



Giacomo Maria Bacci¹, Paolo Nucci², Roberto Caputo¹

¹ SOC Oftalmologia Pediatrica, AOU Meyer IRCCS, Firenze

² Dipartimento di Scienze Biomediche, Chirurgiche e Odontoiatriche, Università degli Studi di Milano

Le patologie rare oculari: verso una nuova era?

Abstract: Le patologie rare oculari stanno conoscendo un periodo particolarmente florido di novità nel campo della diagnostica genetica e, soprattutto, in ambito di potenziali trattamenti fino a pochi anni fa non immaginabili. L'obiettivo di questo articolo è di sottolineare le peculiarità che stanno portando il mondo della oftalmologia genetica all'attenzione del grande pubblico cercando di dare un indirizzo per i clinici che approcciano queste complesse patologie, ancora in larga parte sconosciute nella loro eziopatogenesi e nei meccanismi molecolari che ne determinano le manifestazioni cliniche. Verrà presentata una panoramica degli aspetti da considerare nella valutazione delle distrofie retiniche ereditarie con speciale attenzione alla casistica pediatrica, da sempre la più complessa ma anche la più idonea ad essere sottoposta a trattamenti di patologie che riconoscono nella evolutività una delle caratteristiche principali e che, se trattate tardivamente o in fase molto avanzata, possono drasticamente ridurre la suscettibilità ai miglioramenti funzionali attesi con i nuovi approcci terapeutici. Infine verrà fatta una veloce presentazione delle principali terapie innovative delle quali oggi si sente molto parlare ma di cui è altrettanto difficile avere una idea chiara in quanto, nella maggior parte dei casi, sono ancora in via di sviluppo all'interno di trial clinici in fasi più o meno avanzate di sviluppo.

Keywords: distrofie retiniche ereditarie, terapia genica, terapie cellulari, oftalmologia genetica.

Introduzione

Le malattie rare oculari sono, da sempre, un terreno fertile per quei colleghi che si dedicano all'osservazione minuziosa dei singoli dettagli clinici. Grazie alla loro passione e dedizione, alcuni tra i più grandi clinici dell'Ottocento e del Novecento sono stati in grado di descrivere aspetti e caratteristiche cliniche con ogni dovizia di particolari. Si è poi scoperta la correlazione tra tali sindromi e precisi quadri molecolari corrispondenti. Ancora oggi riconosciamo il loro contributo, denominando quelle patologie con il nome dei loro primi osservatori, come succede per la malattia di Stargardt, l'Amaurosi Congenita di Leber o la maculopatia di Best, solo per citarne alcune.

La severità clinica di tali patologie è da sempre ben nota, in quanto patologie responsabili di gravi deficit visivi, spesso bilaterali e precoci, che conducono solitamente ad un quadro di profonda ipovisione con conseguenze di forte impatto sulla qualità di vita dei pazienti e delle loro famiglie. Proprio la complessità alla base di queste patologie le ha rese un terreno complicato ed avaro di soddisfazioni per i colleghi che si trovano ad affrontare tali condizioni.

Considerazioni generali

Di fronte una malattia rara, oltre all'aspetto diagnostico, una delle prime complessità è la gestione dello stato emotivo del paziente e della sua famiglia fino da quando pianifichiamo un

percorso diagnostico che probabilmente non permetterà alcuna soluzione di cura. Quanto appena descritto rappresenta un quadro sconcertante, ma reale, di quello che, fino a pochi anni fa, era il mondo delle malattie rare e l'oculistica non ne era purtroppo esente. Trattandosi di patologie estremamente complesse, la "semplice" definizione clinica è oggi insufficiente a rendere ragione della enorme variabilità di presentazione di queste forme patologiche, spesso anche all'interno della stessa famiglia¹: da ciò è intuitivo che l'apporto della branca di genetica medica è stato un requisito essenziale per la comprensione di quadri clinici nei quali non è sempre possibile riconoscere la "firma" del gene responsabile.

