,81% nei casi trattati, rispetto a un miglioramento del 40,88% nei casi controllo (Figura 3).

La spiegazione del miglioramento, sia pure contenuto, della sensibilità retinica nei casi controllo è attribuibile alle terapie antiapoptiche e riabilitative associate.

È importante osservare come a due anni i due gruppi seguano evoluzioni differenti caratterizzate da una prognosi più favorevole per il gruppo trattato rispetto al gruppo controllo.

>> Conclusioni

I pazienti sottoposti all'intervento di impianto di lipociti subsclerali presentano una evoluzione più favorevole, nel tempo, rispetto alla storia

naturale delle patologie atrofeche della retina. L'increzione dei fattori di crescita nello spazio coroideale si è dimostrata capace di rallentare

l'apoptosi cellulare retinica e come conseguenza del migliorato trofismo retinico le performance visive tendono a migliorare.

>> Bibliografia

1. Meduri, Scorolli L, Morara M, Scalinci SZ, Greco P, Meduri RA. Effect of basic fibroblast growth factor on the retinal degeneration of B6(A)-Rpe rd12/J (retinitis pigmentosa) mouse: a morphologic and ultrastructure study. 2007 ARVO Annual Meeting, Fort Lauderdale, 6-10 May 2007
2. Laube F, Heister M, Scholz C, Borchardt T, Braun T. Re-programming of newt cardiomyocytes is induced by tissue regeneration. *Journal of Cell Science*, 119 (22), 2006
3. Scalinci SZ, Scorolli L, Meduri A, Morara M, Degli Esposti S, Meduri RA. Evaluation of basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) level in pig eyes that underwent surgical adipocytes implant under the sclera plane. ARVO 2005, May 1-2 2005, Fort Lauderdale, FL.
5. Zigiotti GL, Meduri RA, Scorolli L, Della Valle V, Morara M, Ricci R, Scorolli L, Scalinci SZ, Perrone M. Subscleral adipocytes implantation in retinitis pigmentosa. Arvo Annual Meeting, Fort Lauderdale, Florida. April 29-May 4, 2001.
6. Zigiotti GL, Porsia L, Scorolli L. (1999) Apporto clinico sull'impianto sottosclerale di lipociti nella degenerazione tapeto-retinica. *Ann. Oftalmologia Clin. Ocul.* CXXXV (11/12), 341-356. 1999
7. Gargini C, Belfiore MS, Bisti S, Cervetto L, Valter K, Storie J. The impact of basic fibroblast growth factor on photoreceptor function and morphology. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999 Aug; 40(9): 2088-99.
8. Sakaguchi DS, Janik LM, Reh TA. Basic fibroblast growth factor induced transdifferentiation of retinal pigment epithelium: generation of retinal neurons and glia. *Dev Dyn*. 1997 Aug; 209(4): 387-98.
9. Li ZY, Chang JH, Milam AE. A gradient of rod photoreceptors in the non-human primate retina. *Vis Neurosci* 1997 Jul - Aug; 14(4): 671-9.
10. Pelaez, O. Retinitis pigmentaria. *Experiencia cubana Editorial Científico Técnica*. La Habana, 1997.
11. Sensenbrenner M. The neurotrophic activity of fibroblast growth factors. *Progress in neurobiology* vol 421, pp683-704 (1993)
12. Malecaze F, Mascarelli F, Courtois Y, Mathis A, Hicks D. Recepteurs au facteur de croissance des fibroblastes et retinopathie pigmentaire. *Ophthalmologie* 1992; 6: 170173.
13. Fak-torovich EG, Steinberg RH, Yasumura D, Matthes MT, LaVail NM. Photoreceptor degeneration in inherited retina dystrophy delayed by basic fibroblast growth factor. *Nature*. 1990;47:8-6.
14. Burgess W, Maciag T (1989). The heparin binding (fibroblast) growth factor family. *Ann. Rev. Biochem.* 575-606.
15. Mascarelli F, Raulais D, Courtois Y. Fibroblast growth factor phosphorylation and receptors in rod outer segments. *INBO J.* 8: 2265-2273 (1989).
16. Abraham J, Whang J. Human basic fibroblast growth factor: nucleotide sequence and genomic organisation. *EMBO J* 2523-8 (1986).
17. Barritault D et al. Purification, characterization and biological properties of the everted growth factor from retina: analogies with brain-derived growth factor. *J Neurosci, Res* 477-490 (1982).
18. Steiriberger RH et al. Slowing by survival factors of inherited retinal degenerations in transgenic rats with mutant opsin genes. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 33(8): 5226.
19. Limoli P, Carpi R, Tassi F, Vingolo E, D'Amato L, Giacomotti E, Solari R, Di Corato R. Adipocytes subscleral implant. Growth factors may be considered a new therapy of atrophic retinal pathology? *invest. ophthalmol. vis. sci.* 2011 - Fort Lauderdale.
20. Limoli P, Scalinci S, Tassi F, D'Amato L, Corradetti G. Degenerazione maculare atrofica e fattori di crescita. *Case report. VISCOCHIRURGIA* 2/2011: 40-43.
21. Limoli P, Carpi R, Tassi F, Vingolo E, D'Amato L, Giacomotti E, Solari R, Di Corato R. L'impianto sottosclerale di lipociti può essere considerato un'innovazione terapeutica nelle patologie oculari di tipo atrofico? *EUVISION* 2/2011: 28-32.