



ALTERAZIONE DELLA NEUROGLIA RETINICA IN MODELLI SPERIMENTALI DI DIABETE

Marika Villa, Andrea Matteucci - Istituto Superiore di Sanità

CONGRESSO
AMD-SID Lazio 2016

Roma - 23-24 settembre 2016

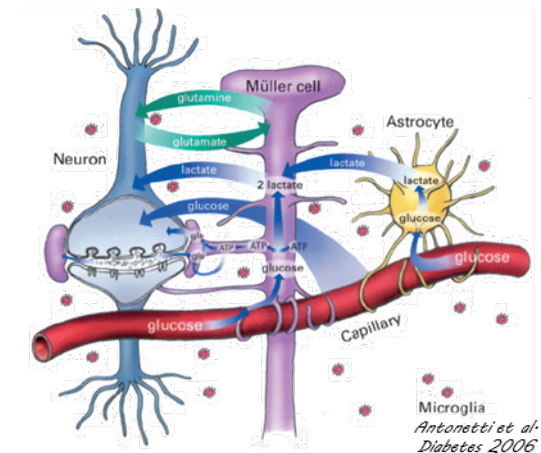
Background

d

La Retinopatia Diabetica (RD) è caratterizzata da alterazioni strutturali e funzionali della componente vascolare e neurogliale retinica.

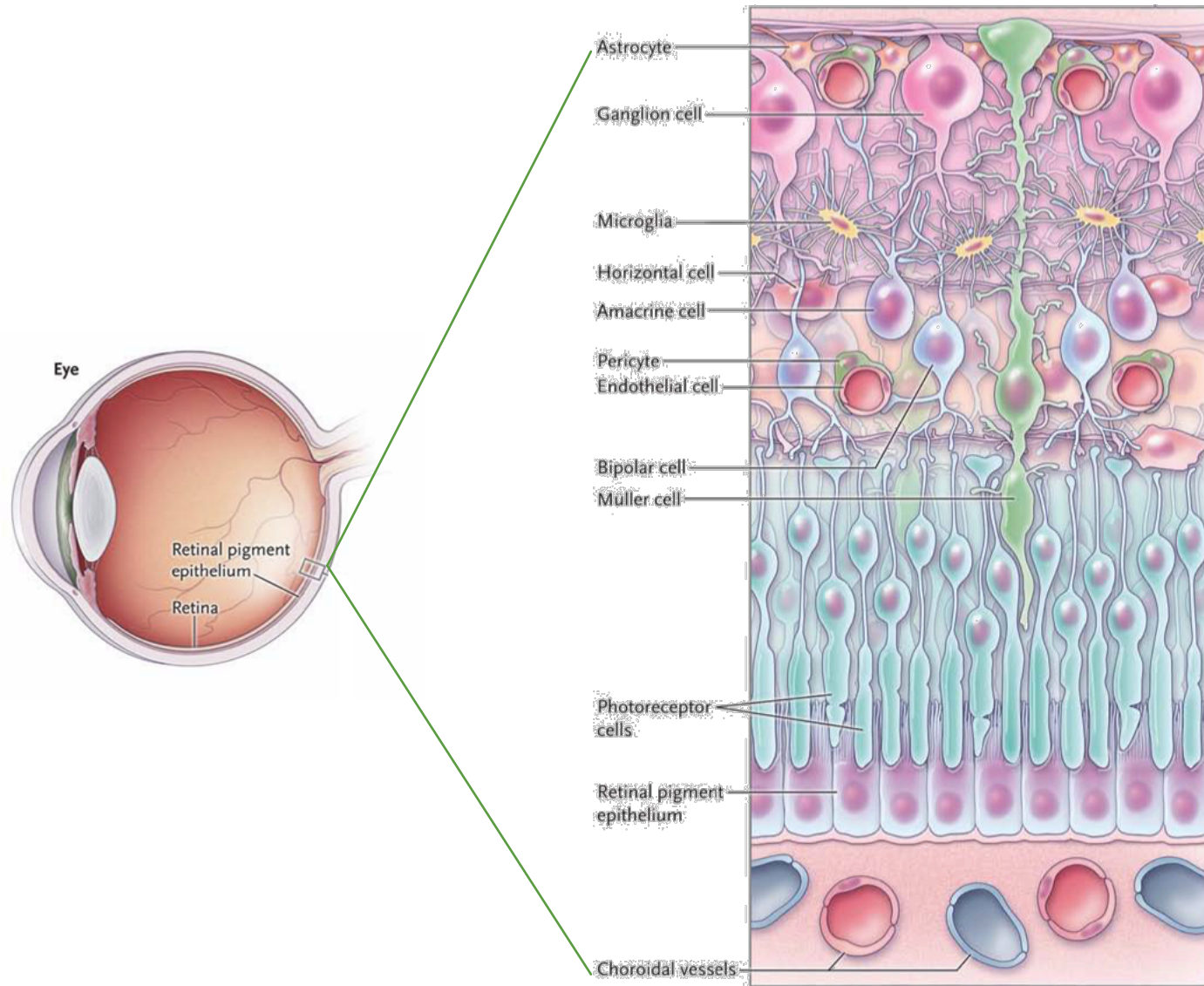
I meccanismi patogenetici della RD sono stati studiati essenzialmente sul versante vascolare facilmente accessibile all'esame clinico.

Recenti studi hanno dimostrato una compromissione precoce del comparto neurogliale retinico anche in assenza di danno vascolare ma molto resta da definire.



Background

d



Antonetti, D.A.,
N Engl J Med 2012

ATTIVAZIONE GLIALE

Modelli animali

- precoce up-regolazione GFAP
- alterato up-take e riciclaggio dei neurotrasmettitori
- alterata omeostasi ionica e idrica

Uomo

- up-regolazione GFAP
- apoptosi

NEURODEGENERAZIONE

Modelli animali

- apoptosi cellule ganglionari
- ridotto spessore degli strati plessiformi
- riduzione proteine sinaptiche
- diminuita ampiezza e ritardo dei potenziali oscillatori

Uomo

- apoptosi cellule ganglionari
- riduzione dell'adattamento al buio, perdita della discriminazione dei colori e della sensibilità al contrasto
- diminuita ampiezza dei potenziali oscillatori

Il *milieu* diabetico ha un effetto diretto o indiretto sul comparto neurogliale retinico?

Quali mediatori sono coinvolti nell'alterazione neurogliale della retina indotta dal diabete?