Perché l'oculistica?

La branca di oculistica è da sempre contraddistinta da un elevato utilizzo di risorse tecnologiche di avanguardia e, specie negli ultimi anni, le possibilità aperte dai dispositivi di imaging in vivo permettono una definizione ultrastrutturale impensabile fino a solo 20 anni fa: basta pensare ai cambiamenti portati dall'avvento della tecnologia OCT nella gestione clinica dei nostri pazienti o la digitalizzazione delle immagini del fondo oculare^{2,3} la con possibilità di una elaborazione informatica che rendono tali esami a volte superiori alla sola oftalmoscopia diretta o indiretta. Proprio a tale riguardo, in questi anni, stiamo assistendo ad una vera e propria evoluzione verso la telemedicina in quanto la tecnologia rende sempre più semplice la condivisione di dati e le conseguenti opinioni cliniche tra specialisti ed iper-specialisti di settore: il beneficio principale è una facilitazione del percorso diagnostico e terapeutico, senza contare i risvolti sulla ricerca clinica ed il vantaggio di poter evitare l'invio di pazienti tra i vari centri per una valutazione obiettiva diretta. È storia recente,

ed ormai conosciuta anche dal grande pubblico, che una forma di Amaurosi Congenita di Leber, legata al gene RPE65, può essere oggi trattata mediante terapia genica: grazie alla somministrazione sottoretinica di un vettore virale contenente la copia funzionante del gene, tale copia può essere integrata nel DNA della cellula ospite ripristinandone la funzione. Apparentemente fantascientifico, tale approccio innovativo ha richiesto oltre 10 anni per la sua realizzazione. Il miglioramento clinico indotto dalla terapia è stato così evidente, anche negli studi di fase 2 e 3, da far sì che l'iter autorizzativo ottenesse un consenso quasi all'unanimità da parte di organismi regolatori estremamente severi quali la FDA (Food and Drug Administration) americana e la EMA (European Medical Agency) europea⁴. Questo strumento terapeutico oggi è utilizzato con estrema soddisfazione da parte di clinici e famiglie in pazienti che devono essere accuratamente selezionati, dato che l'esperienza clinica sta confermando i dati ottenuti durante la fase sperimentale.

Le Reti Europee per le malattie rare

Le possibilità terapeutiche per le malattie rare sono oggi in costante aumento aprendo nuove speranze per famiglie e clinici che potranno proporre un trattamento personalizzato dei singoli casi. Recentemente in Europa sono stati creati dei network dedicati alle malattie rare che hanno dato ulteriore impulso alla ricerca ed alle possibilità diagnostiche e terapeutiche⁵: gli European Reference Network (ERN) sono oggi al servizio di oltre 30 milioni di pazienti affetti da patologie rare ed anche l'oculistica ha il suo settore dedicato, con la rete ERN-EYE: ne fanno oggi parte oltre 60 centri certificati in tutta Europa dopo aver affrontato un percorso di selezione severissimo sia per l'ingresso sia per il mantenimento dei requisiti di ammissione. Grazie a tutto questo è

oggi finalmente possibile evitare i “viaggi della speranza” a tante famiglie permettendo loro di affidarsi ad un ospedale membro che prende in carico il singolo caso e, dove necessario, può condividerlo con colleghi internazionali che aiutino nella sua gestione specifica e nel suo possibile trattamento.

