

IL PROGETTO SUBRET

Microfotodiodi (MPD) da innestare sotto la retina onde ripristinare la capacità visiva in presenza di degenerazioni retiniche

La comunità di ricerca Subret, diretta dal prof. Zrenner della Clinica oftalmologica dell'Università di Tubinga UAK, si è data come obiettivo l'innesto, nella zona subretinica dell'occhio, di un grande numero di minuscolissimi microfotodiodi allineati su un *Array* a disco (Array MPD) oppure sistemati come piccolissime particelle individuali e funzionanti come le cellule solari. Il termine inglese Array significa schiera e si usa per indicare un insieme ordinato di elementi dello stesso tipo.

Lo sviluppo *microtecnico* e la produzione dei fotodiodi sono curati dall'Istituto di microelettronica IMS (prof. Höfflinger) e dall'Istituto di elettronica fisica IPE (dott. Schubert), entrambi di Stoccarda. Il collaudo *biofisico*, il rivestimento degli elettrodi e l'esame *in vitro* hanno luogo presso l'Istituto di medicina biologica NMI di Reutlingen (coordinatore è il dott. Hämmerle). Gli esami funzionali *in vivo*, i test di stabilità a lungo termine e quelli di *biocompatibilità* e dei tessuti sono di competenza della Clinica oftalmologica universitaria di Tubinga (UAK, prof. Zrenner).

Lo sviluppo delle *tecniche chirurgiche* è affidato alla Clinica oftalmologica universitaria di Regensburg (UAR, prof. Gabel) e a quella dell'Università di Tubinga. Il principio-base del pro-

getto è rappresentato graficamente qui di seguito.

Se illuminati, i microfotodiodi (MPD) sviluppano un flusso di stimolazione, mediante il quale si possono "stuzzicare" elettricamente le cellule nervose. Come nella retina intatta, la luce in entrata si espande dapprima negli strati interni della retina e cade poi sui minuscoli fotodiodi. Dipendentemente dall'intensità della luce si forma un fotocorrente più o meno potente, che stimola le cellule nervose postconnesse alle cellule fotoricettrici, generando una percezione visiva.

La sistemazione degli innesti nello spazio subretinico non tinge le cellule fotoricettrici eventualmente ancora intatte, che possono quindi continuare a essere utilizzate fisiologicamente. L'obiettivo della comunità di ricerca Subret è di portare allo stadio dell'applicazione concreta il progetto di massima, ideato dall'oculista americano dott. Chow. La comunità Subret mira, in altre parole, a fabbricare dei microfotodiodi idonei, adattare ai modelli caratteristici di stimolo e risposta della retina i flussi generati dalla luce, esaminare la biocompatibilità e stabilità a lungo termine, sviluppare le tecniche operative per l'innesto e procedere alle successive prove funzionali. Per questo progetto il Ministero tedesco per la ricerca e la tec-

nologia ha stanziato a partire da ottobre 1995 un totale di 8 milioni di marchi tedeschi.

Lo sviluppo di microfotodiodi
I prototipi realizzati nel marzo 1996 dall'Istituto di microelettronica IMS di Stoccarda comprendono 7.000 microfotodiodi sistemati a scacchiera su un dischetto di 3 mm di diametro dello spessore di 50 millesimi di mm.

Ogni microfotodiodo è piccolo 20×30 millesimi di millimetro. Si ottiene così un "pacchetto" paragonabile ai fotocettori della periferia della retina. Presso l'Istituto di medicina biologica NMI di Reutlingen ognuno dei microfotodiodi viene munito di un elettrodo di stimolazione, incaricato di "stuzzicare" le cellule nervose. Gli elettrodi di stimolazione hanno uno spigolo di 10 millesimi di mm e sono fatti d'oro, iridio o nitrito di titanio. La superficie dei microfotodiodi è fatta di ossido di silicio, che lascia passare la luce e fa da isolamento elettrica.

La scelta di questi materiali si giustifica con i molteplici requisiti posti, in particolare: *a)* non devono corrodersi, cioè devono essere biostabili; *b)* immersi nei liquidi corporei, devono avere bassa resistenza elettrica, affinché la corrente di stimolazione possa fluire indisturbata dai fotoelementi ai liquidi fisiologici; le cellule nervose devono innestarsi stabilmente sulla superficie di contatto per garantire così un'efficiente trasmissione dell'impulso; *c)* si devono poter fabbricare con metodi microtecnologici; *d)* criterio principale è la loro biocompatibilità con il sistema nervoso.