Modelli sperimentali



IN VITRO

Cellule e tessuto retinico



IN VIVO

Ratti diabetici

Studio della retina:

- danno neurogliale
- interazioni cellula-cellula

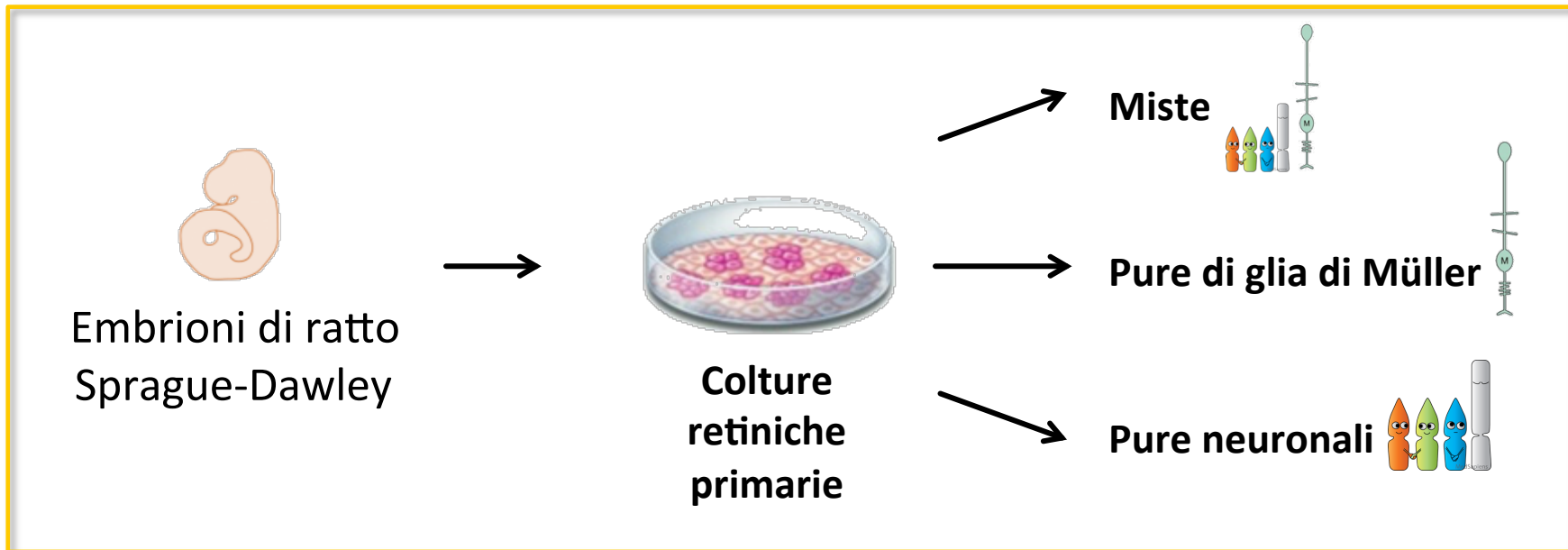
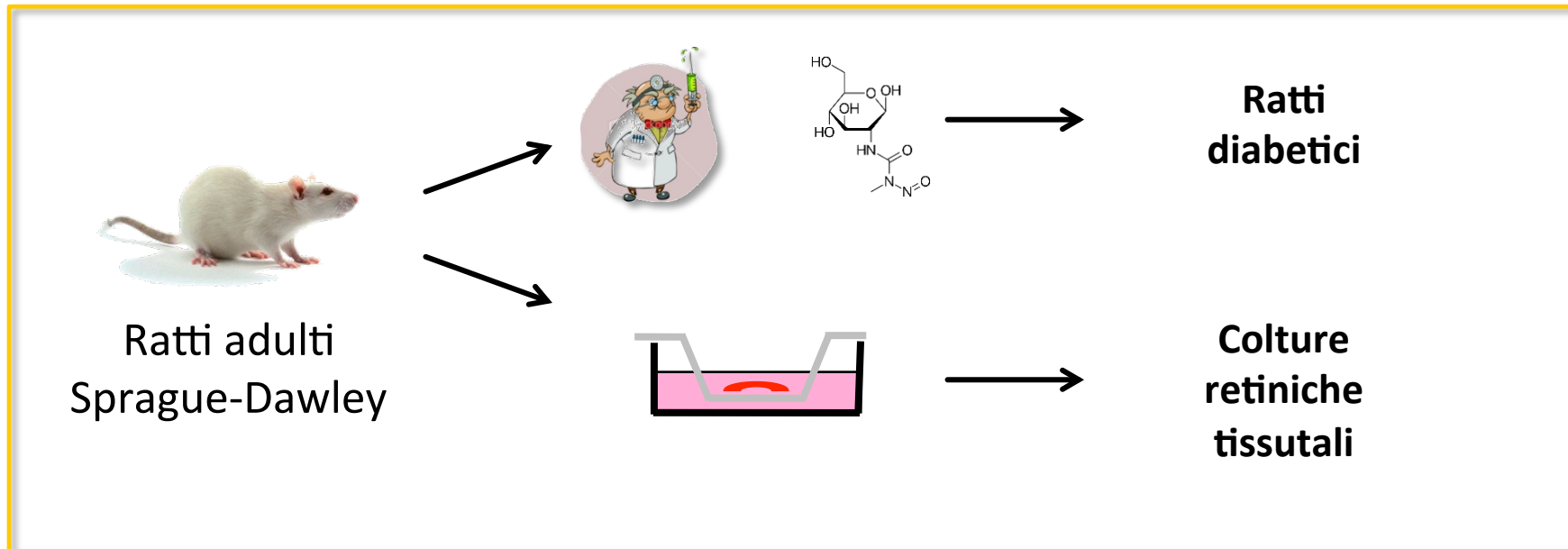
Studio di biomarcatori di complicanze tardive del diabete:

- prodotti avanzati della glicazione

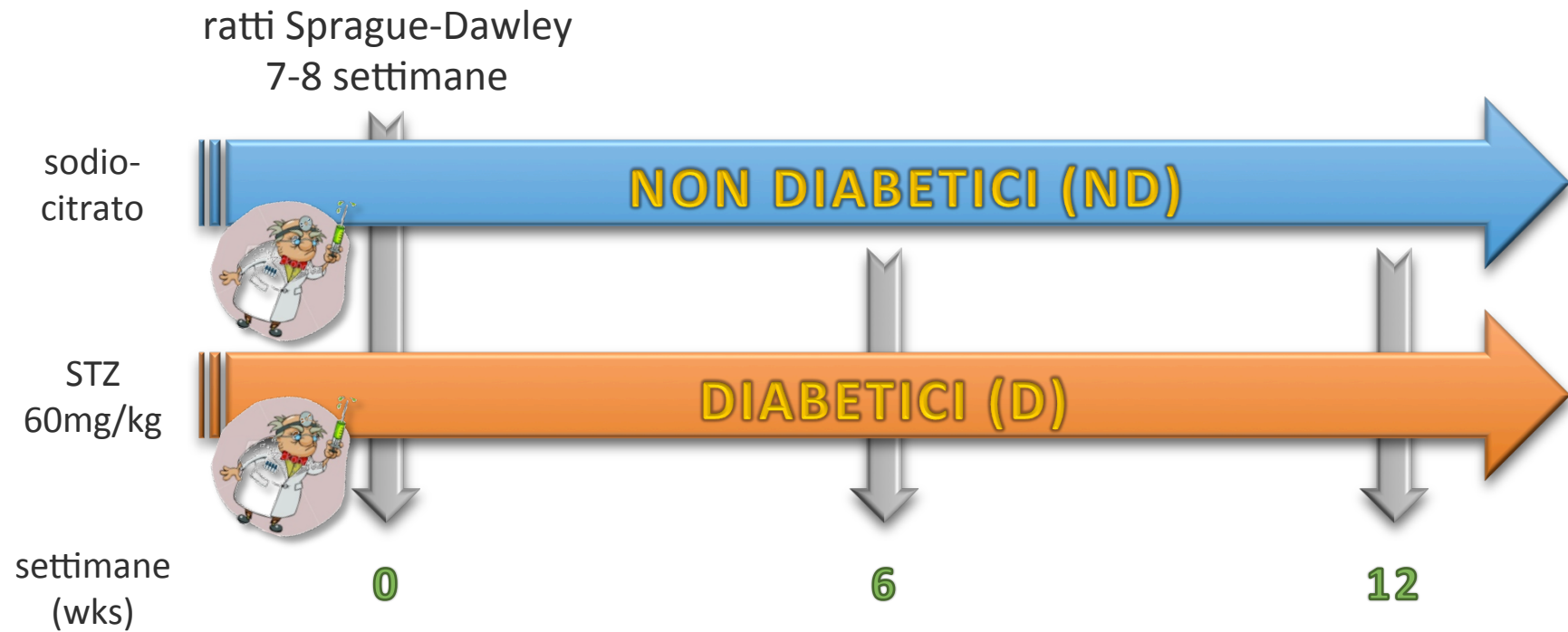
Trasferibilità nell'uomo

- Predizione e prevenzione della RD
- Individuazione di biomarcatori di insorgenza o progressione delle complicanze retiniche applicabili alla routine clinica nei soggetti con diabete
- Possibili nuovi target terapeutici

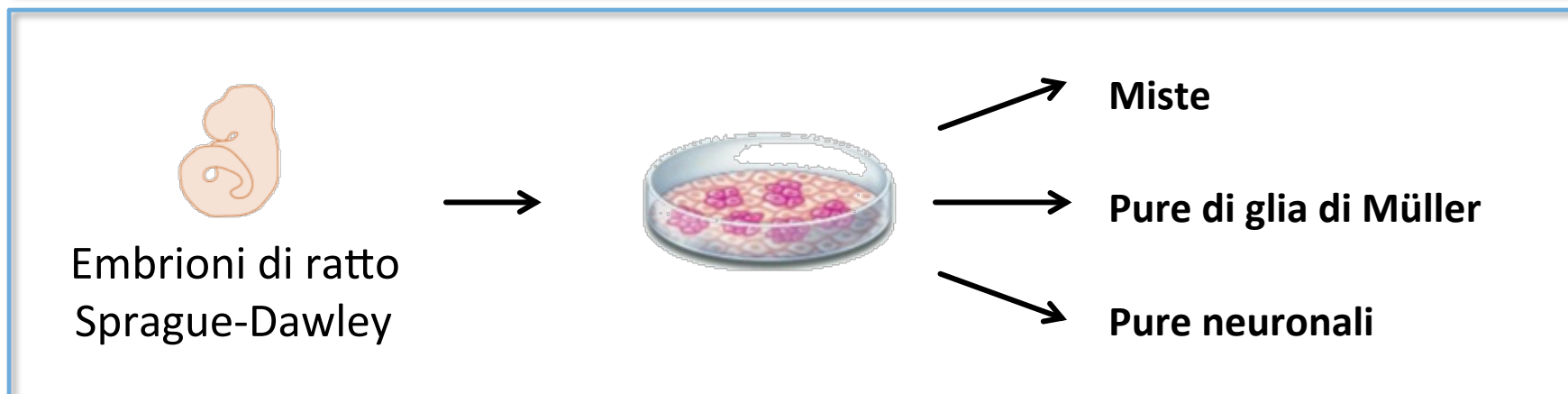
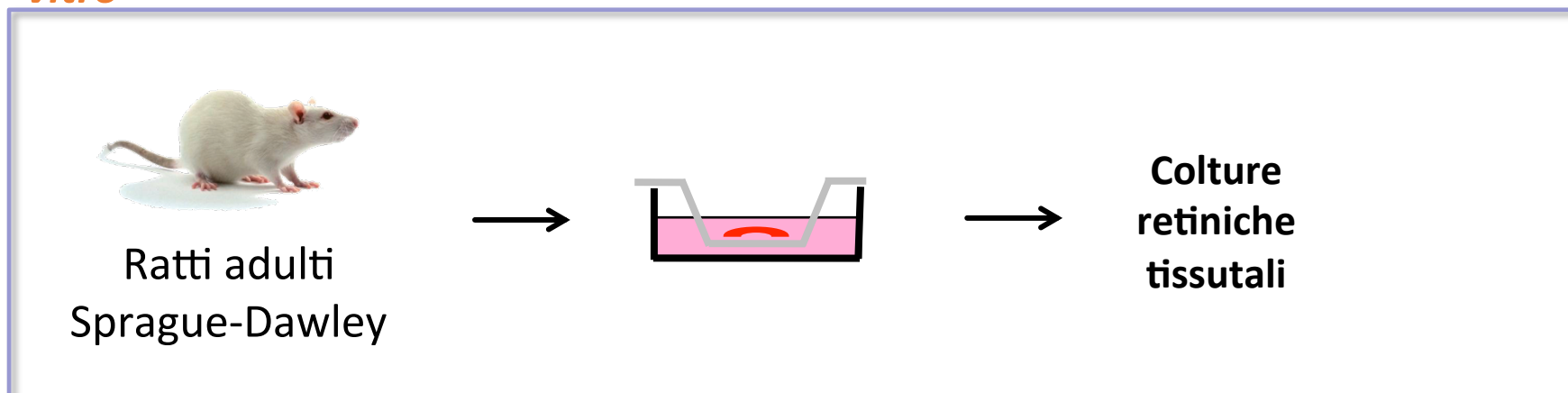
Modelli sperimentali