Distrofie retiniche ereditarie

Le distrofie retiniche ereditarie racchiudono una quantità enorme di entità patologiche la cui trattazione dettagliata va oltre lo scopo del presente articolo vista la complessità degli aspetti clinici e molecolari in causa. Da clinici, il messaggio principale che ci preme è: “quando devo avere il sospetto di una forma di distrofia retinica?”. Non è facile dare una risposta immediata in quanto le malattie rare tendono ad avere, di frequente, manifestazioni iniziali con quadri comuni: una miopia precoce o un nistagmo congenito possono avere tra le loro cause una malattia rara, ma è difficile che il sospetto emerga fino dalle prime visite in quanto spesso non sono diagnosticabili quegli elementi che indirizzano chiaramente

la diagnosi verso una distrofia retinica (Fig. 1). Nel mondo dell’oftalmologia pediatrica, in particolare, ogni procedura di diagnostica avanzata, specie nei bambini piccoli o molto piccoli, presenta un “prezzo” da pagare in termini di ricorso a valutazioni in sedazione o anestesia generale e in termini di interpretazione degli esami in tali condizioni⁶: ad esempio, la risposta di un elettroretinogramma standard è fortemente alterata da alcuni farmaci comunemente usati durante le sedazioni (ex. alogenati) e ne deve essere tenuto conto nell’interpretazione.

È esemplificativo, a tal proposito, quanto riportato in figura (Fig. 2) dove è evidente come, in pazienti portatori della stessa variante causativa del quadro clinico, la risposta elettroretinografica sia nettamente più evidente in coloro a cui l’esame è stato eseguito in veglia rispetto a chi lo ha eseguito in anestesia generale.

Fortunatamente, in molti casi anche un solo esame OCT, ormai disponibile nelle sue numerose declinazioni (OCT-angiografia, swept source OCT, adaptive optics OCT, quest’ultimo solo in setting di ricerca, etc.) permette di ottenere un

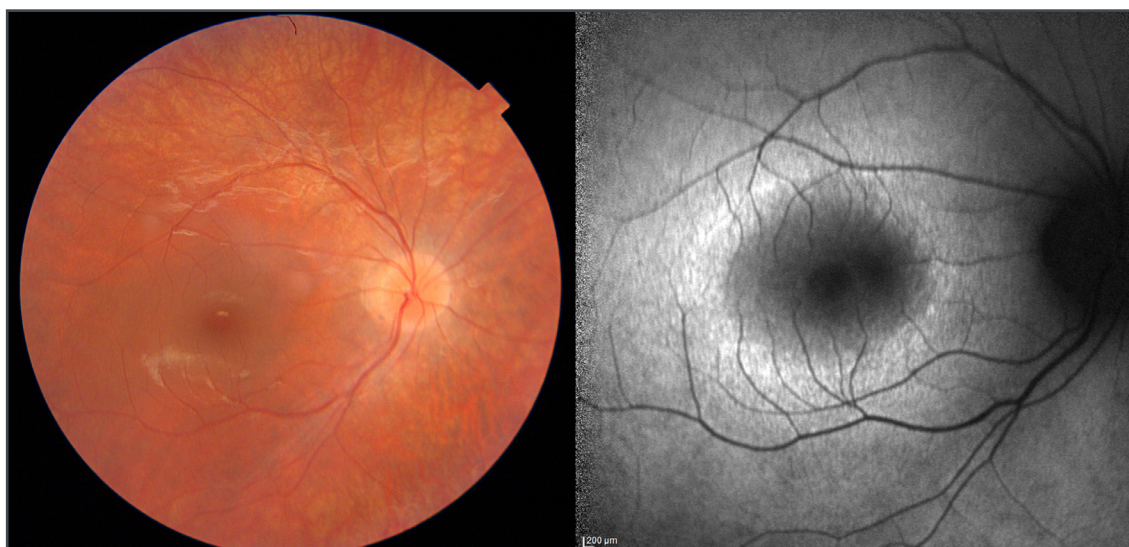


Figura 1 - Composite di immagine del fondo oculare di paziente affetta da distrofia retinica RHO-correlata. Lato sinistro: retinografia a colori dei 55° centrali. Lato destro: aspetto in autofluorescenza a luce blu dei 30° centrali. Si noti l’assenza di evidenti anomalie oftalmoscopiche al solo esame del fundus e la presenza di anello iperautofluorescente che conferma la presenza di manifestazione precoce della patologia.

