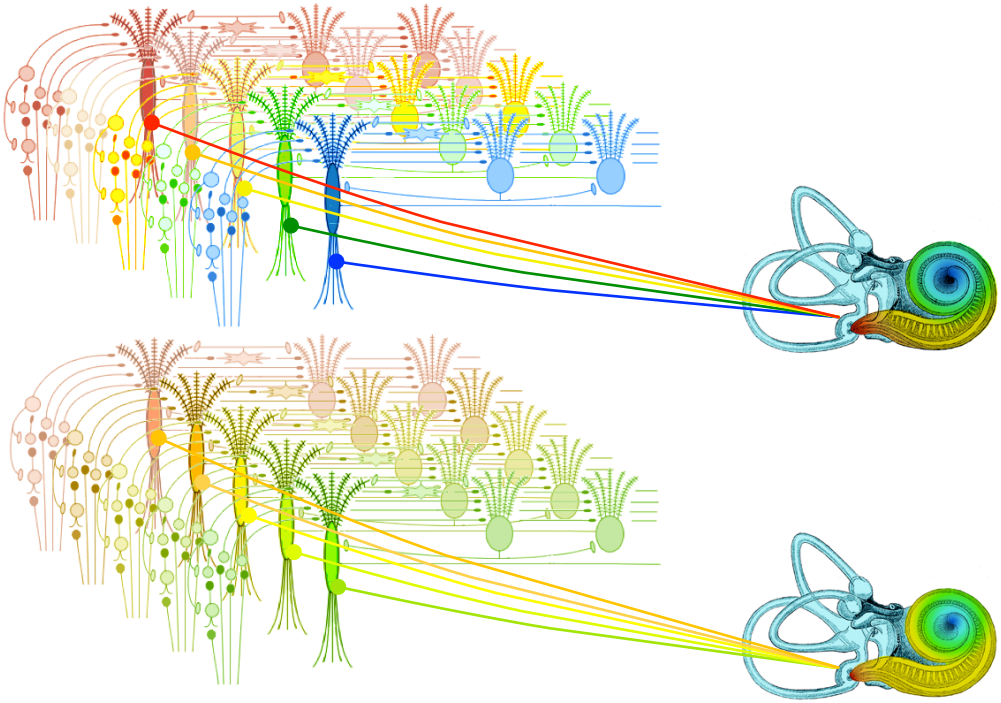
Acufeni, microglia e plasticità circuitale

Paola Perin – Università di Pavia



Non più inascoltati – qualcosa si muove - USA

Non più inascoltati – qualcosa si muove - EU

COST

European Cooperation
in the field of Scientific
and Technical Research
- COST -

Brussels, 22 November 2013

COST 046/13

MEMORANDUM OF UNDERSTANDING

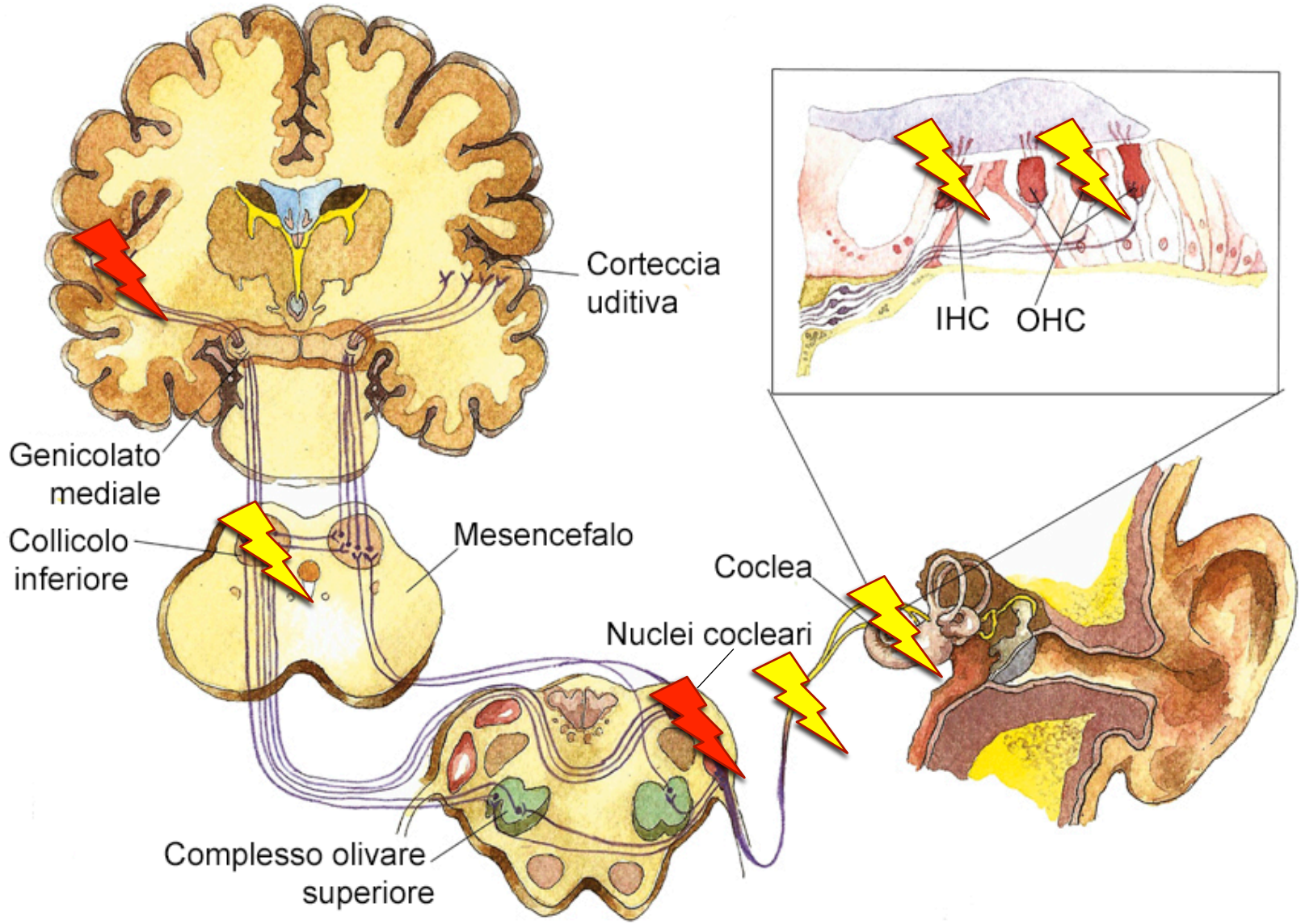
Subject : Memorandum of Understanding for the implementation of a European Concerted Research Action designated as COST Action BM1306: Better Understanding the Heterogeneity of Tinnitus to Improve and Develop New Treatments (TINNET)

Eterogeneità dell'acufene - TINNET

[…] La ricerca neuroscientifica ha portato a un cambio di paradigma dimostrando che l'acufene è conseguenza dell'alterata attività nervosa in specifici circuiti nel cervello anzichè un problema dell'orecchio. Basandosi sulla comprensione dell'acufene come problema cerebrale, promettenti approcci terapeutici preliminari sono stati sviluppati da singoli gruppi che partecipano a questa Azione.

Tuttavia, sviluppi ulteriori risultano difficili a causa dell'**eterogeneità dell'acufene** e della limitata conoscenza riguardo i **meccanismi neuronali** sottostanti ai diversi tipi di acufene. Questa Azione condurrà alla creazione di una rete multidisciplinare pan-europea con lo scopo primario di facilitare (1) l'identificazione di criteri significativi per classificare i sottotipi di acufene, (2) i meccanismi neurobiologici sottostanti ai diversi tipi di acufene e (3) la loro rilevanza per la risposta al trattamento. Queste conoscenze sono essenziali per lo sviluppo di nuovi approcci terapeutici, il loro studio clinico e la velocità di traduzione delle ricerche in prodotti commerciabili. […]

Sistema acustico ed acufene



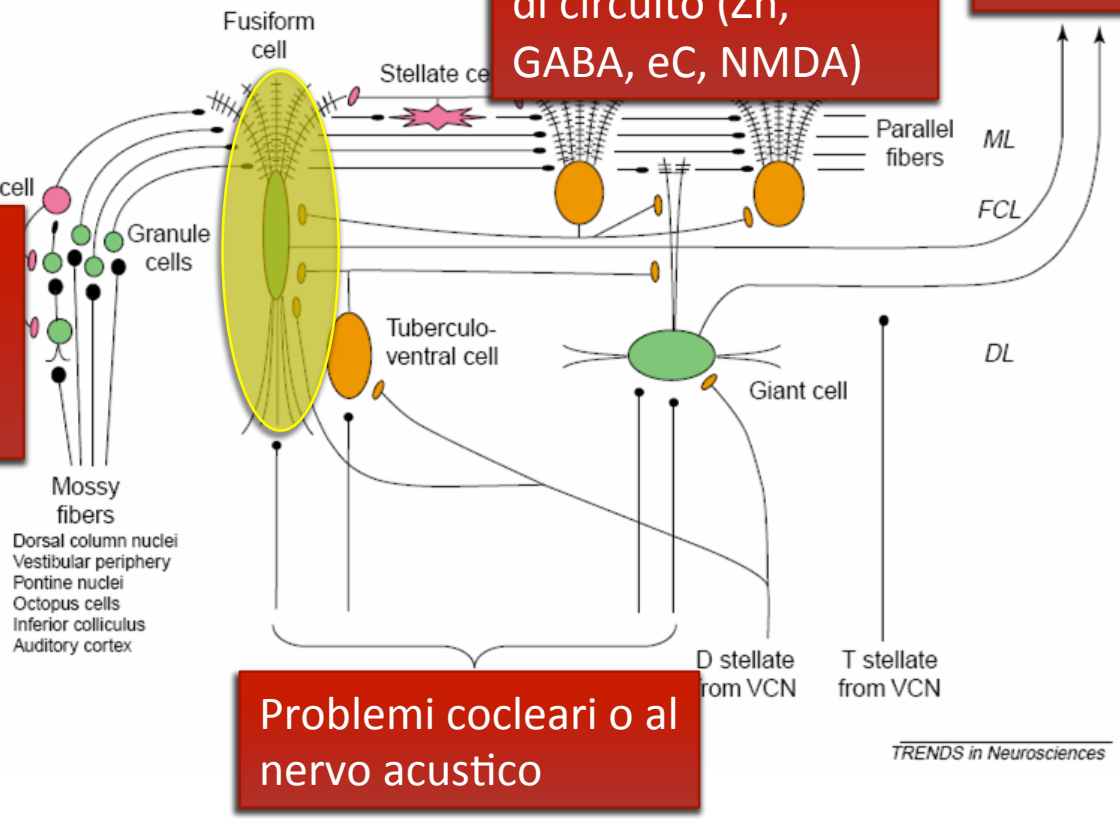
Eterogeneità degli acufeni e nucleo cocleare dorsale

L'insorgenza degli acufeni è correlata ad ipereccitabilità nel nucleo cocleare dorsale. I motivi per tale ipereccitabilità possono essere diversi ma convergono sulle cellule fusiformi.

