



---

**Universidad de Valladolid**

FACULTAD DE MEDICINA

# **Máster en Rehabilitación Visual**

MEMORIA TRABAJO FIN DE MÁSTER TITULADO

“Modelos experimentales de investigación en patología retiniana causante de baja visión”

Presentado por: Ada Gabriela Hernández Gámez

Tutelado por: Ricardo Usategui Martín

En Valladolid a, 24 de junio del 2019

## Agradecimientos

Al Dr. Ricardo Usategui Martin por ser mi tutor y guiarme en el desarrollo y realización de este trabajo.

Al personal docente del Máster de Rehabilitación Visual que, sin haberlos conocido personalmente me han dejado muchas enseñanzas y motivación.

A Alejandro, gracias por tu paciencia, tu motivación y amor en cada paso profesional y personal que doy.

A mi madre por el apoyo incondicional que siempre me brinda, por ser mi ejemplo para seguir.

A Victor, por siempre estar al pendiente de mí.

A Alicia por ser la mejor hermana.

Al resto de mi familia, por motivarme a seguir desarrollándome como profesional y persona.

## Glosario de términos y abreviaturas

BVS: Biblioteca virtual de la salud.

DMAE: Degeneración macular asociada a la edad.

EPR: Epitelio pigmentado de la retina.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

RD: Retinopatía diabética.

ROP: Retinopatía del prematuro.

RP: Retinosis pigmentaria.

VEGF: Factor de crecimiento vascular endotelial.

DM: Diabetes mellitus.

# 1. Índice

<b>Agradecimientos.....</b>	<b>2</b>
<b>Glosario de términos y abreviaturas.....</b>	<b>3</b>
<b>1. Índice .....</b>	<b>4</b>
<b>2. Resumen .....</b>	<b>5</b>
<b>3. Introducción .....</b>	<b>6</b>
<i>Patología retiniana causante de baja visión .....</i>	<i>7</i>
Degeneración macular asociada con la edad. ....	7
Retinopatía diabética. ....	8
Glaucoma.....	9
Maculopatía miópica .....	10
Retinosis pigmentaria (RP) .....	10
<i>Justificación.....</i>	<i>11</i>
<b>4. Objetivos .....</b>	<b>12</b>
<b>5. Metodología.....</b>	<b>13</b>
<b>6. Resultados.....</b>	<b>14</b>
<b>Modelos experimentales.....</b>	<b>14</b>
<i>Modelos experimentales in vitro.....</i>	<i>14</i>
<i>Modelos experimentales in vivo.....</i>	<i>17</i>
Enfermedades hipóxicas de la retina. (RD, ROP, Oclusiones vasculares) .....	17
Retinosis pigmentaria .....	18
Glaucoma.....	20
Degeneración Macular Asociada a la Edad.....	23
<b>7. Discusión .....</b>	<b>27</b>
<b>8. Conclusiones.....</b>	<b>29</b>
<b>Bibliografía .....</b>	<b>30</b>

## 2. Resumen

**Introducción:** La baja visión es una condición que puede acompañarse de una menor calidad de vida y mayor riesgo de muerte. Existen muchas patologías conocidas como causantes de baja visión, entre ellas las patologías de la retina que son las causantes de baja visión y/o ceguera en alrededor de 18 millones de personas alrededor del mundo. Estas patologías hasta el momento no tienen un tratamiento definitivo, por lo que generan un déficit no reversible.

**Objetivo:** Describir y discutir los modelos de investigación utilizados para el estudio de enfermedades retinianas causantes de baja visión.

**Metodología:** Se realizó una búsqueda en el idioma inglés en distintos buscadores con las palabras clave.

**Resultados:** Se encontró abundante información acerca de diversos modelos *in vitro* e *in vivo* utilizados para el estudio de las patologías de la retina causantes de baja visión.

**Conclusiones:** Gracias a la investigación en modelos se ha logrado probar distintos medicamentos que pueden mejorar de forma transitoria las condiciones visuales de los pacientes.

Sin embargo, aún no existe un tratamiento definitivo para estas patologías, por lo que es importante continuar la investigación con el objetivo de poder mejorar la calidad de vida y en el mejor de los casos encontrar una cura efectiva.

### 3. Introducción

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define baja visión como “la existencia de una agudeza visual corregida inferior o igual a 6/18 (20/60 en anotación americana o 0.3 en anotación decimal) en el mejor ojo incluso después de tratamiento, refracción común o ambas; pero que existe un resto visual potencialmente utilizable para la planificación y ejecución de tareas (AV igual o mejor que 3/60 o 0.05 en anotación decimal y 20/400 en anotación americana en el mejor ojo con la mejor corrección)”. Además, se incluyen a las personas que cuentan con un campo visual inferior a 10º desde el punto de fijación. (1)

El presentar baja visión o ceguera se relaciona con una menor calidad de vida y un mayor riesgo de muerte. (2)

Existe una subcategoría de la baja visión llamada ceguera legal, esta se refiere a un paciente que presenta una visión menor a 0.1 o un campo visual menor a 10º, esta terminología se aplica en países como España y México. Sin embargo, en Estados Unidos o Inglaterra toman un campo visual menor de 20 º para incluir a los pacientes en esta categoría. (1)

Según la Organización mundial de la salud (OMS) en 2015 existían 36.0 millones de personas con ceguera, mientras que 216.6 millones de personas presentan discapacidad visual de moderada a severa. En general, las primeras causas de baja visión son reversibles o tratables como son las cataratas y/o errores refractivos. Sin embargo, en personas de más de 50 años la tercera causa de ceguera documentada es el glaucoma y la tercera causa de discapacidad visual fue la degeneración macular asociada con la edad (DMAE). (3)

Existen diversas patologías que pueden ocasionar visión baja y se pueden clasificar por el área del ojo donde se presentan, por lo tanto, se pueden agrupar en patologías del polo anterior o patologías del polo posterior o retinianas.

Las principales patologías retinianas causantes de baja visión son glaucoma, DMAE, retinopatía diabética (RD), esta última ha ido aumentando la prevalencia al aumentar el número de casos de personas con diabetes mellitus a nivel mundial. (3)

Hasta 2015 se han reportado 2.9 millones de personas con ceguera por glaucoma, mientras que de las personas con discapacidad visual 8.4 millones tienen diagnóstico de DMAE, 4.0 millones de personas con glaucoma y 2.6 millones de personas con RD. (3)

Para 2020 se estima que las causas de discapacidad visual serán: DMAE (8.8 millones), glaucoma (4.5 millones) y RD (3.2 millones). Mientras que las causas de ceguera será el glaucoma con 3.2 millones de personas. Estas causas pueden variar según los países. (3)