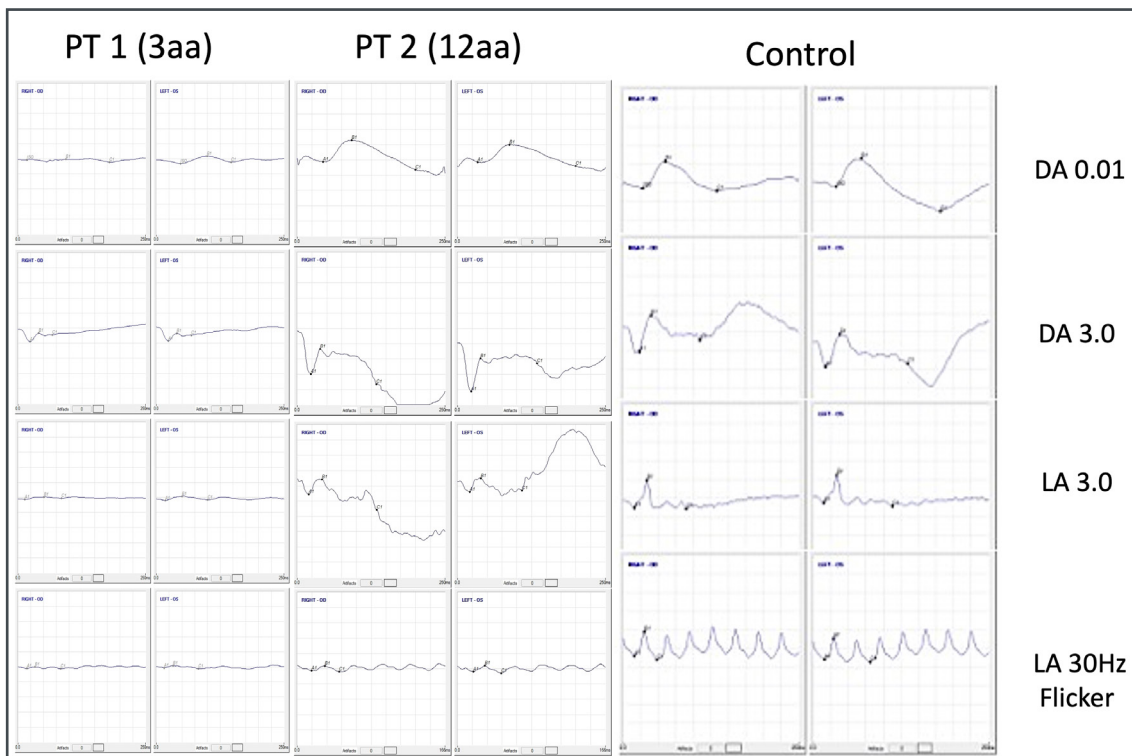


Figura 2 - Esame elettroretinografico full field (ffERG) di pazienti affetti da distrofia retinica CACNA1F-correlata. Si noti la caratteristica elettronegativa della traccia DA 3.0 in condizioni di esame in sedazione (Pz 1) e in condizioni ambulatoriali (Pz 2): il setting in sedazione evidenzia chiaramente una riduzione diffusa delle risposte elettroretinografiche se confrontata con setting di esame in veglia e rispetto a traccia di controllo. LA: light adapted. DA: dark adapted.

dato anatomico strutturale del tessuto retinico anche in età molto precoci se eseguito con le opportune tecniche di esecuzione⁷. Anche i sistemi di imaging ultrawide field fotografico del fondo oculare stanno aiutando sempre più nella gestione e nell'inquadramento di quadri clinici in età infantile senza dover ricorrere ad esami in sedazione che risultano onerosi, oltre che per il paziente, anche per l'impegno di risorse necessarie alla loro esecuzione.