Disegno sperimentale - Modello in vivo



Disegno sperimentale - Modelli ex vivo e in vitro



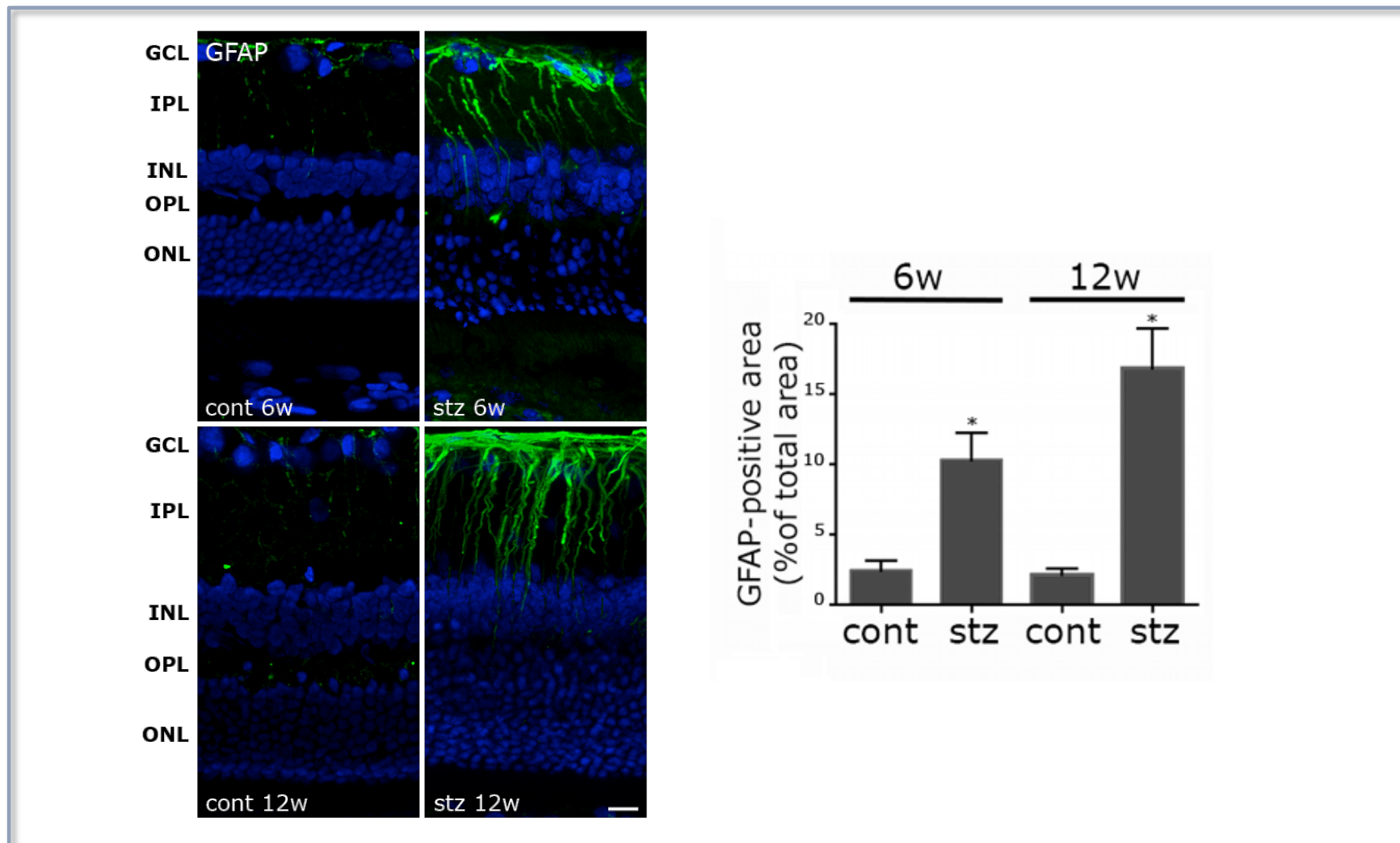
| NORMALE GLUCOSIO | ALTO GLUCOSIO | TEMPO |
|--------------------------------|--|--------------|
| NG: 5.5mM D-glucosio | HG: 30mM D-glucosio • dose singola (sHG) • dose ripetuta (rHG) | 48-96 ore |

Disegno sperimentale

| PARAMETRI | MARCATORI | METODI |
|-------------------------------|---|--------------------------------------|
| GLIA | CRALBP, GFAP, S100B, VIMENTINA | WB, IF |
| NEURONI | SINAPTOFISINA CASPASI-3, GABA, MAP2 | TUNEL, MTT, IF, WB, HOECHST 33258 |
| TRASDUZIONE INTRACELLULARE | pERK 1/2 | WB, IF |