I microfotodiodi stessi sono fatti di silicio, che può essere dotato di carica positiva o negativa. La prima generazione ha una dotazione PIN, cioè

appena c'è luce in entrata i microfotodiodi sistemati in superficie e orientati verso la luce si caricano positivamente. All'arrivo della luce, durante una frazione di secondo, si ha un flusso di corrente di stimolazione dalla parte anteriore alla parte posteriore dei fotodiodi, tramite il quale le membrane delle cellule nervose adiacenti polarizzano positivamente per breve tempo. Se l'impulso elettrico è abbastanza forte le cellule nervose arriveranno a generare neurotrasmettitori e quindi un transfert di segnali nervosi. A dipendenza del tipo di cellula adiacente, i neurotrasmettitori saranno emessi per corrente di stimolazione positiva o negativa. È pertanto importante che la carica elettrica generata dai microfotodiodi sia sufficiente a modificare di almeno un centesimo di volt il potenziale delle cellule nervose adiacenti.

Con la prima generazione di prototipi di microfotodiodi MPD, gli istituti UAK e NMI hanno già fatto i vari test in vitro e in vivo, gli esami riguardanti i materiali, i procedimenti e i prodotti in funzione dell'adattamento funzionale e dell'idoneità all'innesto nell'occhio. All'UAR si è invece provveduto a innestare in occhi di conigli primi prototipi di MPD e a misurarne le risposte elettriche.

Una seconda generazione di innesti consisteva di microfotodiodi NIP e PIN, in geometria alternata su un Array, e in grado quindi di produrre polarizzazione positiva e negativa delle adiacenti cellule nervose. La speranza è di ottenere una stimolazione differenziata delle cellule bipolari di attivazione e disattivazione. Questo ulteriore sviluppo, portato a termine nel settembre 1996 dal gruppo di lavoro dei proff. Höfflinger e Graf dell'IMS, dovrebbe rappresentare un migliora-

mento essenziale del concetto originario.

In culture di retina di polli e in culture di cellule retiniche sono momentaneamente allo studio diverse dimensioni di elettrodiodi come anche diversi tipi di sistemazione-organizzazione. I tipi di microfotodiodi che danno i migliori risultati verranno in seguito innestati in occhi di conigli e di ratti.

Ottimizzazione della trasmissione della carica e dei segnali

Attualmente sono in atto importanti sforzi per ottimizzare la trasmissione della carica elettrica dai microfotodiodi ai neuroni adiacenti. In quest'ambito gli istituti NMI e UAK stanno svolgendo una serie di esami fondamentali, di valenza esemplare per tutto il campo della neurobionica, rispettivamente della neurotecnica.

L'obiettivo della trasmissione ottimale sui tessuti nervosi di una carica minima generata da minuscoli microfotodiodi rappresenta una grande sfida. Sarà estremamente importante riuscire a rivestire la superficie dei fotodiodi in modo tale da indurre le cellule nervose dell'occhio ad aderire strettissimamente all'innesto. Già una fessura di qualche millesimo di mm produce una tale dispersione di corrente da impedire magari alle cellule di ricevere qualsivoglia stimolazione.

Per perfezionare il contatto si devono "legare" chimicamente delle molecole di proteine alla superficie dei fotodiodi in modo da poter dare in seguito dei comandi mirati per favorire l'adesione delle cellule nervose all'innesto. Bisognerà approfondire il tema della strutturazione del rivestimento degli elettrodi di stimolazione,

al fine di indurre le cellule nervose a "mettervi volentieri radici".

Grazie a brevi impulsi elettrici indiretti, emessi in serie, si può probabilmente ottenere un ulteriore miglioramento dello sfruttamento della piccola quantità di corrente di stimolazione presente. Il principio è stato scoperto dal dott. Stett, un biofisico attivo nella comunità Suhret. In questo contesto è interessante rilevare che anche nell'occhio sano, mediante brevi e rapidi movimenti degli occhi (flick) i fotoricettori trasmettono alle adiacenti cellule nervose dei segnali cadenzati. Con una continua alternanza chiaro/scuro sugli spigoli di contrasto si previene il fenomeno della stanchezza dei fotoricettori normali. Forse questo flick-flack degli occhi può essere sfruttato dal progetto Suhret per rendere più efficiente il trasporto dei segnali.