Un dato strutturale sospetto ottenuto in OCT, aiuta i clinici ad indirizzare la diagnosi a seconda che la regione coinvolta primariamente sia la zona maculare o extramaculare: esemplificando al massimo, un'alterazione della linea ellissoide in sede maculare può evocare il sospetto di una "cone dysfunction syndrome" mentre una alterazione evidente prevalentemente in sede extra maculare può essere espressione di una "rod-cone dystrophy"⁸.

La diagnosi di distrofia retinica ereditaria, o anche solo il sospetto di essa, ha spesso un impatto severo sulla famiglia con un potenziale figlio affetto: la sensazione di smarrimento e confusione è già immediatamente percepibile in sede di colloquio, specie quando non possiamo giungere subito ad una conferma del sospetto, ma dobbiamo necessariamente procedere per gradi ed esami.

Le attese per l'esecuzione del test molecolare sono a volte mal tollerate e possono generare incomprensioni ed ansie da risultato che i clinici devono imparare a gestire e controllare: non è raro che alcune famiglie possano necessitare di ricorrere ad un supporto psicologico già durante il percorso diagnostico, oltre che una volta ricevuto l'esito finale, ed i singoli centri di expertise hanno tali figure professionali sempre più come parte integrante dell'équipe multidisciplinare. Proprio per affrontare tali peculiarità sta

emergendo una nuova figura professionale, quale l'oculista esperto in oftalmologia genetica, che si faccia promotore dell'inquadramento, della gestione e del possibile trattamento dei pazienti affetti da distrofia retinica ereditaria o da altra malattia rara oculare.

La letteratura scientifica sta infatti mostrando scenari sempre nuovi con approcci terapeutici che richiedono una approfondita conoscenza dell'eziopatologia e delle manifestazioni cliniche delle malattie rare.

E' oggi necessario procedere ad una precoce identificazione e presa in carico con l'obiettivo di inviare a trattamento, quanto prima possibile, i singoli casi: la terapia genica, infatti, per come la conosciamo oggi, sta rivoluzionando la gestione delle distrofie retiniche, ma è fondamentale che il gene identificato sia in rapporto al quadro clinico perché il trattamento ottenga il beneficio atteso.

Malattie rare oculari: quali trattamenti?

L'opinione pubblica è oggi estremamente sensibilizzata alle potenzialità delle terapie innovative ed i media stanno dando, giustamente, visibilità e divulgazione ai nuovi approcci per il trattamento delle malattie rare.

Il settore oculistico, in particolare i trattamenti in terapia genica delle distrofie retiniche, e più recentemente, le prospettive di trattamento anche per le otticopatie ereditarie, hanno le potenzialità per divenire una realtà diffusa nei prossimi anni e per ampliare sempre più l'offerta terapeutica.

Quando attraversiamo epoche di così significativo cambiamento, è facile perdersi nei numerosi approcci quindi cercheremo brevemente di chiarire quali effettivamente siano le attuali e future prospettive che, da clinici, abbiamo ed avremo a disposizione per curare e consigliare al meglio i nostri pazienti.

Terapia Genica

La terapia genica è forse la forma più nota di trattamento delle malattie rare in quanto ormai ha superato i limiti imposti dalla dimostrazione della "proof of concept" e dalla "safety" procedurale che sono la base di partenza per qualunque tipo di trattamento innovativo.

La realizzazione del trattamento della distrofia retinica RPE65-correlata con Voretigene Neparvovec ha permesso di mostrare le potenzialità della terapia genica applicata alle malattie rare oculari: i netti miglioramenti riportati negli ormai oltre 100 pazienti trattati nel mondo^{4,9} sono la migliore prova del successo di tale approccio.