Problemi intrinseci di circuito (Zn, GABA, eC, NMDA)

Cronicizzazione superiore

Problemi cocleari (OHC), corticali, somatosensoriali, vestibolari



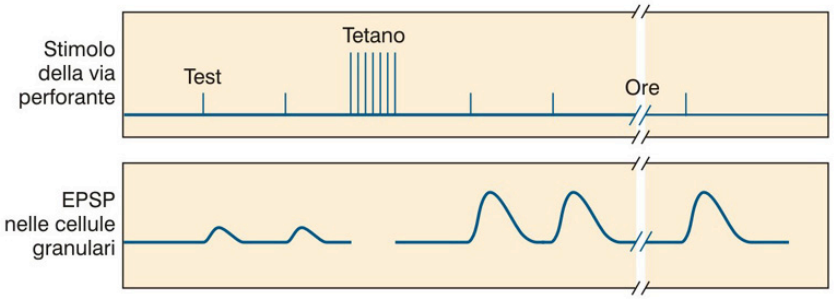
Problemi cocleari o al nervo acustico

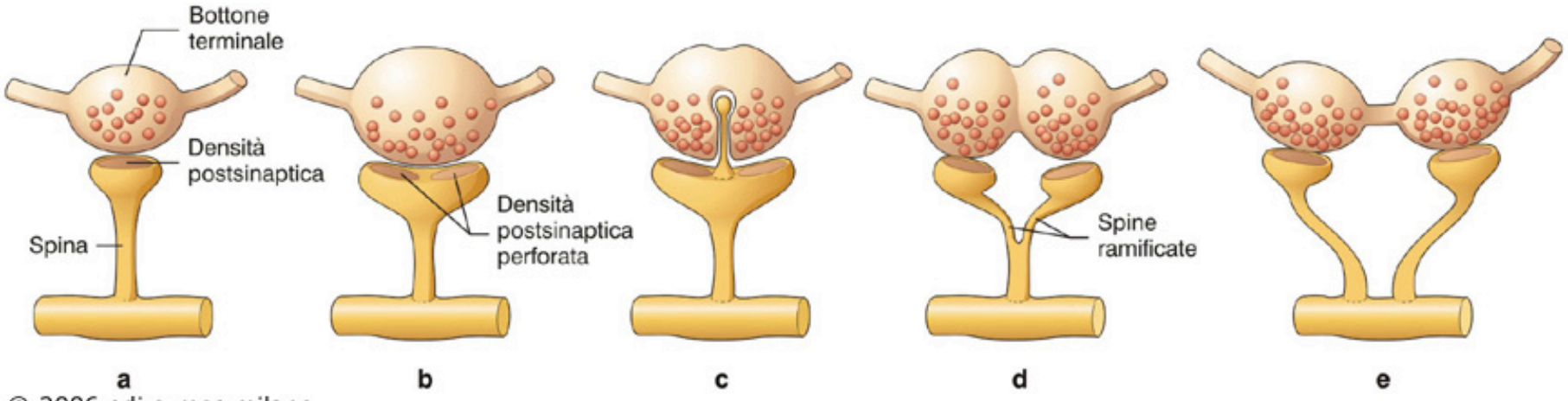
Plasticità sinaptica

Le risposte sinaptiche dei neuroni vengono modificate dall'esperienza

Plasticità a breve termine

Plasticità a lungo termine

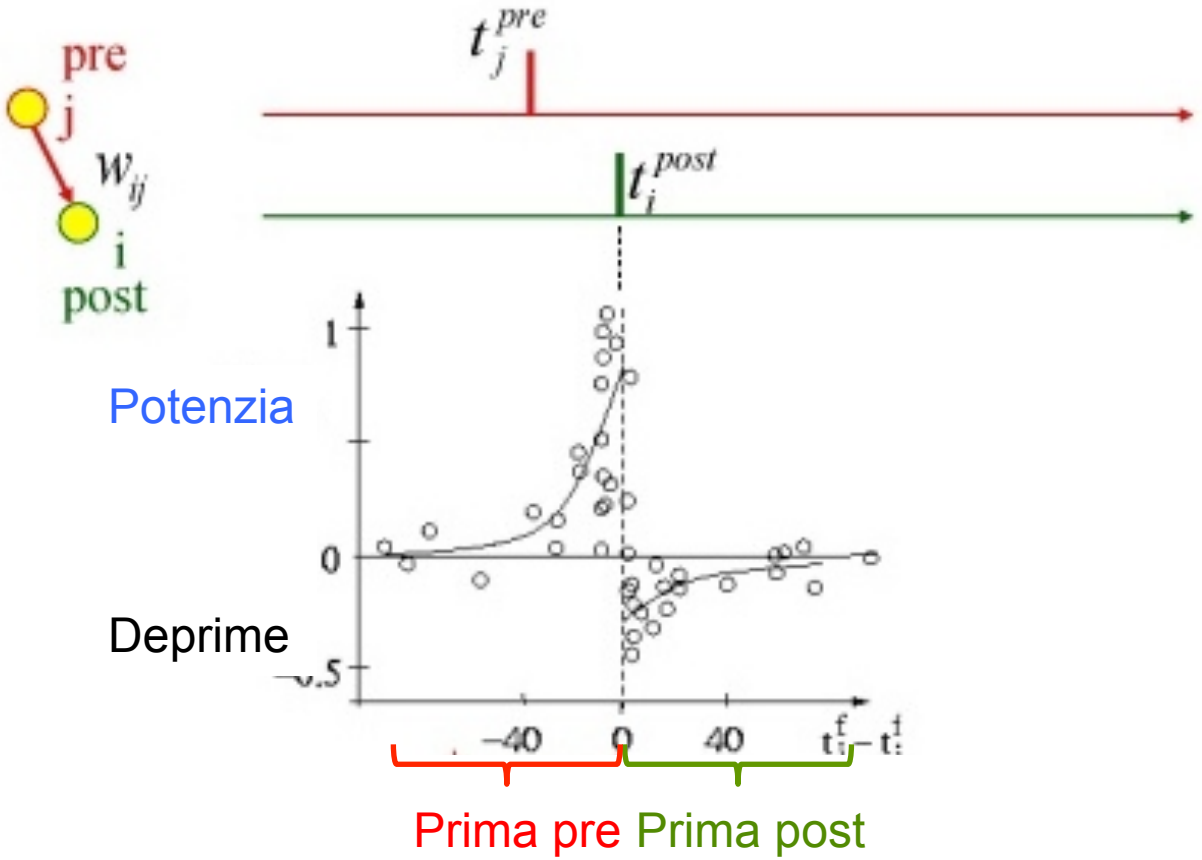




© 2006 edi.ermes milano

Chi regola la plasticità nervosa?

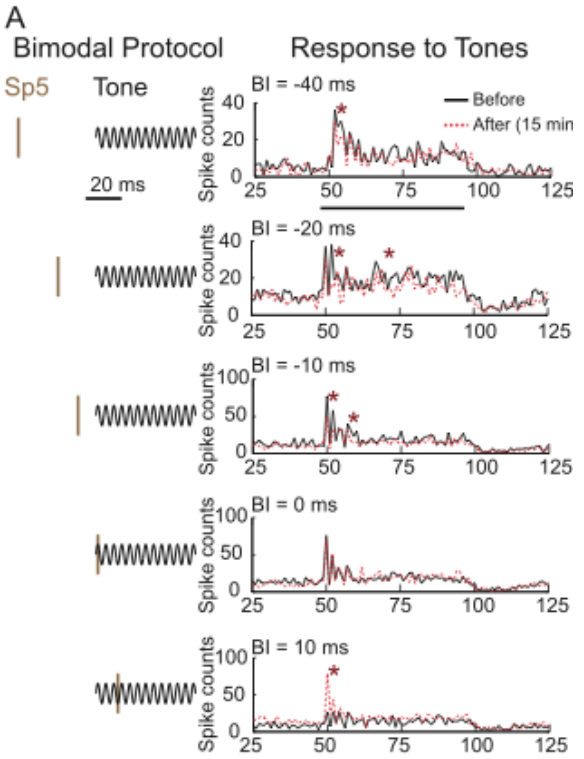
Ciascun neurone ha le sue regole per generare plasticità.
Le vie che determinano a livello molecolare queste regole sono ancora parzialmente da chiarire



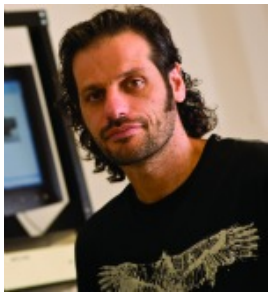
A cosa serve la plasticità nel nucleo cocleare dorsale?

Susan Shore

Koheler e Shore (2011, 2013)
L'attivazione del trigemino modula la risposta delle cellule fusiformi ai suoni in funzione del tempo tra i due segnali (<5ms)
Cancellazione dei suoni autogenerati (non si può assordarsi con le proprie urla).