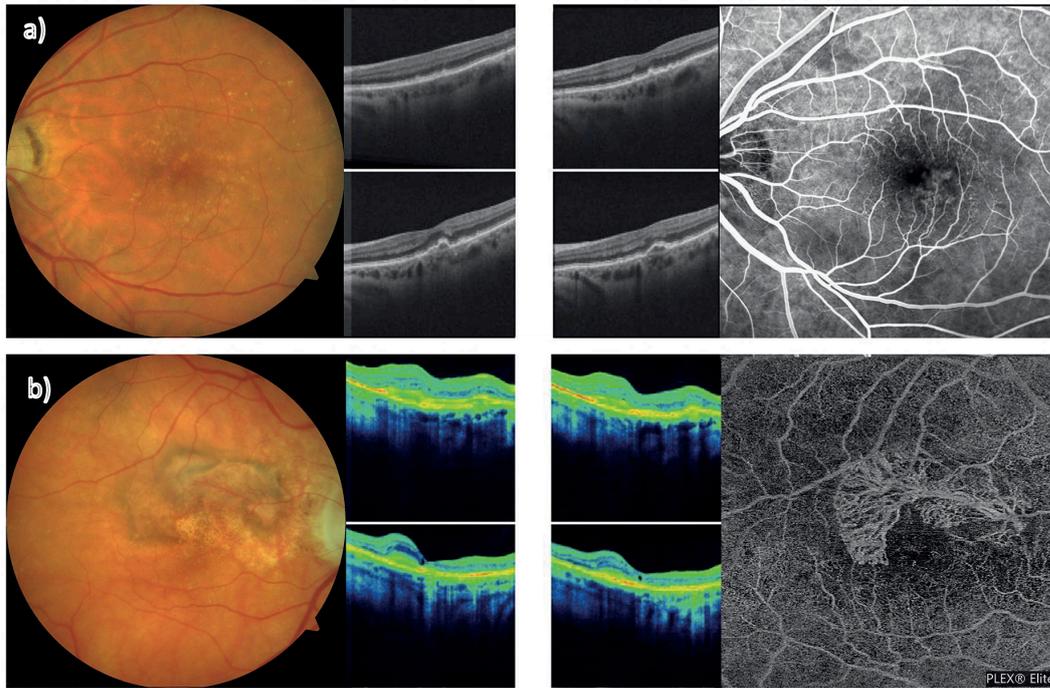
### Patología retiniana causante de baja visión

La DMAE, glaucoma, RD, agujero macular, maculopatía miópica y algunas distrofias o degeneraciones retinianas se asocian con el desarrollo de baja visión. Estas patologías en su mayoría no cuentan con un tratamiento definitivo, es decir, no son reversibles, son progresivas y muchas veces devastadoras. (3)

#### Degeneración macular asociada con la edad.

Es una condición que afecta a la mácula, viéndose afectada la visión central. (Ilustración 1). Se estima que para el año 2020 existan 200 millones de personas alrededor del mundo con el diagnóstico de DMAE, y 300 millones en el año 2040. (4)

Se clasifica en fase seca o fase húmeda, refiriéndose a la fase húmeda a la existencia de neovascularización, mientras que en el caso de la fase seca se observan drusas, atrofia macular, entre otros signos. Es la tercera causa de pérdida visual irreversible a nivel mundial, sin embargo, la severidad de presentación y el grado de discapacidad visual han disminuido con la aparición del tratamiento con antiangiogénicos para los pacientes que presentan la variedad húmeda. Para la variedad seca no se cuenta con un tratamiento que pueda mejorar el pronóstico visual de los pacientes. (Ilustración 1) (4)



*Ilustración 1 Degeneración Macular Asociada a la Edad. a) Fotografía de fondo de ojo, OCT y angiografía de la variante seca. b) Fotografía de fondo de ojo, OCT y angiografía de variante húmeda. (4)*

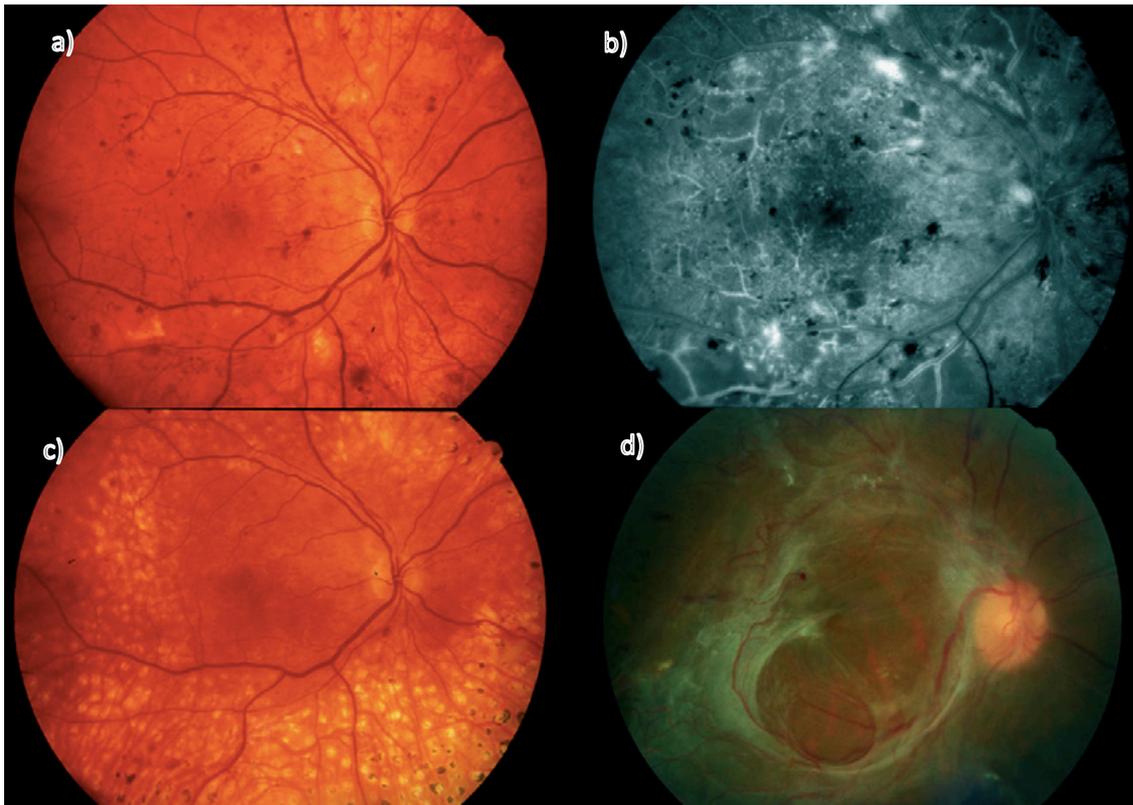
### Retinopatía diabética.

Es una complicación microvascular de la Diabetes Mellitus (DM), se considera la primera causa de baja visión en personas en edad productiva a nivel mundial.

De los 246 millones de personas que tienen diagnóstico de DM, 82 millones de ellos puede tener datos de retinopatía y a su vez un tercio de ellos tendrá alguna condición de severidad como retinopatía proliferativa o edema macular, lo que genera baja visión. (5)

Se observan cambios vasculares como neovascularización, hemorragias intrarretinianas, hemorragias vítreas, edema macular, hasta su fase proliferativa crónica donde se puede observar un desprendimiento de retina traccional (Ilustración 2).