È da considerare che, come ogni trattamento innovativo, il suo utilizzo nella pratica clinica sta mostrando degli eventi inaspettati e non manifesti nella fase di trial autorizzativo: in particolare, la comparsa di aree di atrofia corio retinica negli occhi trattati, ad eziologia ancora non chiarita, ha aperto un ampio dibattito scientifico, pur non avendo al momento una ripercussione sul risultato funzionale ottenuto dal trattamento¹⁰. Ad oggi molte sono le terapie geniche in fase di sviluppo ed ognuna con modalità di azione peculiare in quanto i meccanismi patogenetici alla base delle diverse forme di distrofia retinica possono richiedere non solo un aumento della produzione della proteina sana (gene augmentation therapy), ma in alcuni casi un silenziamento del gene (gene silencing therapy) per non voler citare altri approcci ancora più complessi di gene editing¹¹.

Senza entrare nei dettagli, ripetiamo estremamente complessi, di biologia molecolare, è evidente che il lavoro tra clinici e laboratori di ricerca è sempre più stretto data l'elevata necessità di competenze multidisciplinari che permettano lo sviluppo e la dimostrazione di efficacia di ogni singolo farmaco.

TABELLA 1
ESEMPI DI STUDI CLINICI CONDOTTI SU DISTROFIE RETINICHE CON USO DI ATMPs

Titolo	Distrofia retinica	Trattamento	Somministrazione	Fase Studio
Intravitreal Autologous Bone Marrow CD34+ Cell Therapy for Ischemic and Degenerative Retinal Disorders	AMD, RP, retinal vascular occlusion	Autologous BM-MSC	Intravitreal	I
Umbilical cord derived mesenchymal stem cell implantation in retinitis pigmentosa	RP	Umbilical cord-derived MSC	Suprachoroidal	III
Management of Retinitis Pigmentosa by Mesenchymal Stem Cells by Wharton's Jelly Derived Mesenchymal Stem Cells	RP, inherited retinal dystrophy	Wharton's Jelly-derived MSC	Subtenons	III
Clinical Study of Subretinal Transplantation of Human Embryo Stem Cell Derived Retinal Pigment Epitheliums in Treatment of Macular Degeneration Diseases	Macular degeneration, Stargardt macular dystrophy	Human embryo stem cell-derived retinal pigment epitheliums (hESC-RPEs)	Subretinal	I/II
Sub-retinal Transplantation of hESC Derived RPE (MA09-hRPE) Cells in Patients With Stargardt's Macular Dystrophy	Stargardt Macular Dystrophy	hESC-derived RPE (MA09-hRPE) cells	Subretinal	I/II

Terapie optogenetiche

La optogenetica è la branca che mira alla cura delle distrofie retiniche utilizzando molecole fotosensibili capaci di attivare una risposta elettrica intracellulare quando opportunamente

stimolate. L'obiettivo di tali terapie è quello di rendere fotosensibili delle componenti del tessuto retinico usualmente non deputate a tale compito¹². Gli studi preclinici e clinici hanno dimostrato la prova di concetto che tale approccio

è fattibile e utile a ripristinare una funzione visiva in patologie degenerative e sono tuttora in corso studi clinici che permetteranno di verificare, oltre che la sicurezza, anche l'efficacia¹³.

Terapie cellulari

Le terapie cellulari, note ancora oggi al grande pubblico come "cellule staminali" rappresentano la probabile, ulteriore, rivoluzione nel mondo della terapia per le patologie rare. In effetti si tratta di un approccio che utilizza una base cellulare (esogena o endogena) al fine di supportare o sostituire un tessuto organico in via di degenerazione con l'ambizione di poter "rigenerare" tessuti ormai irreversibilmente danneggiati dal processo degenerativo e fornire quindi una terapia che risulti indipendente dalla tipologia di gene causativo del processo patologico.

La grande limitazione, infatti, della terapia genica è la creazione di terapie gene-specifiche che necessitano di un tessuto ancora vitale su cui poter agire e poter permettere il miglioramento anatomico e funzionale atteso.

Esula dallo scopo del presente lavoro entrare nel complesso dettaglio di queste terapie, ma è sufficiente una lettura di lavori di revisione^{14,15}

e dell'elenco di trials clinici¹⁶, in fasi più o meno avanzate di sviluppo, per comprendere come le terapie cellulari aprano le speranze non solo ad un rallentamento del processo patologico, ma, sperabilmente, anche ad un miglioramento anatomico e funzionale (Tab.1).