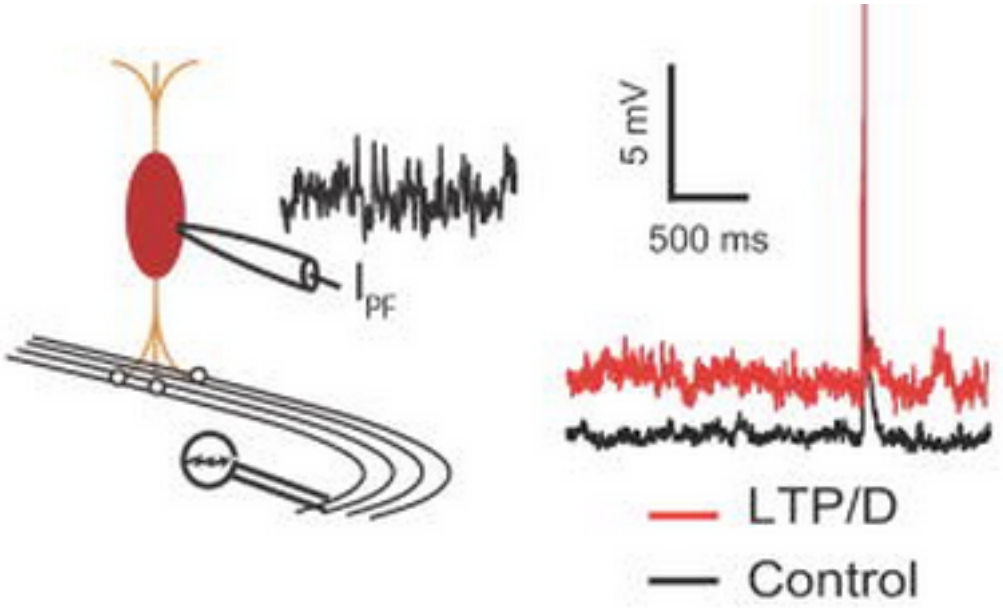


A cosa serve la plasticità nel nucleo cocleare dorsale?



Thanos Tzounopoulos

Tzounopoulos et al. (2004-2013)
Le sinapsi attivate dagli stimoli non sonori vengono potenziate sulle cellule fusiformi e depresse nei circuiti inibitori. La depressione delle sinapsi dipende dallo Zn e dagli endocannabinoidi.
Questo consente di regolare la soglia senza modificare il guadagno e il tempo di integrazione per ciascuna frequenza.



A cosa serve la plasticità nel nucleo cocleare dorsale?

Ian Forsythe

Pilati et al. 2013

Il trauma da rumore riduce (3-4d) la risposta delle cellule fusiformi ai suoni ma non agli stimoli non acustici.

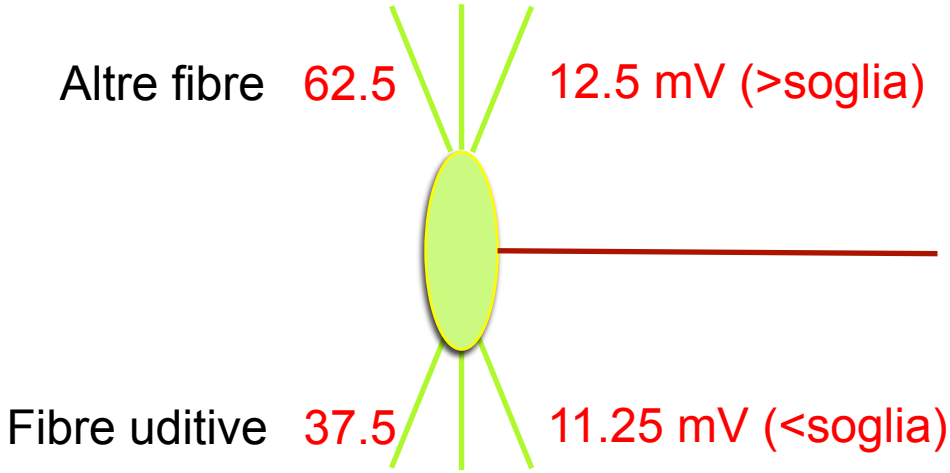
Ipotesi: la plasticità omeostatica delle cellule fusiformi porta a uno stato iperattivo in cui la risposta agli stimoli non acustici viene potenziata in modo abnorme.

Come questa plasticità induce acufene?

Dopo trauma da rumore o rimozione cocleare unilaterale l'integrazione dei segnali acustici e non acustici delle cellule fusiformi cambia (Shore).

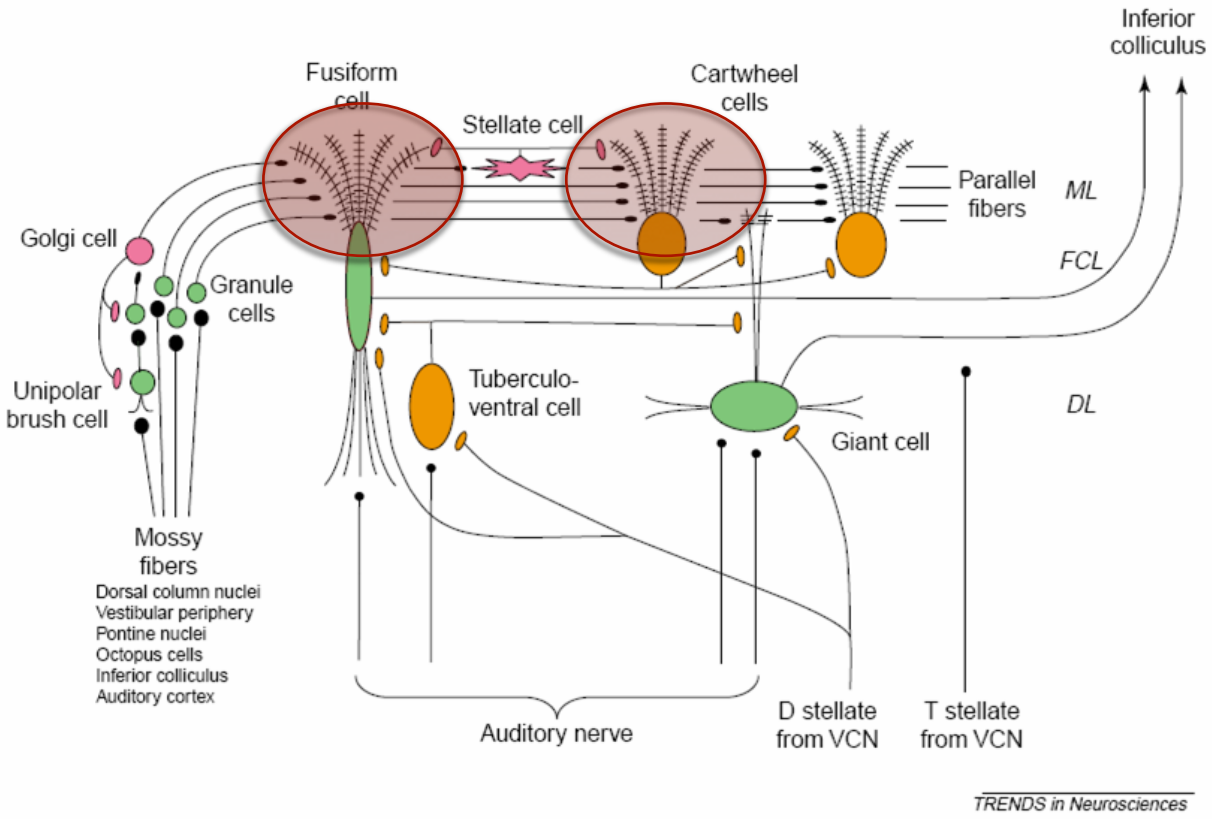
Dopo trauma da rumore la stimolazione degli input **non acustici** attiva una regione estesa del nucleo: perdita di inibizione (Tzounopoulos)

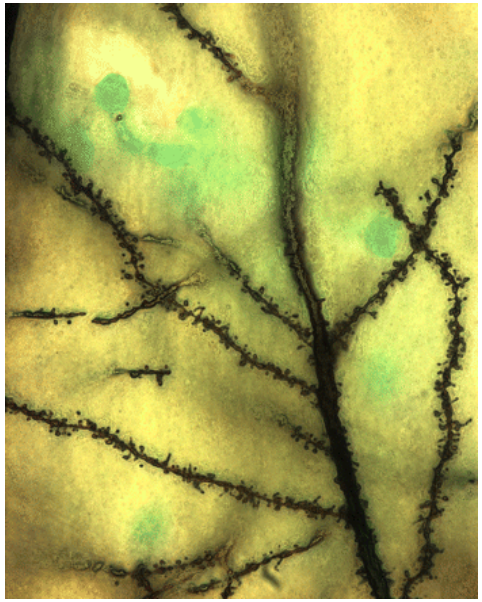
Dopo trauma da rumore le cellule delle frequenze interessate diventano iporesponsive ai suoni (Forsythe), e per plasticità omeostatica potrebbero diventare iperresponsive a stimoli non acustici.