Risultati - ratti diabetici

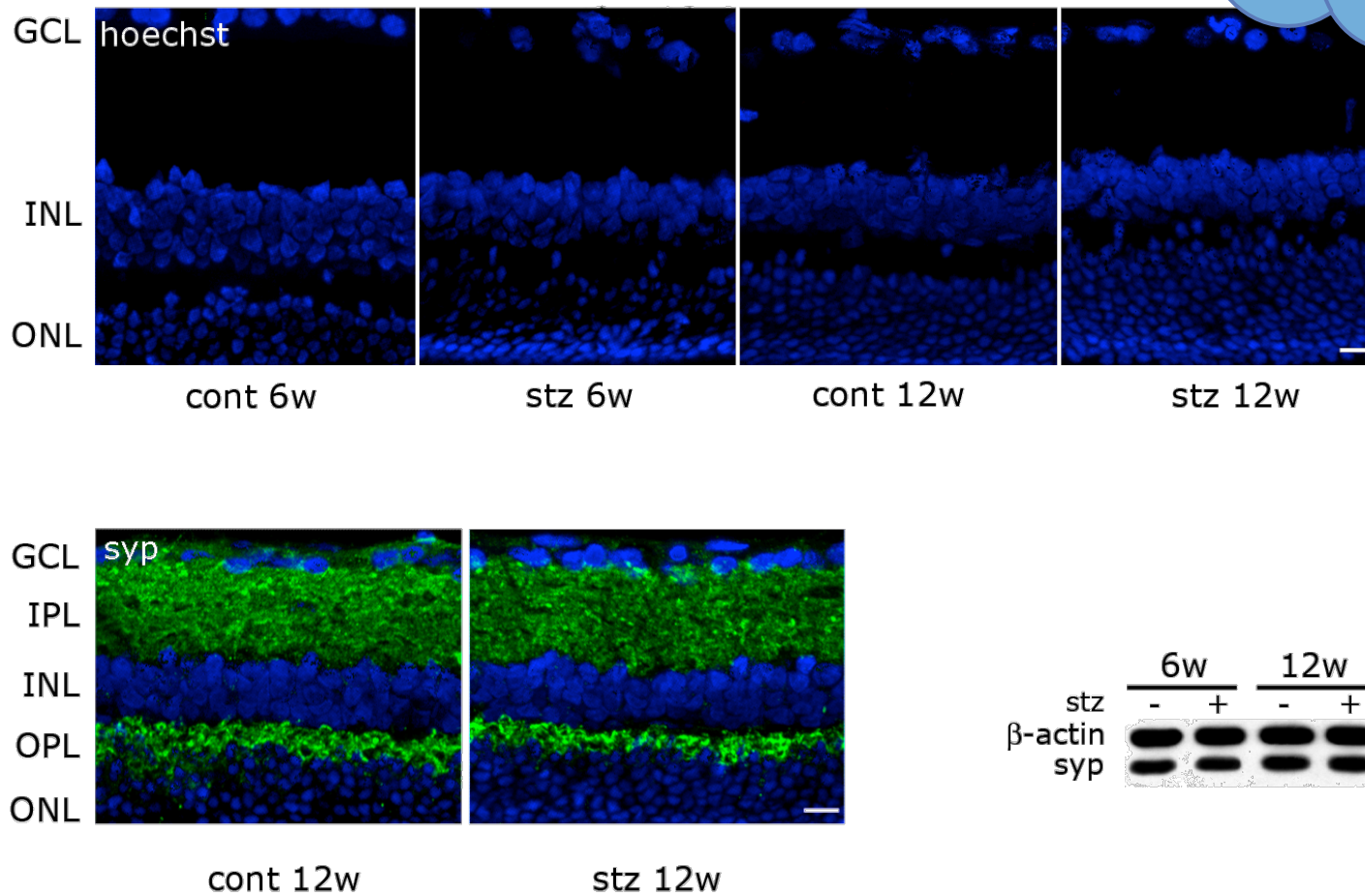
Il *milieu* diabetico induce precoce attivazione gliale...



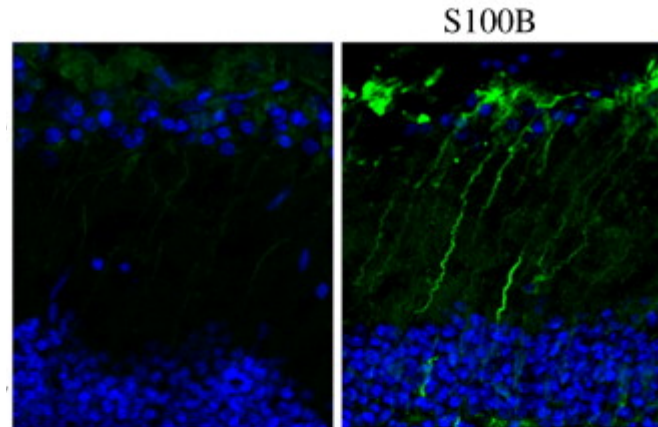
Risultati - ratti diabetici

...senza modificare la popolazione neuronale

Nel modello *in vivo*, il *milieu* diabetico induce precoce e persistente attivazione della glia di Müller preservando l'integrità neuronale.

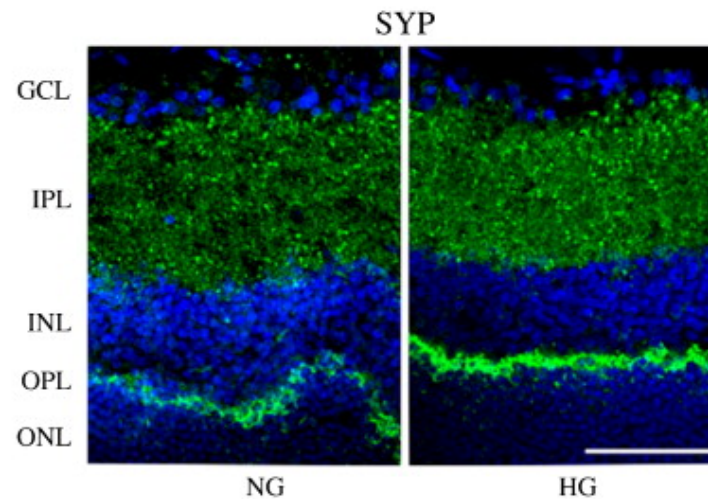


sHG induce attivazione gliale...



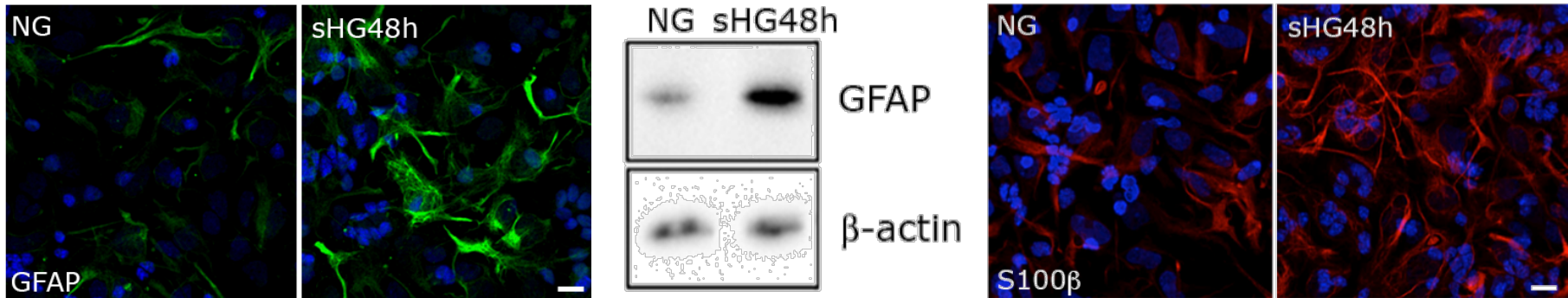
Nel modello *ex vivo*,
l'HG induce attivazione gliale
preservando l'integrità
neuronale.