El tratamiento oportuno con la fotocoagulación con láser argón y antiangiogénicos puede ofrecernos un mejor pronóstico visual, sin embargo, la mejoría depende del control metabólico del paciente. (Ilustración 2) (5)

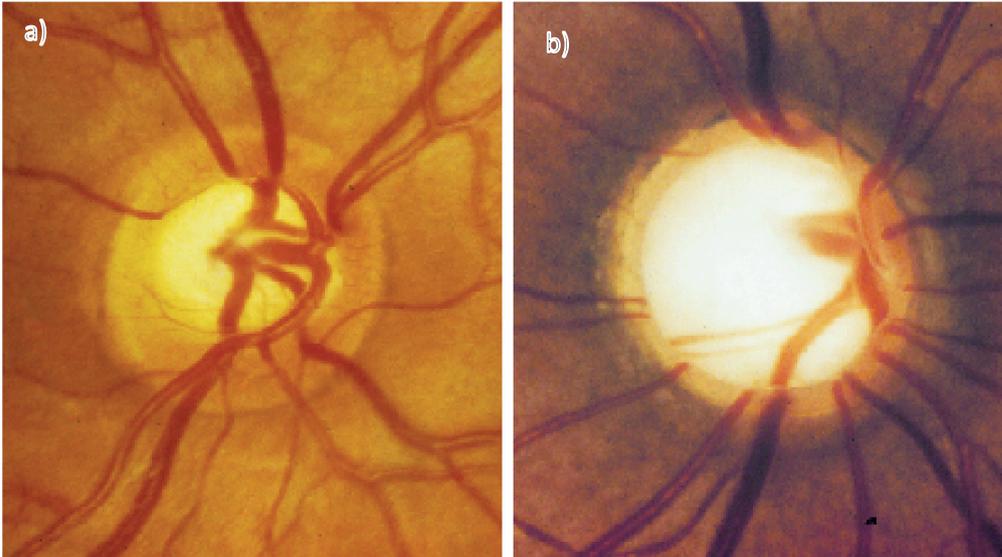


*Ilustración 2 Retinopatía diabética proliferativa. a) y b) Neovascularización retiniana, c) panfotocoagulación, d) enfermedad fibroproliferativa. (5)*

## Glaucoma

Es una neuropatía óptica caracterizada por el aumento en la excavación del nervio óptico acompañado de alteraciones en el campo visual. En la mayoría de los pacientes, la elevación de la presión intraocular es el factor de riesgo más importante. (Ilustración 3) Se estima que para el año 2020 existan 76 millones de personas con diagnóstico de glaucoma, que para el año 2040 puede ascender hasta 112 millones. (6)

Se puede clasificar de diversas maneras, según la apertura del ángulo (abierto-cerrado), primario o secundario, congénito, entre otros. El tratamiento dependerá del tipo de glaucoma, pudiendo ser tópico utilizando análogos de prostaglandinas, betabloqueadores, inhibidores de la anhidrasa carbónica; se pueden realizar algunas técnicas con láser o recurrir a las opciones quirúrgicas como la trabeculectomía o la colocación de válvula de Ahmed u otros dispositivos de derivación. A pesar de los avances en el tratamiento, solamente se puede frenar o detener la evolución, más no revertir el daño al nervio óptico. (Ilustración 3) (6)



*Ilustración 3 Glaucoma. a) Fotografía de un nervio óptico sano. b) Fotografía de un nervio óptico con glaucoma. (6)*

### Maculopatía miópica

En 2010 existían 34 millones de personas con diagnóstico de miopía, se estima que para el 2050 se incrementa a 45 millones. La maculopatía miópica se genera por la elongación del globo ocular y la aparición de una vasculatura coroidea anormal, lo que afecta a la mácula ocasionando una pérdida súbita de la visión central. Actualmente se utilizan los anti-VEGF para su tratamiento, con buenos resultados, pero con dudas acerca del esquema ideal y las posibles repercusiones que se puedan presentar a largo plazo, ya que se ha observado en algunos pacientes atrofia del área macular, lo que ocasiona una pérdida de visión central definitiva. (7)

### Retinosis pigmentaria (RP)

La retinosis pigmentaria es una enfermedad donde se presenta alteración de los fotorreceptores de la retina, en especial de los bastones, se presenta en pacientes jóvenes en la 2ª o 3ª década de la vida. Se reportó en 2006 que la prevalencia era de 1 en 4000 personas, en total aproximadamente 1 millón de personas afectadas. Esta patología puede ser parte de varios síndromes acompañada de diversos déficits sensoriales como el síndrome de Usher, Bardet-Biedl. (Ilustración 4) (8)



*Ilustración 4 Fotografía de fondo de ojo comparativa. A la izquierda un fondo de ojo normal, a la derecha un fondo de ojo de un paciente con RP. (8)*

### Justificación

Las patologías anteriormente mencionadas tienen tratamiento como los antiangiogénicos, tratamiento tópico o quirúrgico, que pueden ayudar a detener la pérdida visual, sin embargo, en la mayoría de ellas no se cuenta con un tratamiento que ofrezca una mejoría visual o una cura definitiva. Los tratamientos ofertados son muy costosos y normalmente deben de aplicarse más de una ocasión, ya que, el efecto es transitorio, sin mencionar que pueden tener complicaciones o eventos adversos.

Los pacientes con baja visión tienen afectación en diferentes áreas de su entorno, por ejemplo: al presentar dificultades para realizar las actividades de la vida diaria tienen que ser apoyados por algún otro miembro de la familia o incluso se tiene que contratar a un cuidador. De la misma manera, la baja visión interfiere con sus actividades laborales-escolares, evitando que continúe con ellas, por lo tanto, si es un paciente en edad productiva y deja de trabajar, se pierde el ingreso que el paciente aportaba para el sostén de la familia o el suyo propio. Debido a todo ello, la baja visión normalmente va acompañada de cambios emocionales como baja autoestima, depresión o apatía. (9)

Por lo tanto, es fundamental la investigación de nuevos tratamientos que sean más eficaces, que nos aporten mayor beneficio en un balance costo-beneficio y que idealmente ofrezcan una mejoría permanente o en el mejor de los escenarios una cura definitiva a nuestros pacientes de baja visión. Para intentar cumplir este objetivo nos

debemos sustentar en el uso de modelos experimentales que nos permitan simular la fisiopatología de las diferentes patologías que nos permitan valorar los resultados en un entorno fisiológico lo más parecido posible al real.

## 4. Objetivos

Objetivo general:

- Describir y discutir los modelos de investigación utilizados para el estudio de enfermedades retinianas causantes de baja visión.

Objetivos específicos:

- Describir y discutir los modelos de investigación *in vitro* para el estudio de enfermedades retinianas causantes de baja visión.
- Describir y discutir los modelos de investigación *in vivo* para el estudio de enfermedades retinianas causantes de baja visión.

## 5. Metodología

Se realizó una búsqueda en el idioma inglés con las palabras “Retinal disease” AND “experimental models”, “Retinal disease” AND “visual impairment” AND “experimental-animal models”, “retinal disease” AND “in vitro”, “traslational” AND “preclinical” AND “experimental models”, en las siguientes bases de datos.

-PUBMED (National Center of Biotechnology Information)

-BVS (Biblioteca virtual en salud)

-Research Gate.

- Google scholar

-Ovid

-Science direct.