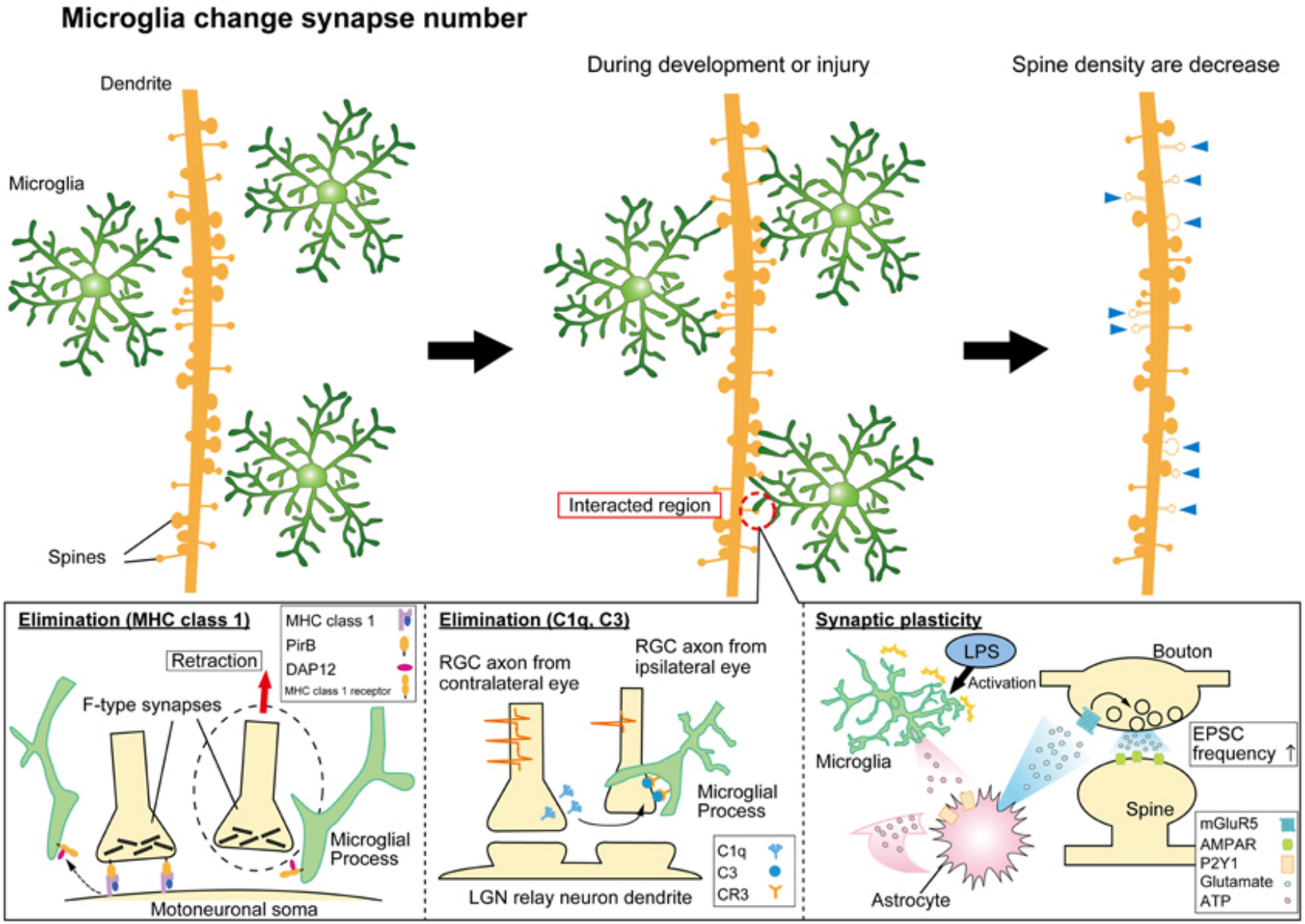
Si può tornare indietro? Aggiustando quali sinapsi?

Dati gli effetti nonlineari e cooperativi della plasticità, non si può tornare per la stessa strada.
Tentativi di cura farmacologica con bersagli sinaptici estesi (es. NMDA) hanno rivelato effetti limitati.

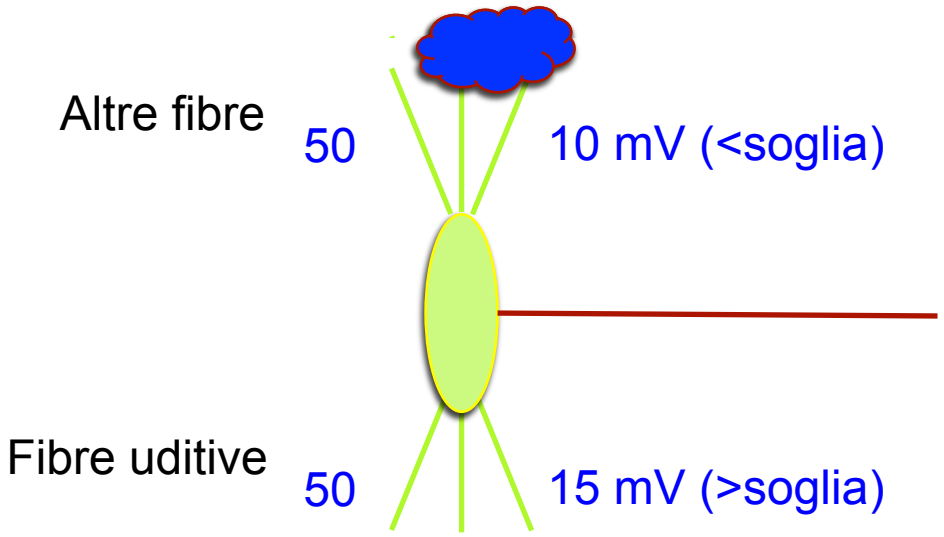




Spine sinaptiche e microglia



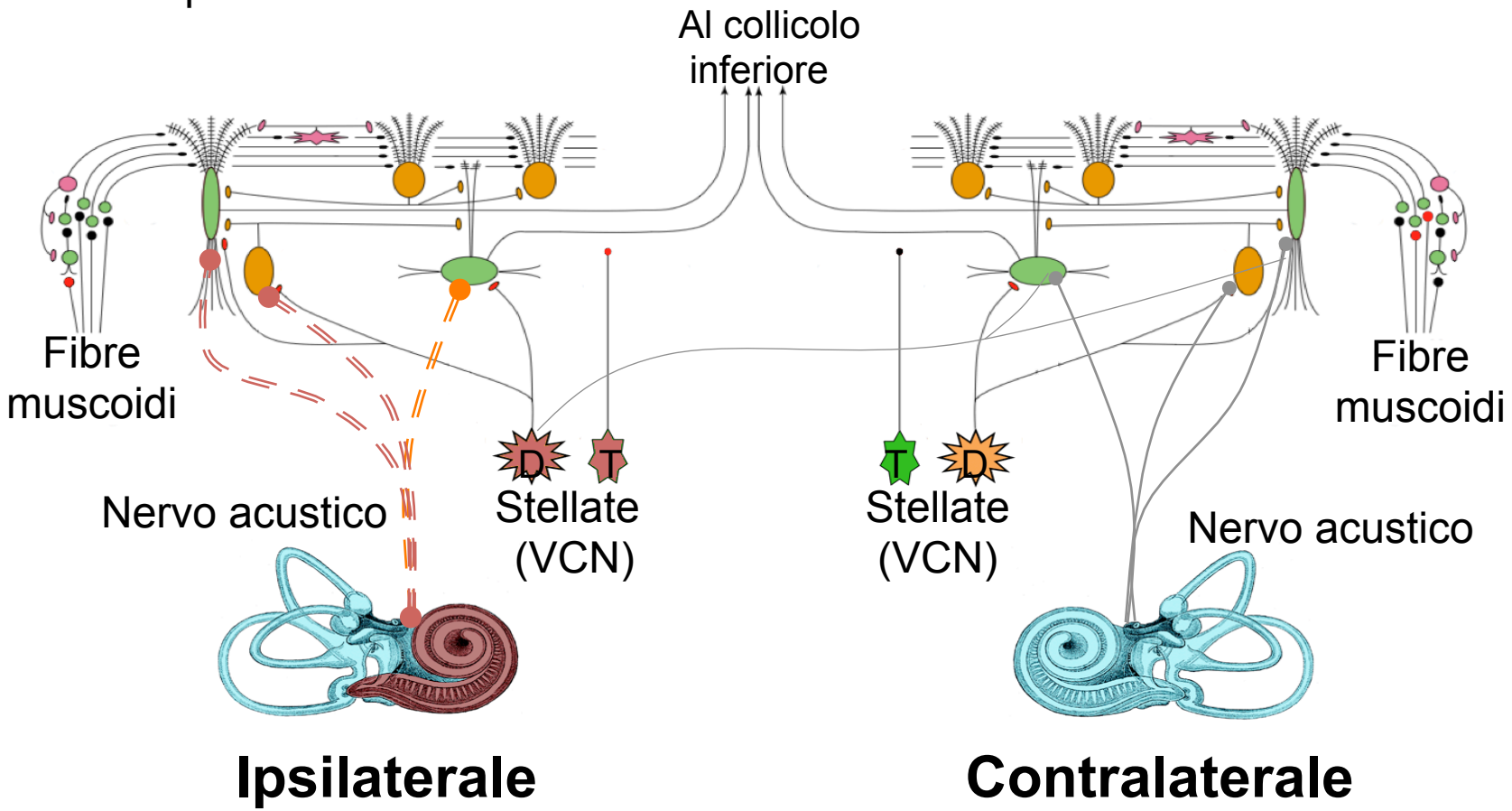
Come far regredire la scarica aberrante delle cellule fusiformi?



Funziona solo se la fusiforme non è completamente deafferentata

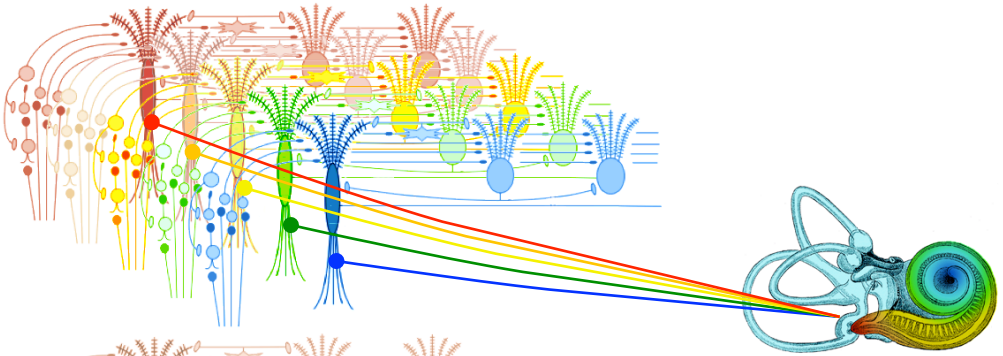
Modelli animali di acufene-distruzione cocleare

La distruzione unilaterale della coclea sbilancia i segnali provenienti dai due orecchi nei punti di incrocio.