...senza modificare la popolazione neuronale

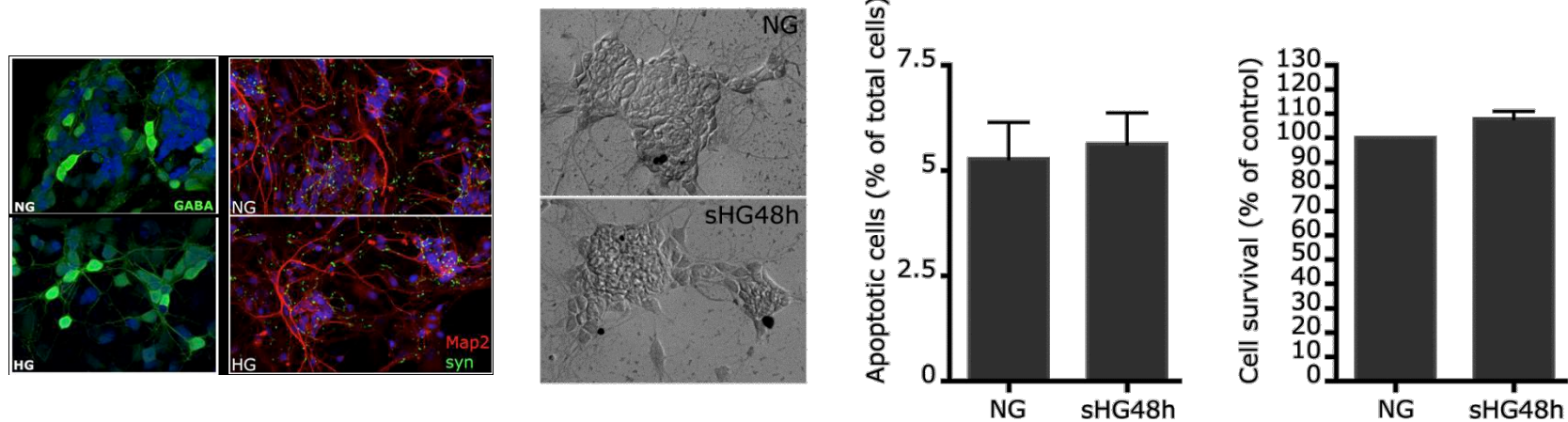


L'HG ha un effetto diretto sulla componente neurogliale retinica.

sHG induce attivazione gliale...



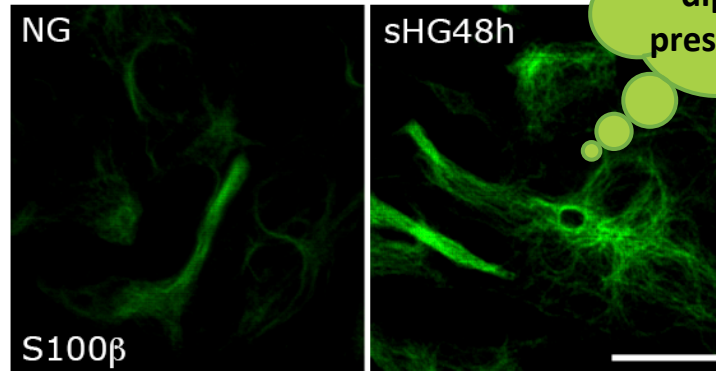
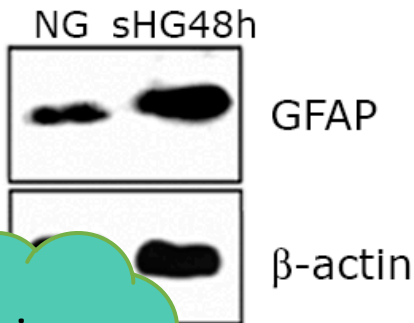
...senza modificare la popolazione neuronale



Risultati - colture pure...

sHG induce attivazione gliale...

...gliali

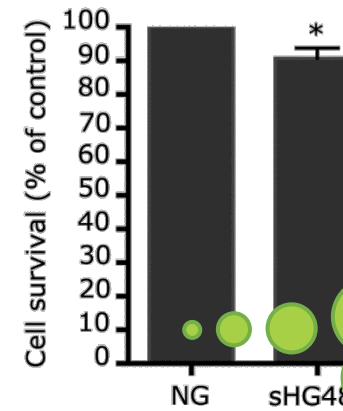
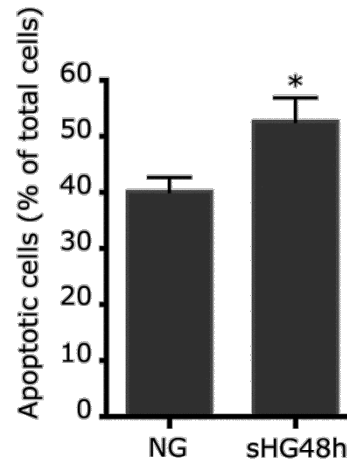
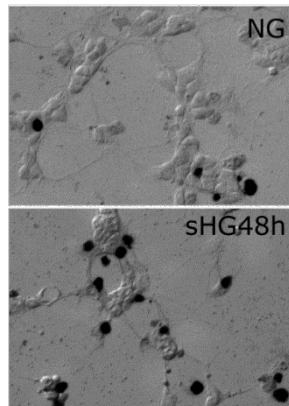


L'attivazione della Müller glia, in sHG, potrebbe non dipendere dalla presenza neuronale

In sHG, l'attivazione della Müller glia potrebbe avere un ruolo neuroprotettivo

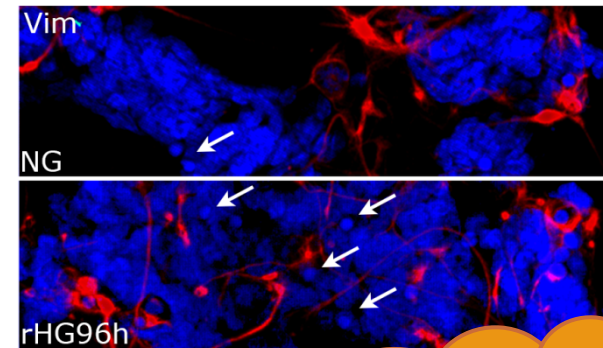
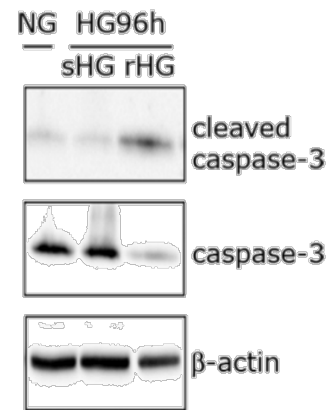
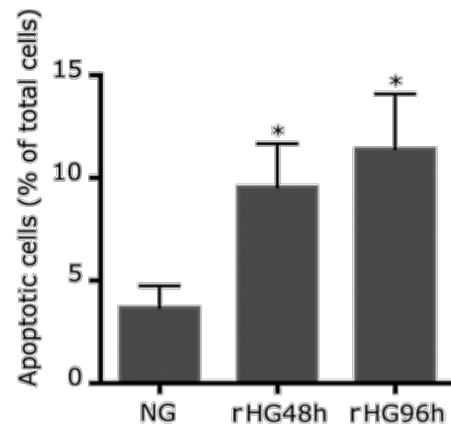
...neuronale