## 6. Resultados

### Modelos experimentales.

El uso de modelos experimentales en la investigación es la base para poder iniciar un proceso de investigación y desarrollo de nuevas terapias dirigidas a mejorar la vida de nuestros pacientes. Para llevar a cabo su abordaje los clasificaremos en modelos experimentales *in-vitro* y modelos experimentales *in-vivo*.

#### Modelos experimentales *in vitro*.

Los modelos experimentales *in vitro* son herramientas importantes para el estudio de la fisiopatología a nivel celular o tisular. Las ventajas que presentan es que podemos controlar y manipular las condiciones experimentales de forma más certera. (10)

Se dispone de cultivos de celulares fetales de epitelio pigmentario de la retina (EPR) con las que se puede estudiar la actividad metabólica natural de dichas células, lo que nos ha permitido comprender un poco mejor el comportamiento anómalo del EPR en patologías como la DMAE. Aunque se han convertido en un estándar, existen otros modelos celulares derivados de EPR como las células ARPE-19. (10)

En 2016 Foggia et al utilizaron células pluripotenciales para diferenciarlas en fotorreceptores y células del EPR, estas células eran de pacientes que tienen alguna enfermedad congénita como Distrofia de Best, amaurosis congénita de Leber o RP. De esta forma es más fácil simular la enfermedad a nivel celular, ya que las mutaciones genéticas son difíciles de inducir en modelos animales, pues son enfermedades en las que están mutados un gran abanico de genes. (11)

Di Foggia et al han utilizado células de EPR obtenidas de células pluripotenciales trasplantadas en el espacio subretiniano de pacientes con atrofia geográfica. En este estudio el objetivo es iniciar con la diferenciación de células pluripotenciales en fotorreceptores, con el fin de trasplantarlas en un futuro. Utilizaron un nuevo modelo de diferenciación celular llamado "protocolo 3D" donde se simula la embriogénesis de la retina, logrando la formación de una retina *in vitro*. Esto permite el uso de esta retina

generada in vitro como un modelo adicional para disminuir el costo del uso de modelos animales en estudios preclínicos. (11)

Malek et al, en 2018, publicaron sus hallazgos al realizar cultivos de células endoteliales de la retina de diversas especies, por ejemplo, bovinas, porcinas, rata, ratones, mono Rhesus y de donadores humanos. Estas células fueron cultivadas en medios óptimos para su crecimiento según la especie y posteriormente se simularon condiciones fisiopatológicas para crear un ambiente similar a la RD y DMAE. (Tabla1) Se observó que, aunque ambas enfermedades tienen una etiología muy distinta, pueden compartir alguna vía fisiopatológica en común como alteraciones en el EPR o el endotelio vascular siendo vías susceptibles de tratamiento. (12)

*Tabla 1 Células utilizadas para el estudio de la DMAE. iPSC-EPR: Células madre pluripotenciales de EPR. (11)*

<b>Ejemplos de células utilizadas en modelos in vitro para el estudio de DMAE</b>
Células humanas EPR adulto
Células humanas EPR fetales
Células porcinas de EPR
iPSC-EPR humanas

Se han utilizado cultivos celulares de células ganglionares y células de Müller, sometiéndolas a cambios de presión en distintas cámaras presurizadas, lo que permitió tener una idea de lo que sucede con el aumento de la presión intraocular en el glaucoma y la respuesta celular que se presenta, otorgando así una idea de algunos factores que pudieran ser neuroprotectores en dichas patologías. (13)

Se han realizado incluso modelos utilizando retinas de humanos que han sido explantadas de pacientes post-mortem o pacientes que fueron sometidos a cirugía de retina con retinotomías con el fin de realizar estudios que involucren la angiogénesis, efectos neurotóxicos y protectores de ciertas condiciones o sustancias, regeneración celular y expresión génica. Esto tiene una importante implicación ética, sin embargo, todos los pacientes o sus familiares dieron su consentimiento para la utilización de tejidos con fines de investigación. (14)

De igual forma, Cai et al utilizan retinas de un banco de ojos humanos de los cuales toman fragmentos de la membrana de Bruch y EPR con el fin de estudiar la fisiopatología de la DMRE, que no es fácil estudiar en modelos animales ya que algunos carecen de mácula y la membrana de Bruch que tienen es mucho más gruesa que la membrana humana. (15)

Uno de los fenómenos mayormente estudiados en la fisiopatología de enfermedades retinianas es la angiogénesis, en diversas investigaciones se han realizado modelos in vitro en los cuales se realizan cultivos de células endoteliales humanas o bovinas, estas incluso se encuentran disponibles en bancos de células para la realización de protocolos de investigación. (16)

Además, existe un modelo donde se incluyen células de retina y coroides RF/6<sup>a</sup> en el cual se combinan células de la retina y coroides, esto permite ver la interacción de las diferentes líneas celulares y analizar su papel en situaciones de estrés. (16)

En el año 2016 publicó un trabajo realizado en el IOBA-UVA dónde se cultivaron desarrolló un modelo organotípico de células de la capa de la neuroretina de cerdos, para este modelo se aislaron células de EPR de 11 ojos de cerdo, después se realizó un explante del área central de la retina, estos explantes se dividieron en 2 grupos, un grupo control y un grupo que se suplementó con células de EPR. Los cultivos se mantuvieron durante 9 días antes de ser estudiados histológicamente. Tras ese tiempo se observó que el modelo suplementado tuvo una menor degeneración celular. Este modelo sirve para simular las condiciones fisiológicas que se presentan en un desprendimiento de retina, pero que se podría utilizar en el estudio de otras patologías oculares. (17)

## Modelos experimentales *in vivo*

Para llevar experimentación *in vivo* se han utilizado especies como ratas, ratones, perros, gatos, vacas y cerdos, gallinas, zebrafish.

Enfermedades hipóxicas de la retina. (RD, ROP, Oclusiones vasculares)

Se han utilizado los ratones para simular enfermedades hipóxicas como la Retinopatía del prematuro (ROP), RD, entre otras. (18)

Un modelo desarrollado para intentar simular la ROP es un ratón C57BL/6J u OIR (oxygen-induced retinopathy) de 1 semana de vida expuesto a oxígeno al 75% durante 5 días lo que provoca la aparición de neovascularización en los días 17-21 de vida. Se utiliza también para simular la RD (Ilustración 5). (19) (20)