Solo una stretta collaborazione tra clinici e ricercatori potrà fornire elementi ulteriori per capire come le terapie cellulari potranno effettivamente cambiare l'impatto clinico delle patologie su base ereditaria.

Conclusioni

In conclusione, il presente articolo ha mostrato il cambiamento di paradigma nella gestione delle malattie rare che sta coinvolgendo numerosi settori della medicina, non solo in campo oftalmologico. Il settore oculistico ha il privilegio di rappresentare un laboratorio ideale per la cura delle malattie rare date le caratteristiche cliniche oculari che permettono una visualizzazione "in vivo" del processo patologico ed il monitoraggio clinico-strumentale avanzato dei trattamenti disponibili o in fase di studio, un isolamento immunologico e la bilateralità come elementi principali.

REFERENCES

1. Jespersgaard, C., et al. *Molecular genetic analysis using targeted NGS analysis of 677 individuals with retinal dystrophy. Sci Rep* 9, 1219 (2019).
2. Yamao, S., Tsujioka, T., Takada, R., Matsumoto, F. & Kusaka, S. *Utility of Oral Fluorescein Angiography with Ultra-Widefield Imaging System for Evaluation of Various Retinal Disorders. Retina* 41, 1338-1345 (2021).
3. Kothari, N., et al. *Clinic-based ultra-wide field retinal imaging in a pediatric population. Int J Retina Vitreous* 5, 21 (2019).
4. Russell, S., et al. *Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. Lancet* 390, 849-860 (2017).
5. Heon-Klin, V. *European Reference networks for rare diseases: what is the conceptual framework? Orphanet journal of rare diseases* 12, 137 (2017).
6. Brodie, S.E. *Tips and tricks for successful electroretinography in children. Curr Opin Ophthalmol* 25, 366-373 (2014).
7. Cehajic-Kapetanovic, J., Xue, K., Purohit, R. & Patel, C.K. *Flying baby optical coherence tomography alters the staging and management of advanced retinopathy of prematurity. Acta ophthalmologica* 99, 441-447 (2021).
8. Gong, Y., Chen, L.J., Pang, C.P. & Chen, H. *Ellipsoid zone optical intensity reduction as an early biomarker for retinitis pigmentosa. Acta ophthalmologica* 99, e215-e221 (2021).

9. Maguire, A.M., et al. Safety and efficacy of gene transfer for Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med* 358, 2240-2248 (2008).
10. Gange, W.S., et al. Perifoveal Chorioretinal Atrophy after Subretinal Voretigene Neparvovec-rzyl for RPE65-Mediated Leber Congenital Amaurosis. *Ophthalmol Retina* 6, 58-64 (2022).
11. Du, S.W. & Palczewski, K. Eye on genome editing. *J Exp Med* 220(2023).
12. Lindner, M., Gilhooley, M.J., Hughes, S. & Hankins, M.W. Optogenetics for visual restoration: From proof of principle to translational challenges. *Progress in retinal and eye research* 91, 101089 (2022).
13. Prosseda, P.P., Tran, M., Kowal, T., Wang, B. & Sun, Y. Advances in Ophthalmic Optogenetics: Approaches and Applications. *Biomolecules* 12(2022).
14. Bacci, G.M., et al. Treatment of Inherited Retinal Dystrophies with Somatic Cell Therapy Medicinal Product: A Review. *Life (Basel)* 12(2022).
15. Lopez-Paniagua, M., et al. Advanced Therapy Medicinal Products for the Eye: Definitions and Regulatory Framework. *Pharmaceutics* 13(2021).
16. Van Gelder, R.N., et al. Regenerative and restorative medicine for eye disease. *Nat Med* 28, 1149-1156 (2022).