...neuronali

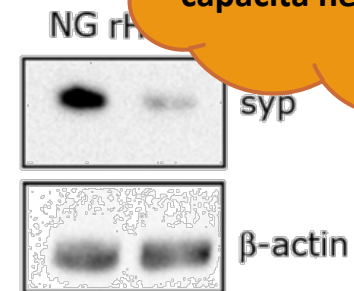
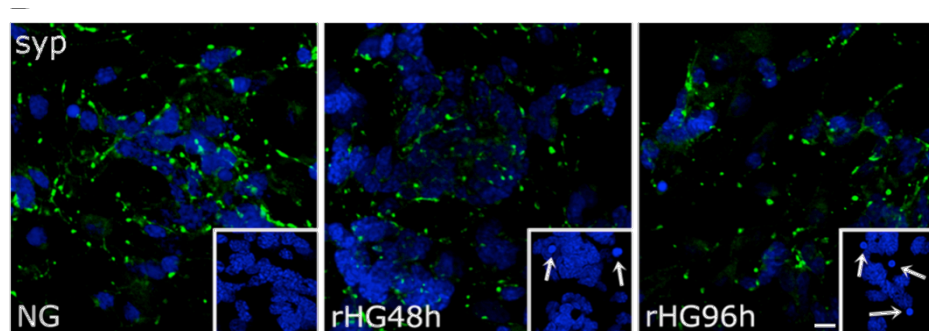


La sopravvivenza neuronale, in sHG, potrebbe dipendere dalla presenza della glia

Risultati - colture miste

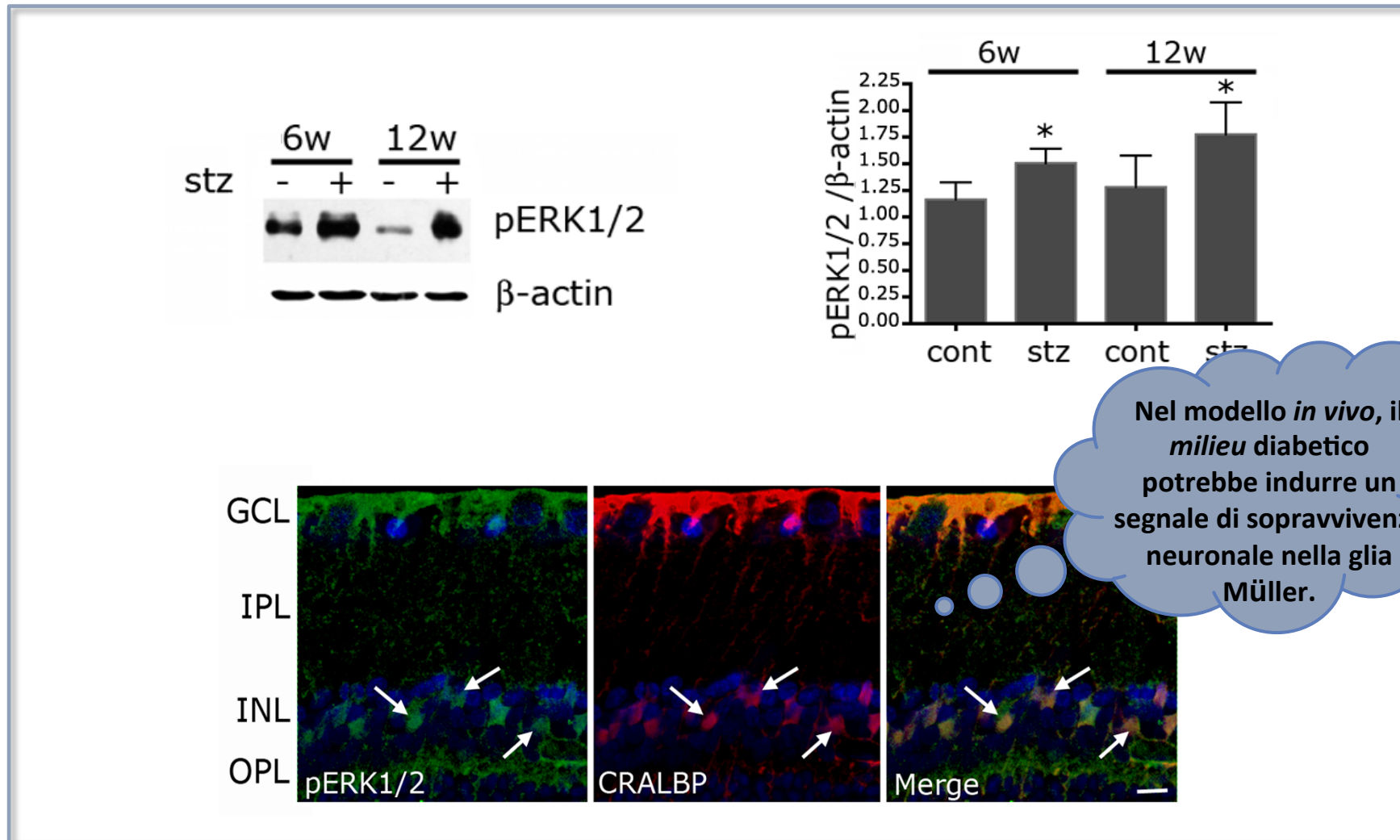


In rHG, l'attivazione della Müller glia potrebbe perdere la sua capacità neuroprotettiva



Risultati - ratti diabetici

Il *milieu* diabetico induce la fosforilazione di ERK1/2

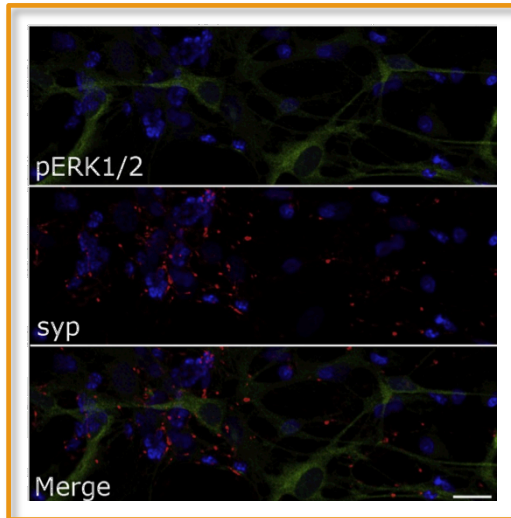


Risultati - colture...