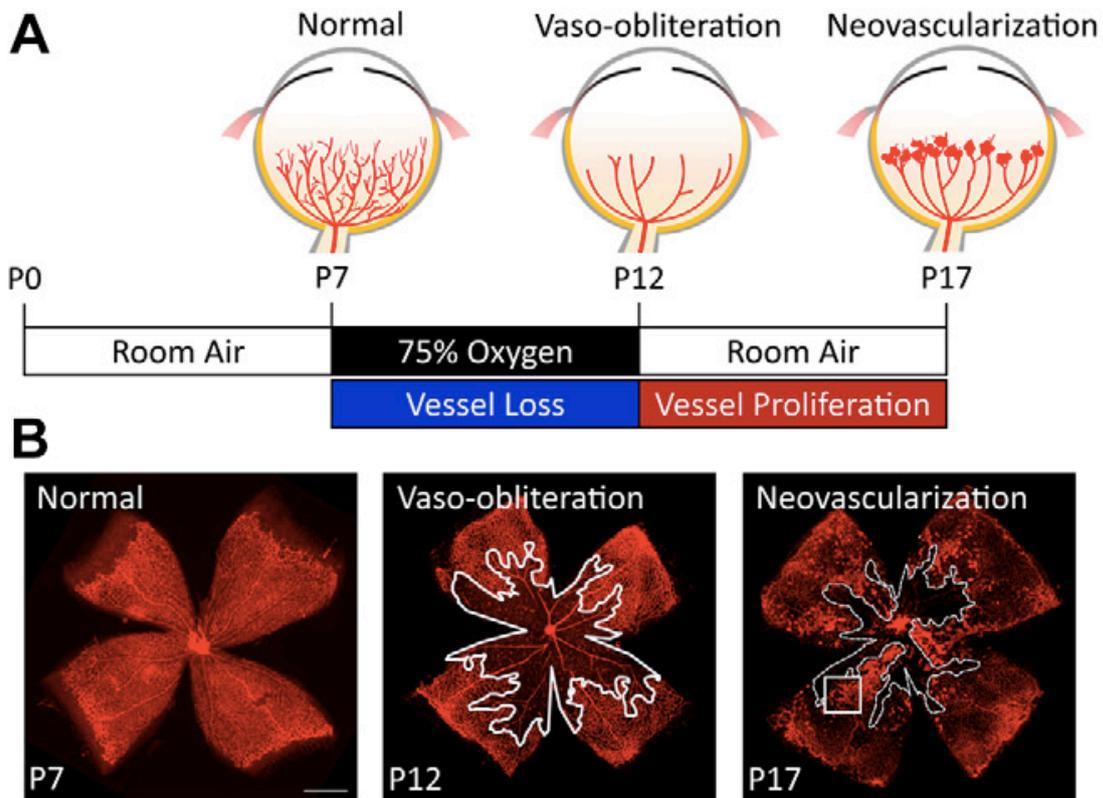


Ilustración 5 Modelos de enfermedades vasculares de la retina A) Esquema del modelo OIR B) Fotografías representativas de la retina con tinción de isolectina en modelos de hipoxia inducida. (20)

Otro modelo descrito consiste en perfundir los ojos de algún mamífero (bovino, porcino, ratas o ratones), como si se encontraran aún in vivo. De esta forma se mantienen los tejidos oculares con perfusión mediante la canulación de la arteria optociliar con un medio de cultivo preparado para mantener la oxigenación de los tejidos. Así se pueden realizar estudios electrofisiológicos en los ojos in vitro, así como estudiar vías metabólicas o simular condiciones para encontrar vías fisiopatológicas importantes. (21) Recientemente se ha documentado la existencia de modelos de no mamíferos como lo es el “zebrafish” o pez cebra. (20). Se ha utilizado en los últimos años como modelo experimental para el estudio de alteraciones en las vías moleculares que se presentan durante el desarrollo embrionario. Sus ventajas son que es fácil de manipular, tiene un bajo costo y puede tener un gran número de descendientes. Su uso de basa en el estudio de enfermedades vasculares, ya que se observa un desarrollo del sistema visual desde las 72 h posterior a la fertilización, también pueden ser genéticamente manipulados. Por ejemplo: el Zebrafish vhl (von Hippel-Lindau) presenta alteraciones vasculares en cerebro, ojos, con una sobreexpresión de el VEGF, por lo que presentan mayor permeabilidad vascular, edema macular severo y desprendimiento de retina. (22)

Los modelos diseñados para el estudio de la RD y el edema macular son el conejillo de indias, el ratón C57BL6, la rata café Norway, el conejo holandés, el mono cynomolgus, los cuales permiten en estudio de diversos medicamentos como los anti-angiogénicos y antiinflamatorios. (23)

### Retinosis pigmentaria

En el caso de la RP se utilizan mamíferos como perros, ratones y ratas. Mediante ingeniería genética se logra la pérdida de los bastones rápidamente. Estos modelos están permitiendo probar distintas terapias como la aplicación sub-retiniana de cDNA de las proteínas involucradas en la génesis de la RP como el gen Mertk, Prph2, Ad-bcl-2. Estos estudios experimentales han demostrado que se aumenta la supervivencia de los fotorreceptores, obteniéndose resultados muy prometedores de cara al desarrollo de ensayos clínicos (Ilustración 6). (19) (24)

### C Experimental therapy in mouse models of retinal disease

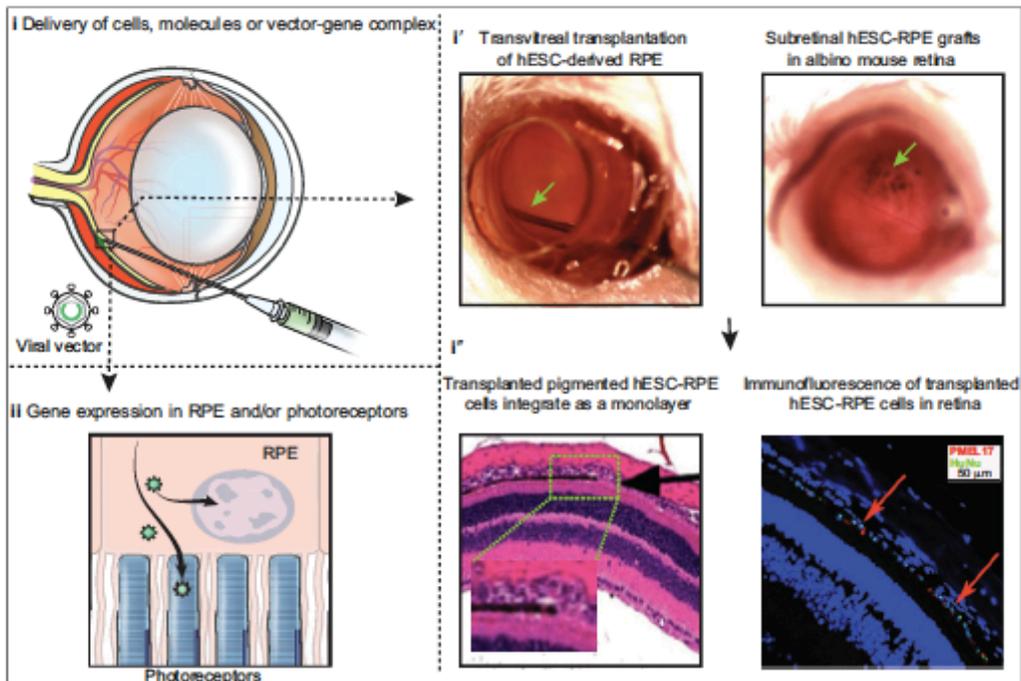


Ilustración 6 Modelo experimental en ratones con RP(24)

Por ejemplo, en 2017 se realizó un ensayo clínico fase 3 donde se aplicó una inyección subretiniana de un vector que contiene cDNA PRE65 llamado Voretigene neparovec, posteriormente midieron la movilidad bajo luminancia y el umbral de sensibilidad a la luz, así como agudeza visual y campos visuales. Al final del estudio se documentó una mejoría clínica y estadísticamente significativa, con mejoría de los pacientes para desplazarse de forma independiente en condiciones de baja iluminación y estos cambios se mantuvieron estables por lo menos durante 1 año. (25)