Biocompatibilità e stabilità a lungo termine dei materiali

Nonostante le misure precauzionali nella scelta dei materiali, nella geometria degli Arrays e nell'adattamento delle modalità di stimolazione, i chip rigidi di *silicio cristallino* possono, a lungo termine, danneggiare i tessuti nervosi.

Per prevenire tale fenomeno, parallelamente alla via imboccata da IMS e IPE, sono in corso degli studi per trovare delle tecniche innovative di rivestimento di lamine flessibili munite di microfotodiodi. Tali "pellicole" sono in grado di adattarsi alla geometria degli occhi.

Al momento sono in fase di sviluppo dei procedimenti per l'applicazione di strati di *silicio amorfo*, di pochi millesimi di mm di spessore, su membrane di titanio o di materiale sintetico - in analogia a quanto si fa nel-

la tecnica solare. Qui occorre prestare particolare attenzione alla biostabilità perché gli strati di rivestimento sono estremamente sottili e, a causa della loro composizione atomare, soggetti a corrosione. Il collaudo funzionale e di biostabilità di questi microfotodiodi flessibili si svolge analogamente a quelli previsti per i chip rigidi rivestiti di silicio cristallino, cioè tanto in culture di cellule e tessuti quanto in esperimenti animali.

Un concetto visionario prevede l'iniezione di una sospensione di singoli microfotodiodi dallo spigolo di 20×20 μm e spessi 5-10 μm .

Queste particole dovrebbero insediarsi, staticamente distribuite, nella fessura subretinica, stimolarne le cellule nervose adiacenti e garantire nel contempo un flusso incontrastato di sostanze nutrienti. Primi esperimenti con simili *Dummies* di silicio cristallino hanno già avuto luogo.

Decorso della degenerazione retinica e Retina-Implant

Condizione preliminare di ogni approccio di neurostimolazione è l'esistenza di cellule nervose ancora funzionanti, che possano servire da cellule-obiettivo per l'attracco del segnale di stimolazione. Per questo motivo è determinante trovare una risposta in merito al dove la retina si sviluppi nel corso del processo degenerativo RP. A tale scopo il dott. Kobler della Clinica oftalmologica universitaria, un noto esperto di istologia della retina, sta raccogliendo tutti i dati disponibili in materia. In questo contesto è pure di rilievo sapere se la stimolazione delle cellule nervose sviluppi un'influenza positiva o negativa sul processo di degenerazione della retina - una domanda cui si dovrà trovare una risposta tramite esperimenti animali.

Su Internet (<http://www.uni-tuebingen.de/uni/kaz/subret.html>) ci si può informare sullo stadio momentaneo delle ricerche Suhret e vedere le rispettive illustrazioni. Interlocutore principale è il prof. Eberhard Zrenner di Tnhinga.

PROVINCIA DI TORINO: UN TAVOLO DI CONFRONTO

Su esplicita richiesta anche della nostra associazione e grazie al clima positivo di dialogo e collaborazione da tempo esistente fra noi ed alcuni dirigenti della Provincia di Torino, atmosfera ulteriormente rafforzatasi in occasione del ciclo di conferenze "Iprovisione un pianeta inesplorato", è stato possibile avviare un tavolo di confronto fra le varie associazioni di disabili visivi e gli assessorati all'assistenza ed alla sanità dell'ente pubblico sopra menzionato.

Il primo incontro di questo organismo, che auspichiamo possa davvero diventare un autentico laboratorio di idee ed una fucina di iniziative, si è tenuto nel pomeriggio di giovedì 30 ottobre u.s. e subito abbiamo potuto riscontrare una buona disponibilità al lavoro comune anche da parte di alcune forze che io passato si erano invece dimostrate restie a questo tipo di collaborazioni.

Fin dal primo incontro sono state messe in cantiere diverse iniziative a partire da un'attiva sinergia fra le varie associazioni e la Provincia in vista della realizzazione di un percorso al bnio per i vedenti in occasione della mostra "Ability" tenuta al Lingotto fra il 28 ed il 30 novembre.

Nelle successive occasioni si è invece iniziato ad esaminare le idee e le proposte presentate dalla nostra associazione le quali potranno, almeno in parte, essere realizzate grazie al sostegno dell'istituzione pubblica. In particolare possiamo annunciare che sono usciti i bandi per le due borse di studio finanziate dalla Provincia di Torino a favore del comitato scientifico piemontese. Quest'anno, per la prima volta, è prevista anche una borsa di studio a favore di un giovane psicologo.