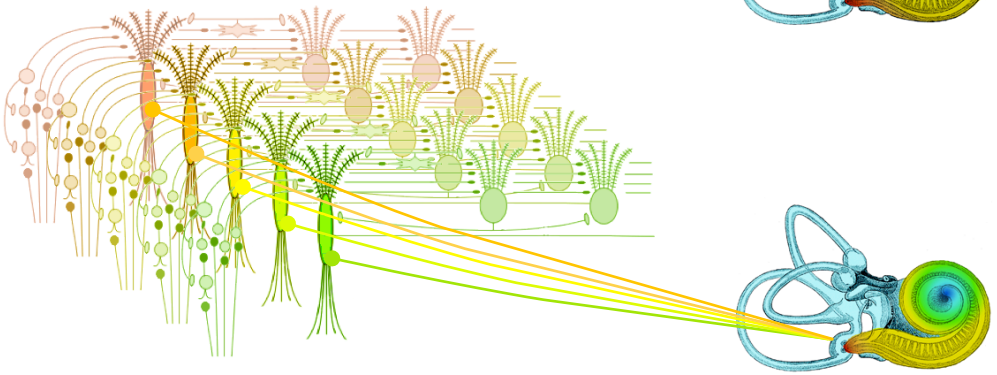


Modelli animali di acufene-salicilato

Il salicilato comprime e distorce il gradiente tonotopico della coclea bloccando l'amplificatore delle cellule ciliate esterne.

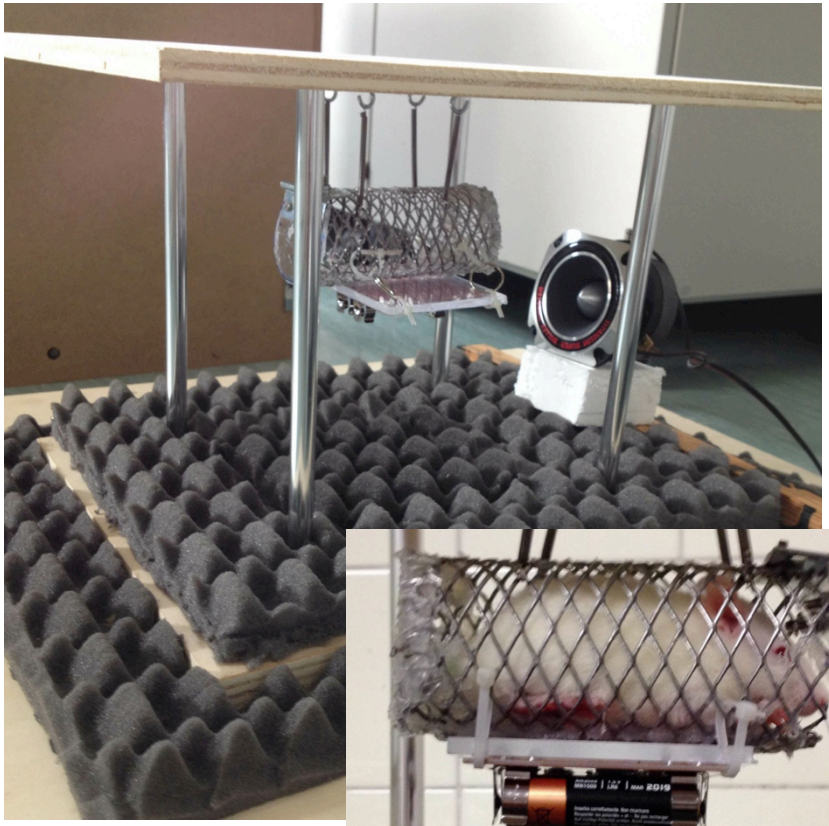


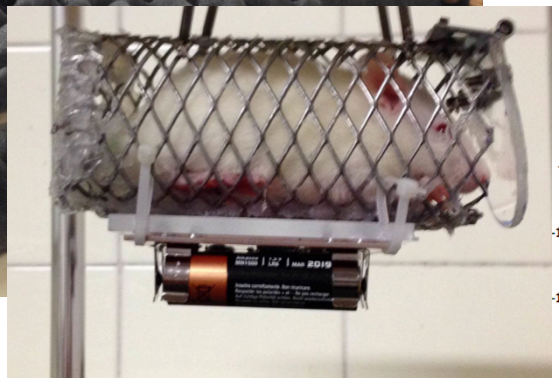
Controllo

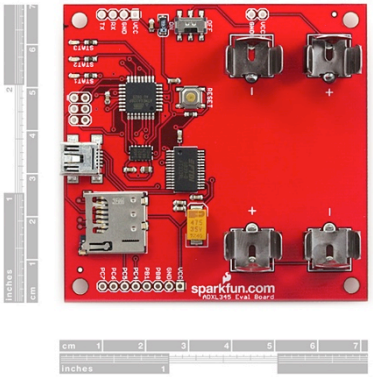


Salicilato

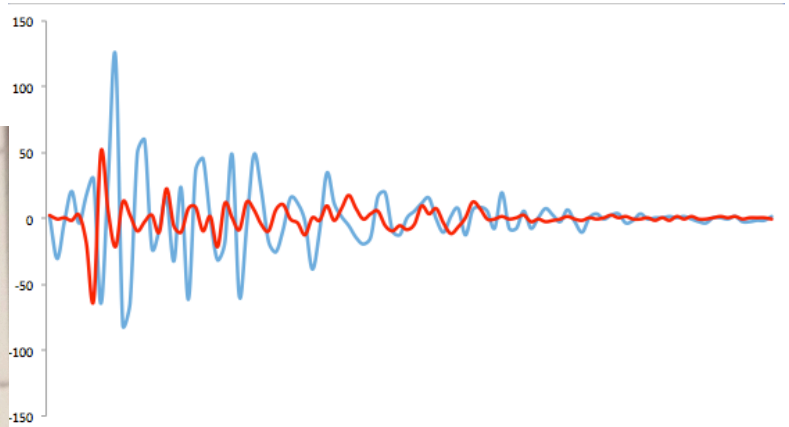
Gap-startle protocol





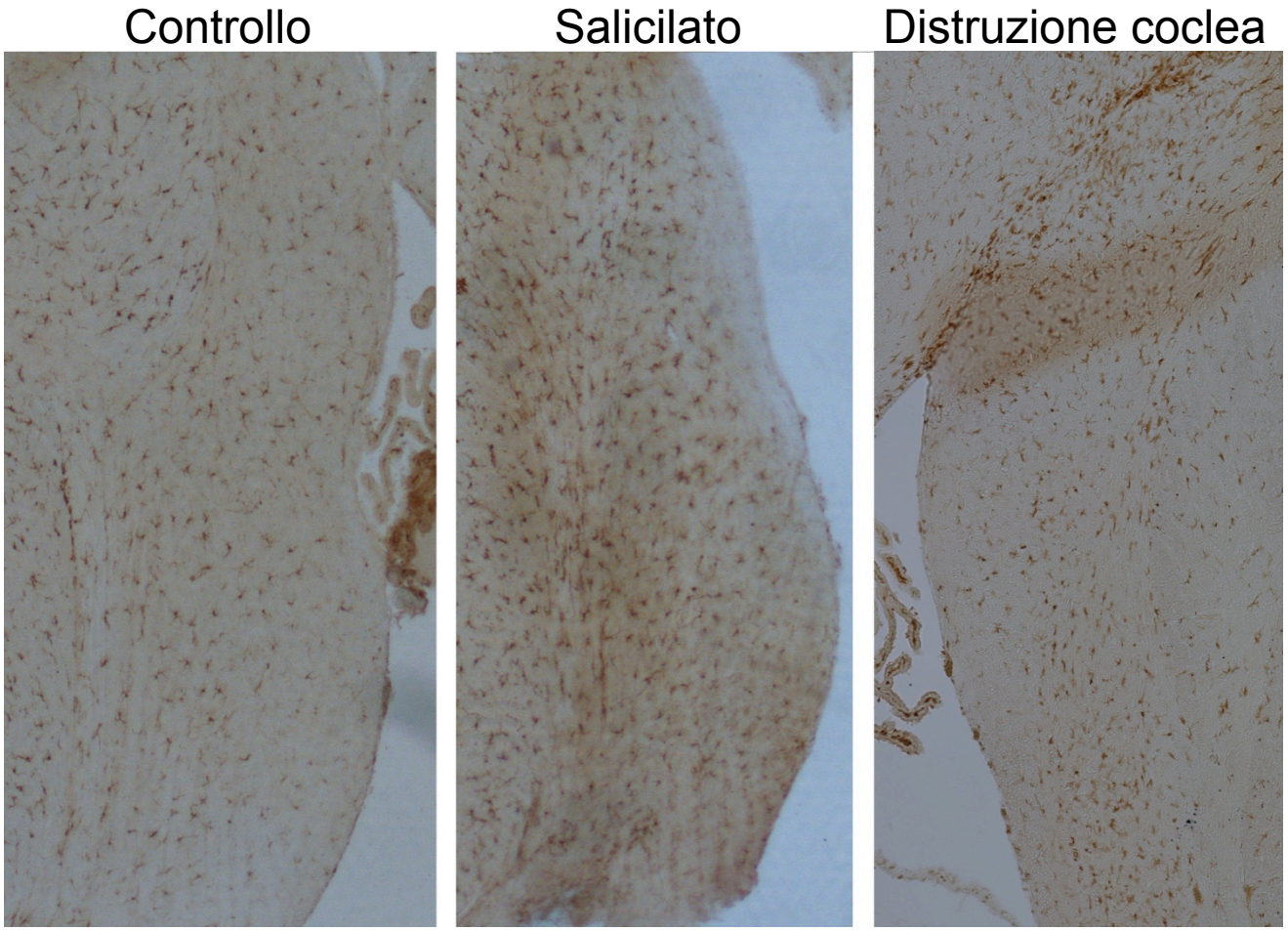


Il ratto è in una gabbia sospesa a molle e dotata di accelerometro che ne misura i movimenti, che viene rinchiusa in una camera insonorizzata