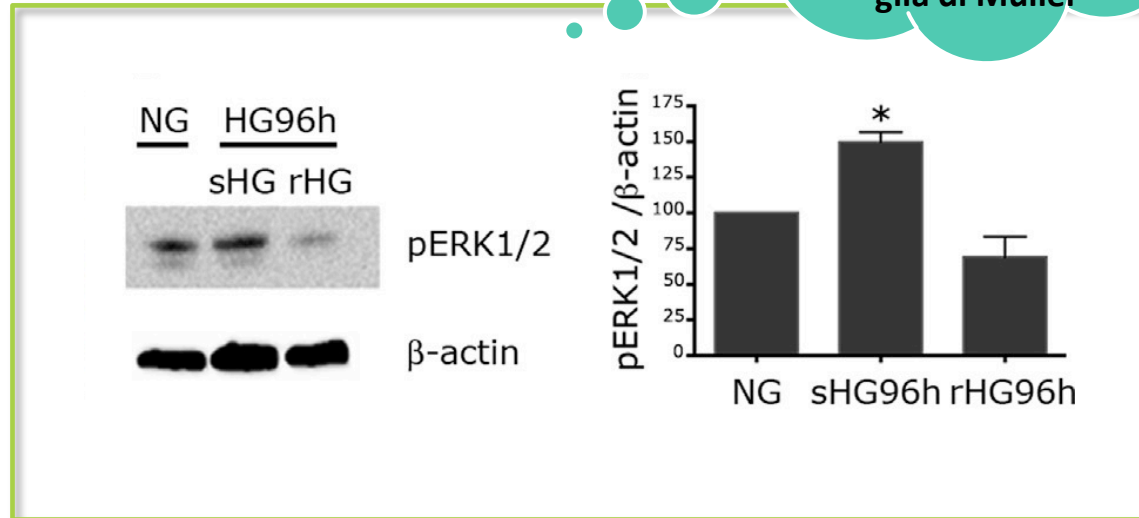
sHG vs rHG: modulazione di pERK1/2

pERK1/2 potrebbe essere coinvolto nei meccanismi che mediano l'effetto neuroprotettivo della glia di Müller

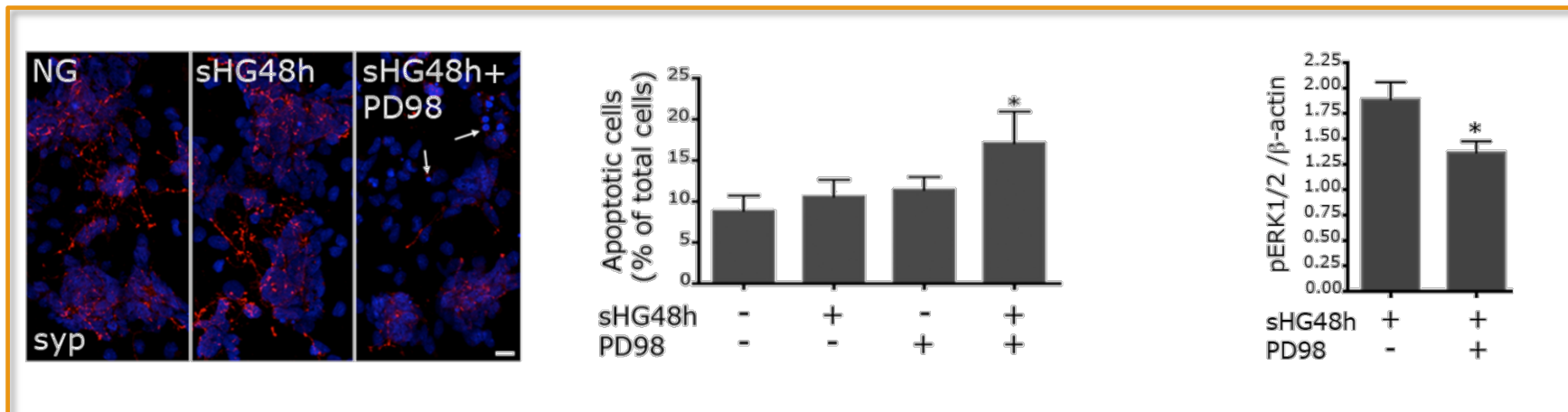
...miste



...pure gliali



...miste



Sommario

- Nelle retine diabetiche è presente attivazione gliale precoce e persistente senza segni di danno neuronale
- Nelle colture retiniche tissutali è presente attivazione gliale senza segni di danno neuronale in sHG
- Nelle colture retiniche miste è presente attivazione gliale senza segni di danno neuronale in sHG e neurodegenerazione in rHG
- Nelle colture pure neuronali è presente degenerazione cellulare in presenza di sHG
- La fosforilazione di ERK è aumentata in sHG e ridotta in rHG

L'attivazione della glia di Müller:

- evento precoce
- effetto diretto di HG

Se indotta da:

- livelli transienti di HG (sHG) potrebbe avere un effetto neuroprotettivo
- livelli persistenti di HG (rHG) potrebbe avere un effetto neurodegenerativo

con un meccanismo che coinvolge la fosforilazione di ERK1/2

I modelli sperimentali di diabete sono adeguati per lo studio della retina consentendo di esaminare l'effetto del *milieu* diabetico su:

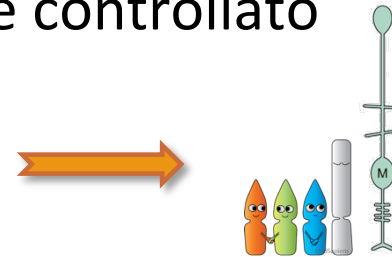
❑ sulla retina *in toto* in presenza di fattori sistemici



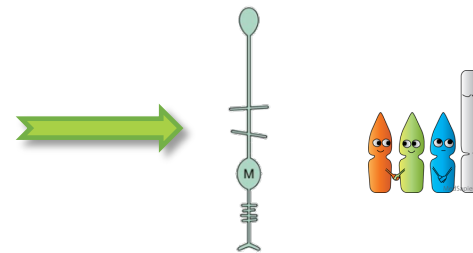
❑ sulla retina *in toto* in un ambiente controllato



❑ sul comparto neurogliale retinico



❑ sui singoli citotipi retinici





Grazie per l'attenzione!



Special thanks to:

Flavia Pricci

Fiorella Malchiodi-Albedi

Andrea Matteucci

Lucia Gaddini

Cinzia Mallozzi