La rata P23H presenta una mutación del P23H opsina, la cual es la principal causa de la RP, que también se ha observado puede ocasionar degeneración de los fotorreceptores por estrés oxidativo, se ha visto que la mutación p23H en ratas  $Rho^{P23H/P23H}$  está directamente relacionado con alteraciones en los segmentos externos de los fotorreceptores. (26)

Algunos de los modelos con ratones que presentan mutaciones espontáneas que son utilizados en el estudio de la RP se observan en la tabla 2. (24)

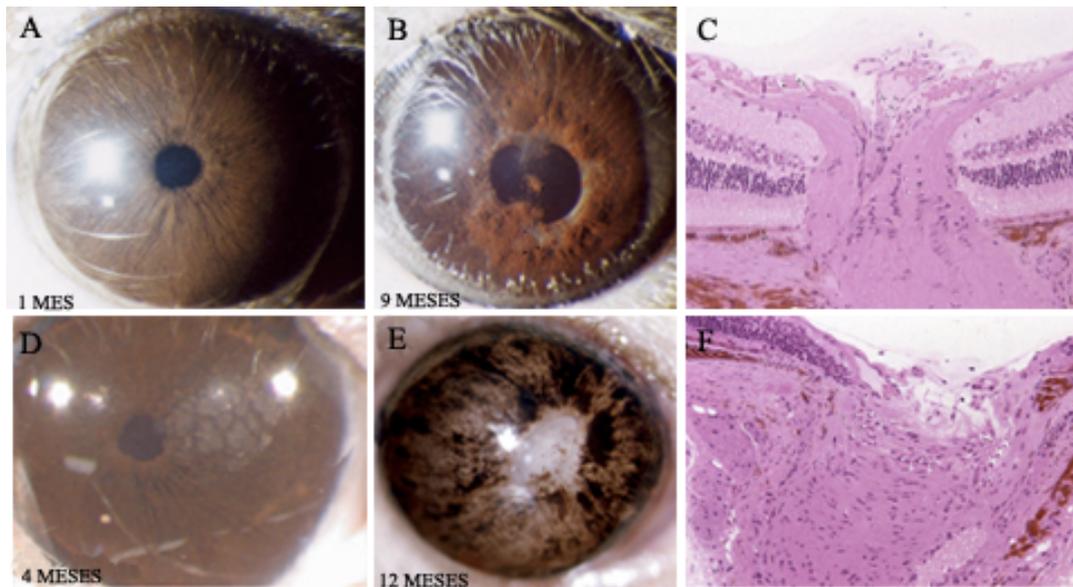
Tabla 2 Modelos de ratones utilizados para el estudio de la RP. (24)

<b>Modelo</b>	<b>Gen afectado</b>	<b>Fenotipo</b>
<b>rd1</b>	<i>Pde6b</i>	Inicio temprano, degeneración retiniana severa
<b>Rd2</b>	<i>Prph2</i>	Degeneración progresivamente lenta
<b>rd7</b>	<i>Nr2e3</i>	Degeneración progresiva de fotorreceptores
<b>rd8</b>	<i>Crb1</i>	Degeneración focal de fotorreceptores
<b>rd9</b>	<i>Rpgr</i>	Puntillero blanquecino progresivo y degeneración retiniana
<b>rd10</b>	<i>Pde6b</i>	Inicio temprano y degeneración moderada retiniana
<b>rd16</b>	<i>Cep290</i>	Inicio temprano de la degeneración retiniana

## Glaucoma

Hay 2 modelos en roedores para el estudio de glaucoma, en estos se aumenta la presión intraocular cauterizando los vasos episclerales o aplicando láser en el trabéculo. Así se han estudiado diversas terapias génicas mediante la aplicación y transporte de factores neurotróficos que evitan o retrasan el daño de las células ganglionares. (19)

El modelo DBA/2J es un ratón que desarrolló anomalías del segmento anterior como atrofia de iris, sinequias anteriores periféricas, dispersión pigmentaria, entre otras. Las desventajas de este modelo son que existe dificultad para la toma de presión ya que la córnea suele calcificarse y los estudios de electrofisiología son difíciles de realizar debido a la pobre dilatación pupilar que presentan (Ilustración 7). (27)



*Ilustración 7 Evolución en función del tiempo del ratón DBA/2J, (biomicroscopía y secciones de retina teñidas con hematoxilina-eosina) (28)*

También se recoge que los cambios observados en la retina no corresponden al aumento de la presión intraocular, es difícil la visualización del fondo de ojo y por ende la realización de estudios como la Tomografía de coherencia óptica (OCT) (29)

Otro modelo en glaucoma es un ratón *Vav2/3* y *Vav2*, que muestran hipertensión ocular por alteraciones en el segmento anterior, estos se han utilizado como modelos de hipertensión ocular espontánea. Otros ejemplos similares son en ratones llamados *P2Y6KO*, *E50K knock in*, *EAAC1 KO*, *GLAST KO*, que son ratones modificados genéticamente mediante el bloqueo de uno de los genes que se ha demostrado contribuyen a la presencia de la enfermedad. (27)

El modelo Morrison de rata se logra mediante la inyección retrógrada de solución salina hipertónica en una vena episcleral, ocasionando daño a la malla trabecular en su estructura. Por lo tanto, se observa una elevación de la presión intraocular y una neuropatía óptica. (30)

Los modelos animales para el estudio de glaucoma se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3 Modelos y especies animales para el estudio de glaucoma. Abreviaturas: NO: Nervio óptico, PIO: Presión intraocular. (26)

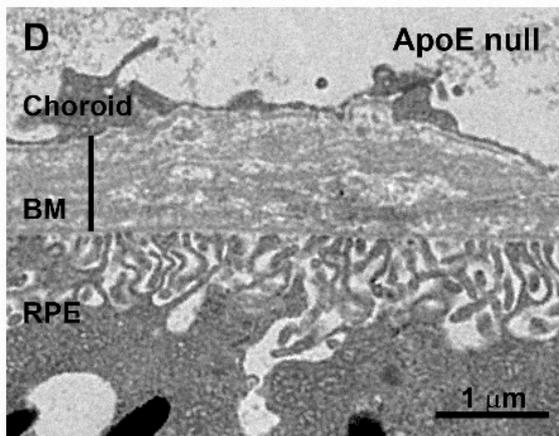
Modelo para inducir el glaucoma	Especie animal	Ventajas	Desventajas
<b>Inyección de Solución Salina hipertónica en venas episclerales</b>	Rata	-Reproducible y confiable. -Se puede observar la excavación del NO	Requiere mucha destreza. Poca disponibilidad de ratas transgénicas.
<b>Cauterización de venas episclerales</b>	Rata	-Fácil de realizar -Se observa la excavación del NO	Elevación de PIO temprana. Variabilidad en la pérdida de fibras nerviosas.
<b>Fotocoagulación láser de la malla trabecular</b>	Rata Ratón Conejo Primates	-Se puede realizar en muchas especies. -Elevación de la PIO exitosa	Variabilidad de la PIO. Puede haber edema y sangrado. Alto costo y dificultades para el manejo de primates y ratones.
<b>Inyección de microperlas en cámara anterior</b>	Rata Ratón Primates	Procedimiento simple. Posibilidad de manipulación genética	Múltiples inyecciones requeridas. Variabilidad de PIO. Alto costo y dificultad para manejo de primates.
<b>Modelos genéticos</b>	Ratón Perro Gato Zebrafish	Util para estudios genéticos, Zebrafish tiene transparencia de los huevos y embriones para imagen.	Variabilidad del inicio y progresión. Dificultad para el manejo de los animales.