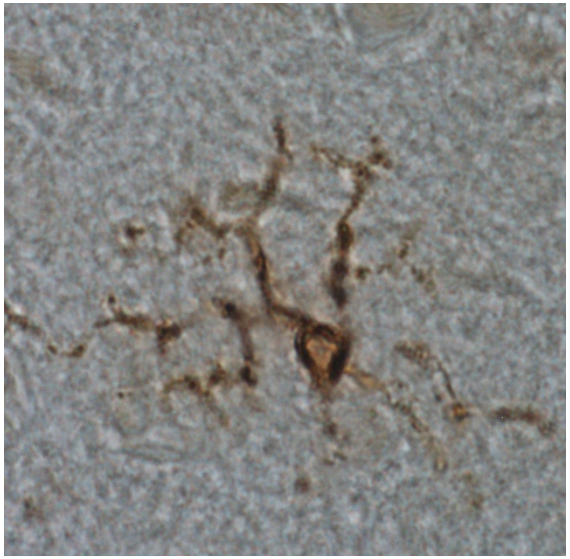
L'animale è esposto per 10 volte ad un suono debole (50 dB) di durata variabile e poi a un tono intenso (90-100 dB) preceduto da 50 ms di silenzio.
L'animale acufenico non sente il periodo di silenzio e si spaventa di più

Densità delle cellule microgliali nel DCN

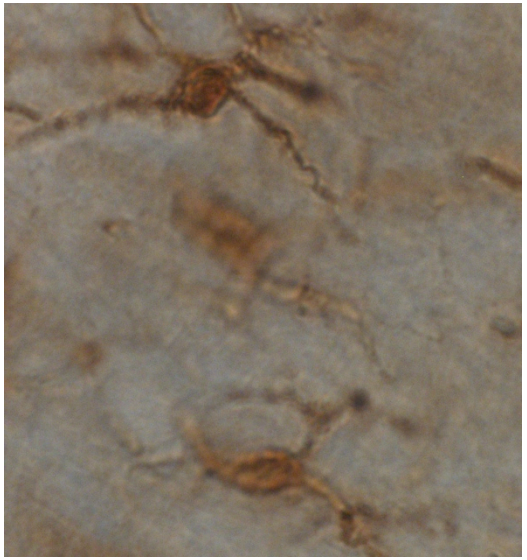


Morfologia delle cellule microgliali

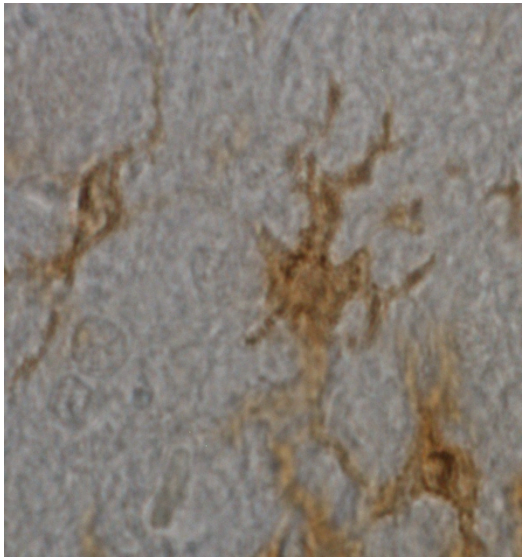
Controllo



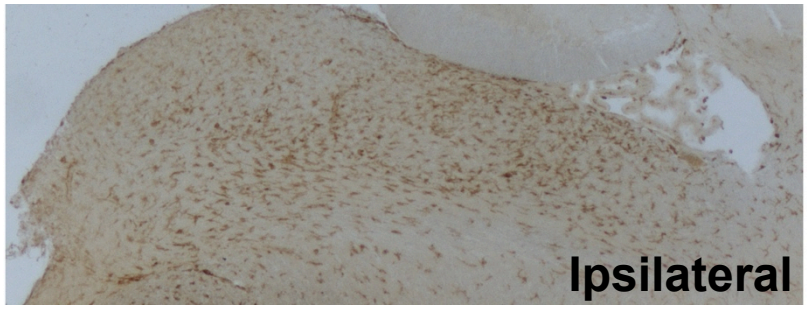
Salicilato

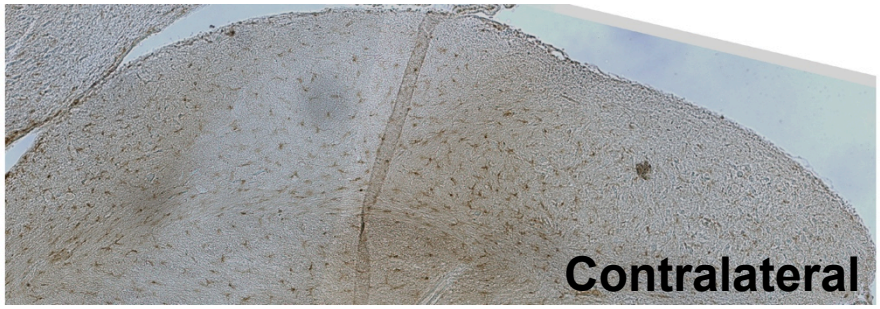


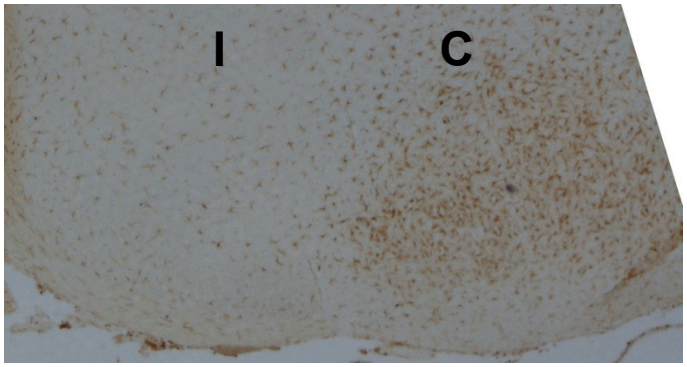
Distruzione coclea



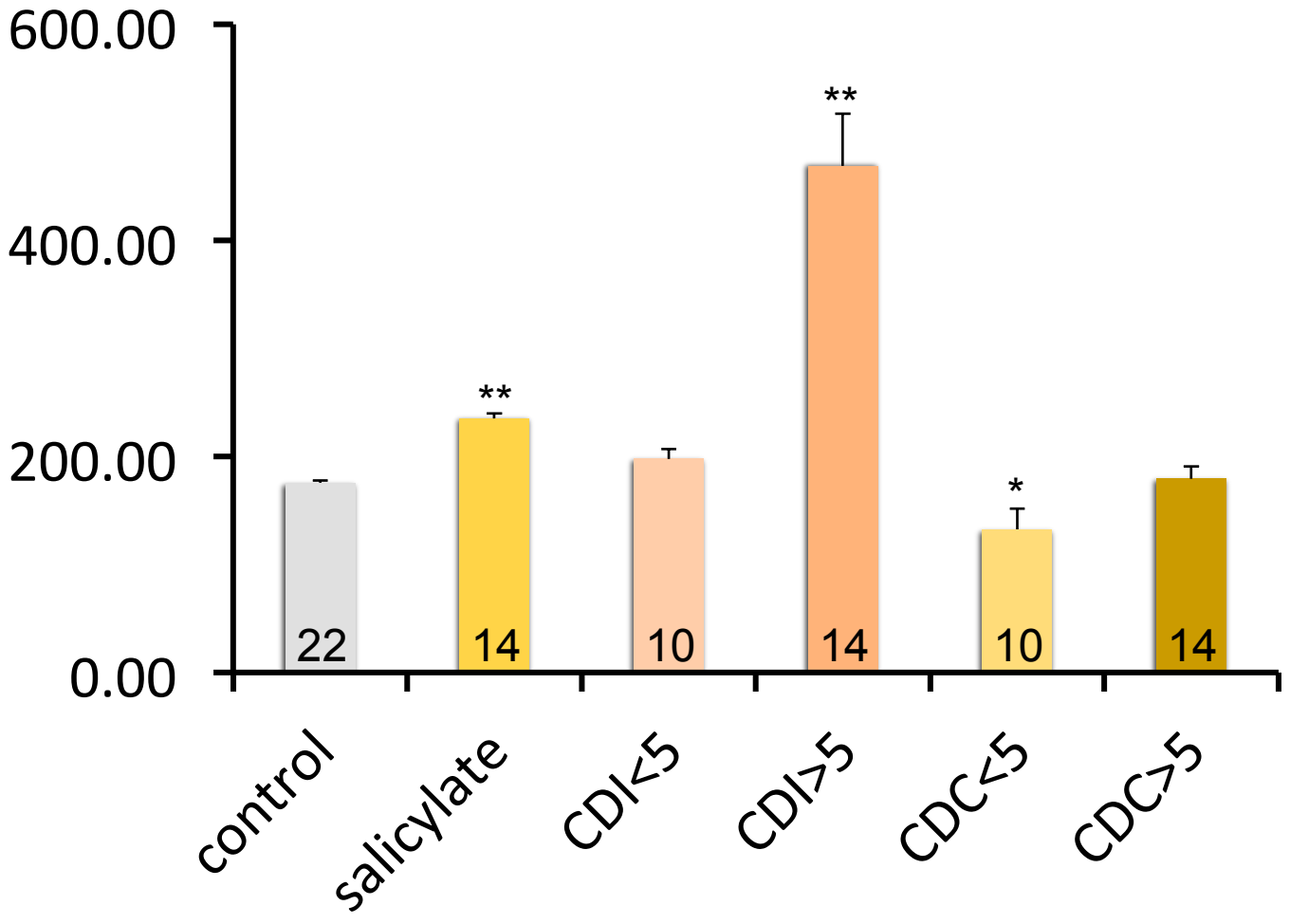
Altre regioni interessate





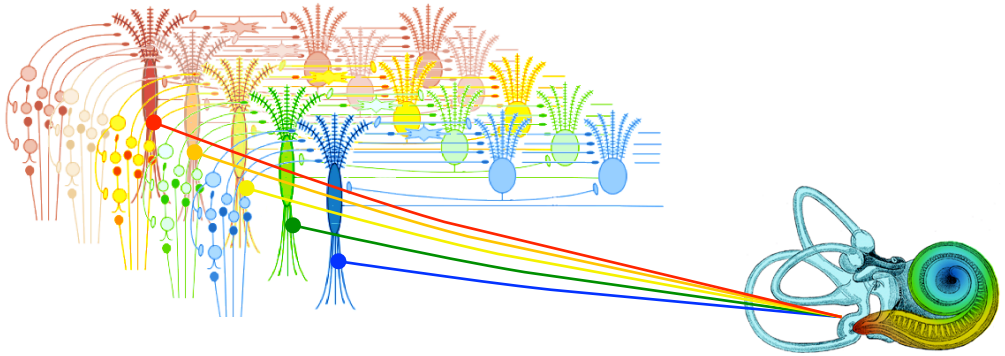


Densità delle cellule microgliali nel DCN

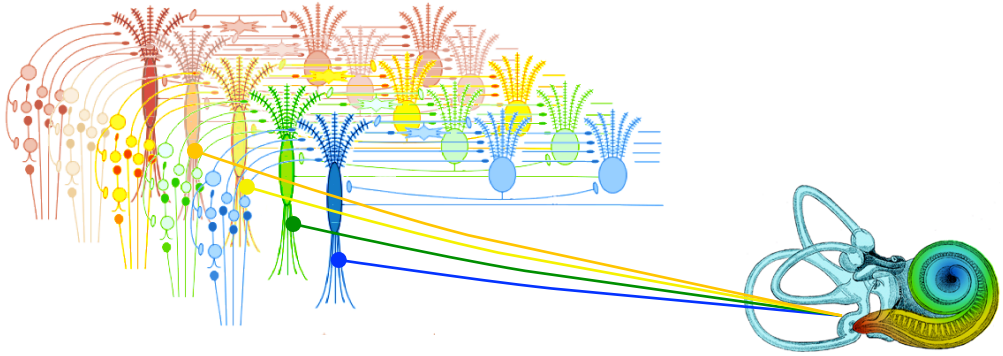


Modelli animali di acufene- il trauma da rumore

Il trauma da rumore effettuato con un tono puro elimina i segnali che riguardano una ristretta banda di frequenze

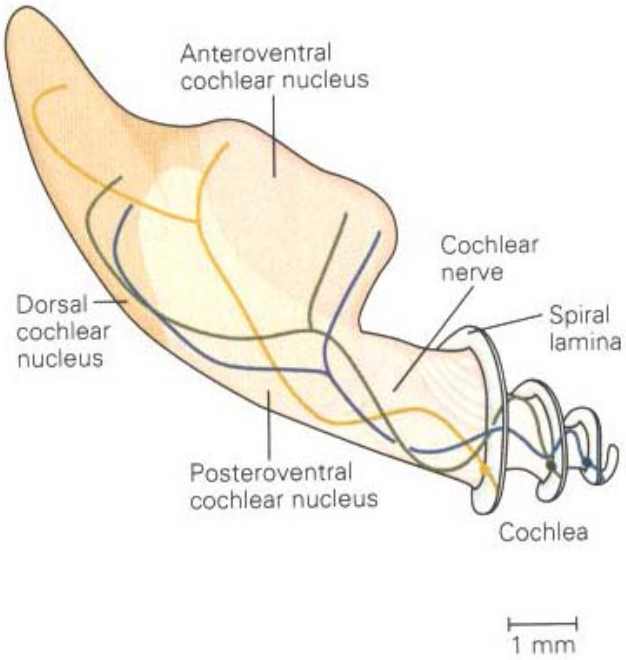


Controllo



Trauma

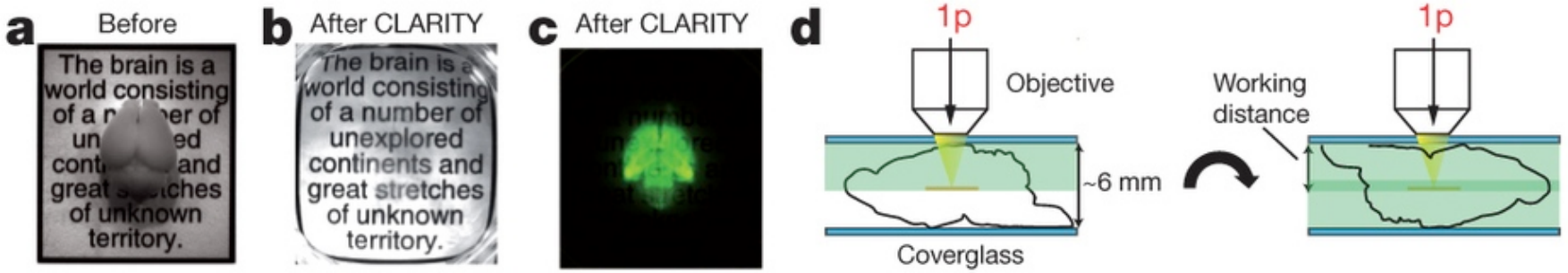
Problemi di ricostruzione

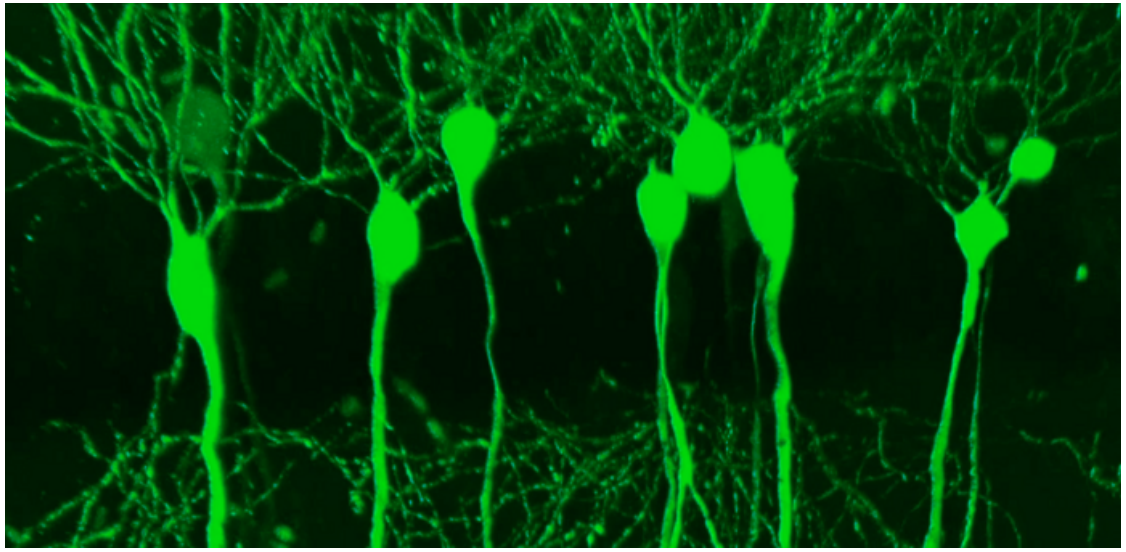


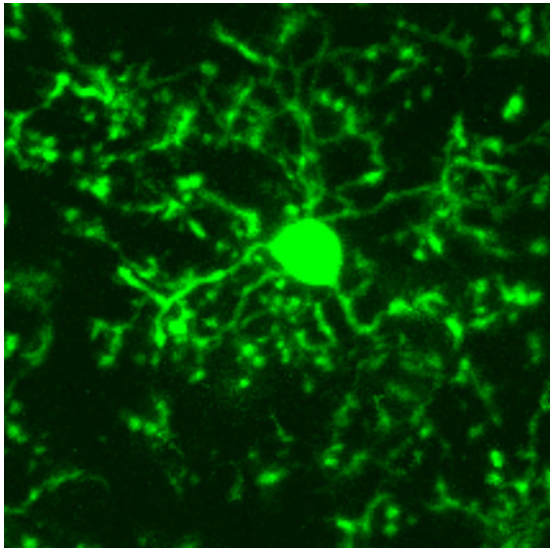
I nuclei cocleari sono avvolti su se stessi
Il trauma da rumore tocca una lamina ristretta di cellule

Le metodiche comunemente usate per visualizzare le cellule nei nuclei cocleari sono poco efficienti (se la sezione è tagliata nel punto sbagliato non si vede nulla)

CLARITY

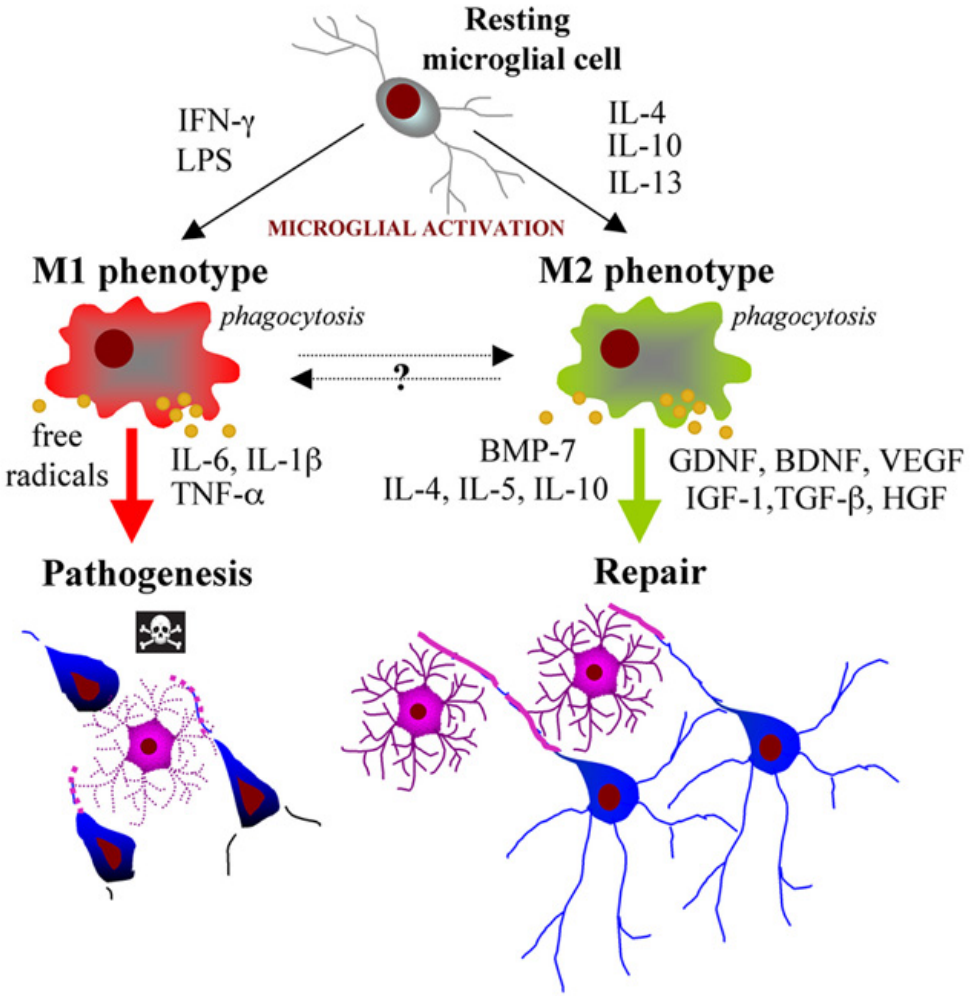






CX3CR-eGFP

Anche la microglia è eterogenea



Fino a pochi anni fa si riteneva che la microglia a riposo fosse omogenea e in seguito a stimoli potesse attivarsi in un percorso citotossico (M1) oppure in uno riparatore (M2)