## Degeneración Macular Asociada a la Edad

Una patología difícil de simular con modelos animales es la DMAE, ya que es considerada una enfermedad multifactorial, además de que solo los primates tienen una estructura como la mácula, sin embargo, se han realizado algunos experimentos en roedores utilizando ingeniería genética induciendo una neovascularización coroidea (NVC) mediante vectores de virus con un gen del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) (19)

Otra forma de simular la DMAE es con modelos en los cuales se induce una NVC mediante la disrupción de la membrana de Bruch con láser, los primeros fueron en primates y felinos. Posteriormente se utilizaron los roedores. Este modelo es reproducible, más barato, permite manipulación genética y el desarrollo de la enfermedad se observa después de corto tiempo, por lo que ha permitido observar el efecto terapéutico de los agentes anti-VEGF. (20)

Algunos ejemplos de modelos en roedores son los siguientes: ratones *Crb1<sup>rd8/rd8</sup>*, estos pueden presentar lesiones blanco-amarillentas en la mácula similares a drusas. Los ratones sin el gen de la Apolipoproteína E (Apo-E null) o del CD36 (CD36 null) que presentan las mismas lesiones similares a drusas ya que se ve afectado el transporte de lípidos en la membrana de Bruch; asociado a este mecanismo se encuentra el ratón *Cfh-null* o *Cfh<sup>Y402H</sup>* cuya mutación en la forma Y del factor H del complemento ocasiona que se presente acúmulo de lipofuscina en el RPE. Lo interesante de este último modelo es que se observa que en estos ratones no progresan las lesiones a una forma húmeda de la enfermedad, lo que puede significar que el sistema inmune también se ve involucrado en la fisiopatología de la DMAE. (Ilustración 8) (31) (32)



*Ilustración 8 (B) Fotografía de fondo de ojo de un ratón ApoE null (D) Fotografía de microscopía electrónica de la membrana de Bruch del ratón Apo E null (31)*

Otros modelos en ratones son: ratones transgénicos con sobreexpresión de C3 en el cual se presenta una activación acelerada del complemento ocasionando así el desarrollo de la patología retiniana. Ratones con alteraciones en el receptor C3a y C5a en los cuales se ha demostrado se presentan lesiones similares a la neovascularización coroidea inducida por láser. (32)

Ratones CCL2/CCR2: En estos ratones se observa la presencia de lesiones drusenoides, así como engrosamiento de la membrana de Bruch, aumento de gránulos de lipofuscina. (32)

Ratones Cx3cr1: En ellos se presenta un adelgazamiento significativo de la retina, por lo que cuando se aplica láser para inducir una neovascularización se puede presentar una lesión de mayor tamaño. (32)

Doble KO Ccl2/Cx3cr1: En estos se observan drusen subretinianos a partir de las 9 semanas de vida, que van aumentando con la edad. (32)

Se ha observado que existe una vía para la génesis de esta enfermedad que involucra al estrés oxidativo, por lo que existen múltiples modelos en ratas modificadas genéticamente para estudiar diversas moléculas y/o genes. Por ejemplo, los ratones Sod2/Sod2 KO (por super óxido dismutasa); ratas OXYS que presentan envejecimiento prematuro por la oxidación acelerada. (32)

Otra de las vías estudiadas es la vía del metabolismo de la glucosa y lípidos, para lo cual también se cuenta con modelos animales como los ratones APO2 e2/e4, APOB100, Ldl receptor, Vldl receptor, Mcd/mcd (por catepsina D). (23)

Los modelos de ratón Tet/Opsin/VEGF y rho/VEGF han sido utilizados para el estudio de medicamentos con liberación sostenida de VEGF y de acción prolongada. Se les administró el medicamento (RGX-314) en el espacio subretiniano. Posteriormente se observó una disminución de la neovascularización coroidea. (23)

Para el estudio de la DMAE seca y atrofia geográfica se ha utilizado un modelo de monomolgus en el cual indujeron la atrofia mediante la irradiación de luz azul, que se documentó después mediante autofluorescencia. Este modelo se ha utilizado en el estudio de un implante de brimonidina que ayudó a disminuir la progresión de la enfermedad, lo que sugiere que la brimonidina puede tener un efecto neuroprotector. (23)

También se han utilizado las ratas Royal College Surgeons (RCS) que tienen una mutación en el gen *merTK* que ocasiona que el EPR no pueda fagocitar los restos de los segmentos externos de los fotorreceptores ocasionando muerte celular que se puede ver desde las 4 semanas. (33)

Estas ratas (RCS) se han utilizado para comparar las alteraciones que se dan en el EPR cuando se presentan degeneraciones retinianas como la DMAE seca. En un estudio se realizó la comparación con las ratas P23H-1 (mutación de rodopsina) que se utilizan generalmente como modelo para la retinosis pigmentaria. En este estudio se observa

que ambos modelos presentan degeneración retiniana que involucra una respuesta de las células de la microglia, pero que se presenta en diferentes momentos de la vida de dichas ratas y con diferentes patrones. (34)

El modelo de ratas/ratones P23H se utilizó para probar si la inyección intravítrea de ATP tiene algún efecto en las células neuronales y la glía, para poder utilizarlo como un modelo para degeneraciones retinianas. Se observó la muerte de los fotorreceptores desde el día 1 posterior a la aplicación y a los 6 meses se encontraron cambios similares a los de una rata P23H a los 2 años. (35)

En la Universidad de Murcia, España, realizaron un modelo en ratas albinas adultas a las cuales se les ocasionó una lesión de nervio óptico, ya sea seccionándolo o por aplastamiento. Posteriormente se evaluó la supervivencia de las células ganglionares, se encontró que las células morían más rápido después de la sección que el aplastamiento. (36)

Otro modelo utilizado para valorar la degeneración de las células ganglionares es mediante la exposición de luz blanca (3000 lux) continuamente durante 48 horas, después fueron sacrificadas y analizadas. Se encontró que hubo pérdida de células ganglionares en el área superior de la retina a los 3 días de la exposición y que continúa durante 1 mes. (37)

## 7. Discusión

La baja visión es una condición que puede ser causada por diferentes enfermedades. Las patologías de la retina y segmento posterior se encuentran dentro de las primeras causantes de baja visión y discapacidad visual. (3)

Estas enfermedades son desafiantes, ya que, en general, no existe un tratamiento que resuelva la enfermedad de base de forma definitiva, más bien los tratamientos están enfocados en detener la progresión o mejorar de forma temporal la condición subyacente. (3)