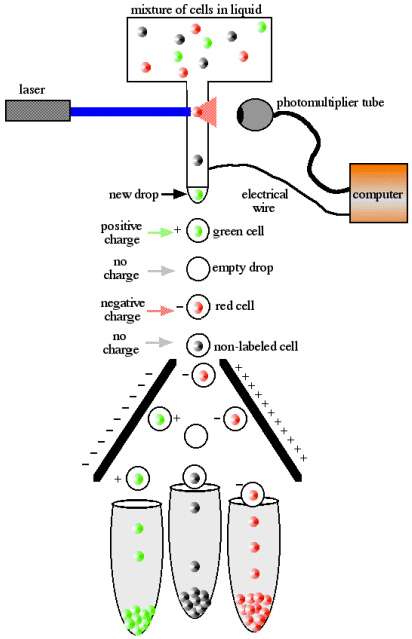
In realtà la microglia può attivarsi in uno spettro di molti fenotipi diversi, ciascuno dei quali con caratteristiche diverse.

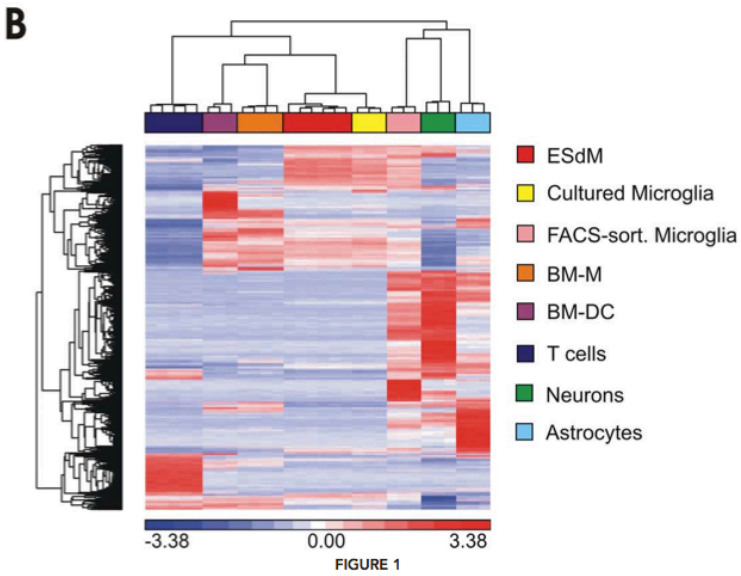
Analisi del trascrittoma microgliale

Il trascrittoma è l'insieme degli RNA trascritti in una cellula, ossia una misura di quali geni siano espressi nella cellula.

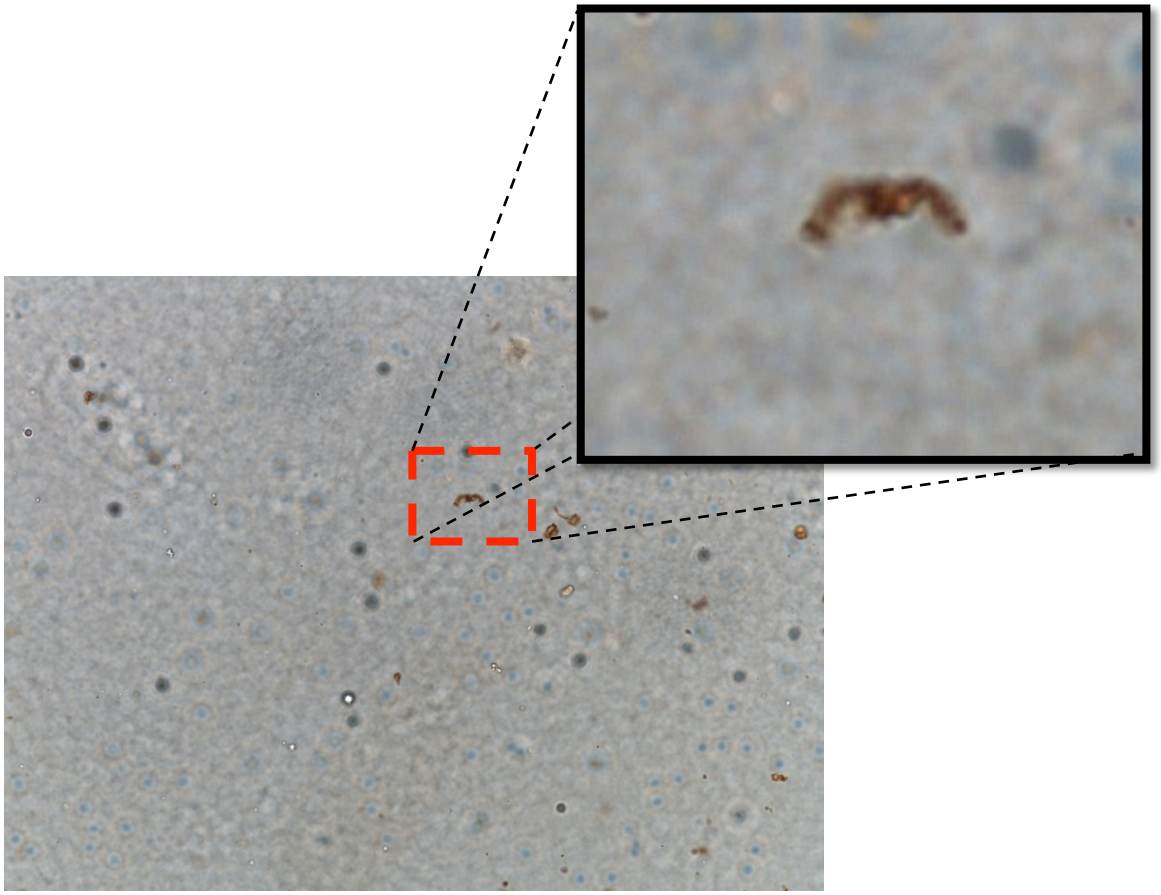
Siccome una cellula esprime migliaia di geni, l'analisi del trascrittoma richiede l'identificazione dei geni espressi e poi l'analisi del database per ottenere le differenze di espressione tra diverse condizioni

Le cellule microgliali verranno isolate dal DCN via cell sorting e poi analizzate





Colture di microglia



Abbiamo iniziato ad allestire colture primarie di microglia per poter modificare in modo preciso lo stato di attivazione delle cellule.

I trascrittomi delle cellule in coltura verranno confrontati con quelli delle cellule ottenute da animali di controllo e trattati per cercare di riprodurre in coltura i fenotipi presenti in vivo.

EUTI

www.eutinnitus.com
EUTi brings the European and international tinnitus self-help groups and associations together!
Click on the flags to enter the Infopages of the national Tinnitus Associations
Click here to enter EUTi
EUTi
EUROPEAN FEDERATION OF TINNITUS ASSOCIATIONS
Austrian Tinnitus Association
Belgian Tinnitus Association
Finnish Tinnitus Association
French Tinnitus Association
German Tinnitus Association
Hungarian Tinnitus Association
Irish Tinnitus Asocaiation
Netherlands Tinnitus Association
Norwegian Tinnitus Association
Spanish Tinnitus Association
Swedish Tinnitus Association
Swiss Tinnitus Association
United Kingdom Tinnitus Association
Danish Tinnitus Association
Italian Tinnitus Association
Polish Tinnitus Association
Lithuanian Tinnitus Association
Turkish Tinnitus Asscoiation
Announcement!
XI. INTERNATIONAL TINNITUS SEMINAR
21 – 24 MAY 2014 · BERLIN, GERMANY
ITS 14
Click on the image to get more informations!
Visitors: 109117
Test your Tinnitus!
Click here to enter the Mini-Tinnitus-Test
Aims of EUTI: EUTI wants to realize a union of all self-help and support groups for tinnitus, hearing problems, hyperacusis and Meniere's disease in Europe.
EUTI was founded in 2002 by representatives of self-help organizations from Austria, France, Germany, Sweden and Switzerland.
Another of EUTI's aims is to organize national and international meetings, which offer the opportunity to share recent knowledge and
results of research and discuss them. Training of volunteers and lay health workers is another item on the list of aims.

Risultati ottenuti

La microglia aumenta nel DCN dopo trattamenti che inducono acufene nel ratto

L'aumento è accompagnato da una variazione nello stato di attivazione

Dopo distruzione cocleare l'aumento della densità microgliale è ritardato di qualche giorno

L'aumento non è limitato ai nuclei cocleari ma ci sono variazioni nelle strutture limitrofe

Sviluppi futuri

Immediati

Caratterizzazione della distribuzione della microglia nel DCN diafanizzato dopo trauma da rumore

Caratterizzazione del trascrittoma della microglia nel DCN in condizioni di riposo e dopo trattamenti che inducono acufene

Caratterizzazione della migrazione delle popolazioni microgliali in seguito a trattamenti che inducono acufene

A lungo termine
Effetti della “riprogrammazione” microgliale sull’acufene