En la oftalmología ha habido avances importantes en cuanto a tratamientos, como los antiangiogénicos, que a pesar de demostrar que tienen un efecto positivo en patologías como DMAE o RD, no son considerados como tratamiento definitivo, ya que su efecto es temporal y debe de seguir aplicándose a lo largo de un tiempo considerable. (4) (5)

Hay otras enfermedades como el glaucoma que solamente podemos detener la progresión, más no podremos devolverle al paciente el campo visual que ya haya perdido. Y hay enfermedades devastadoras como la retinosis pigmentaria y otras distrofias de la retina, para las cuales aún no tenemos un tratamiento disponible, estos pacientes tendrán una discapacidad por baja visión a mediano-largo plazo. (6)

De ahí la importancia que existe en realizar investigación que permita encontrar y probar nuevos tratamientos como se realiza en modelos *in vivo* e *in vitro*, ya que de esta forma podemos verificar la similitud de los modelos con el ojo humano y por lo tanto la eficacia de nuevos medicamentos para después iniciar los estudios con humanos.

Los modelos *in vitro* tienen la ventaja de que son modelos que se pueden controlar mejor, es decir puedes influir en todas las variables que los pueden modificar, por lo que los resultados que obtendremos son más reproducibles. La desventaja es que se estudia 1 sola línea celular para un fenómeno específico en general. (10)

También existe otros tipos de modelos in vitro, por ejemplo, explante de retina de cadáveres, el mantener con perfusión el ojo de un modelo animal para manipularlo y simular alguna condición. Estos son más complejos, ya que requieren de mayor entrenamiento por parte de los investigadores, son menos reproducibles. (13) (14) (21)

Gracias a los modelos in vitro se ha podido conocer más acerca de moléculas, mutaciones, y cambios que se producen en determinadas patologías.

Esto nos lleva a los modelos animales. En estos la ventaja es que se pueden simular enfermedades complejas como el glaucoma y evaluarlo a través del tiempo, podemos ver como se comporta cierta enfermedad que se produce por distintas mutaciones y estudiar la evolución de cada una de ellas. Las desventajas son que no se pueden controlar al 100% todas las variables que pueden influir sobre ellos; son un poco más costosos de mantener y algunas especies tienen una anatomía distinta a la del humano, por lo que, aunque se haya podido simular la enfermedad, deberemos tomar los resultados con cautela. (16)

Los modelos animales han permitido realizar estudios preclínicos con medicamentos que han revolucionado el tratamiento de enfermedades como la DMAE, glaucoma, entre otras. Por ejemplo, el Ranibizumab, aflibercept, triamcinolona, etcétera. (24)

Los animales más utilizados para la investigación en general son los roedores, la ventaja es que son muy baratos, son fácilmente manipulables incluyendo en el aspecto genético, en algunos casos la progresión de la enfermedad estudiada es muy rápida.

La desventaja de los ratones es que carecen de mácula y fovea anatómica, por lo que su uso en el estudio de enfermedades como la DMAE pudiera ser cuestionable. (12)

Los primates tienen la anatomía macular más parecida a la del humano, pero son difíciles de manipular tanto física como genéticamente, el costo de mantenerlos es más alto y la progresión de las enfermedades es muy lenta. (12)

Por otro lado, los cerdos tienen una estructura ocular con mayor similitud a la del humano, los pescados zebrafish tienen una vida corta, pero son muy reproducibles. (12)

A pesar de contar con un buen número de modelos existentes para el estudio de enfermedades como glaucoma, RD, RP, DMAE, aún no se ha encontrado un tratamiento que permita curar estas enfermedades.

Gracias a estos avances, se han podido probar medicamentos para el tratamiento del glaucoma, la DMAE, RD, RP, con lo que, en algunos casos, los pacientes pueden experimentar una mejoría transitoria en menor o mayor medida o un control de la enfermedad, evitando así la progresión a los estadios más avanzados.

## 8. Conclusiones

Por lo tanto, es de suma importancia el continuar con la investigación para encontrar el mejor tratamiento para cada una de las condiciones que ocasionan baja visión y así disminuir el número de personas que han perdido autonomía y autoestima por su condición visual.

Un tratamiento con mayor eficacia que pueda detener la progresión o incluso curar la enfermedad puede ayudar a mejorar la calidad de vida de los familiares y pacientes, así como, ayudar a reincorporarlos a su ámbito laboral, escolar o social.

## Bibliografía

1. Manual de Baja Visión y Rehabilitación Visual [Internet]. [citado el 17 de enero de 2019]. Disponible en: <https://www.medicapanamericana.com/Libros/Libro/5417/Manual-de-Baja-Vision-y-Rehabilitacion-Visual.html>
2. Bourne RRA, Flaxman SR, Braithwaite T, Cicinelli MV, Das A, Jonas JB, et al. Magnitude, temporal trends, and projections of the global prevalence of blindness and distance and near vision impairment: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*. septiembre de 2017;5(9):e888–97.
3. Flaxman SR, Bourne RRA, Resnikoff S, Ackland P, Braithwaite T, Cicinelli MV, et al. Global causes of blindness and distance vision impairment 1990–2020: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*. diciembre de 2017;5(12):e1221–34.
4. Mitchell P, Liew G, Gopinath B, Wong TY. Age-related macular degeneration. *The Lancet*. septiembre de 2018;392(10153):1147–59.
5. Cheung N, Mitchell P, Wong TY. Diabetic retinopathy. 2010;376:13.
6. Jonas JB, Aung T, Bourne RR, Bron AM, Ritch R, Panda-Jonas S. Glaucoma. *The Lancet*. noviembre de 2017;390(10108):2183–93.
7. Cheung CMG, Arnold JJ, Holz FG, Park KH, Lai TYY, Larsen M, et al. Myopic Choroidal Neovascularization. *Ophthalmology*. noviembre de 2017;124(11):1690–711.
8. Hartong DT, Berson EL, Dryja TP. Retinitis pigmentosa. *The Lancet*. noviembre de 2006;368(9549):1795–809.
9. Garaigordobil M, Bernarás E. Self-concept, Self-esteem, Personality Traits and Psychopathological Symptoms in Adolescents with and without Visual Impairment. *Span J Psychol*. mayo de 2009;12(1):149–60.
10. Forest DL, Johnson LV, Clegg DO. Cellular models and therapies for age-related macular degeneration. *Dis Model Mech*. el 1 de mayo de 2015;8(5):421–7.
11. Di Foggia V, Makwana P, Ali RR, Sowden JC. Induced Pluripotent Stem Cell Therapies for Degenerative Disease of the Outer Retina: Disease Modeling and Cell Replacement. *J Ocul Pharmacol Ther*. junio de 2016;32(5):240–52.
12. Malek G, Busik J, Grant MB, Choudhary M. Models of retinal diseases and their applicability in drug discovery. *Expert Opin Drug Discov*. el 3 de abril de 2018;13(4):359–77.
13. Aires ID, Ambrósio AF, Santiago AR. Modeling Human Glaucoma: Lessons from the in vitro Models. *Ophthalmic Res*. 2017;57(2):77–86.

14. Murali A, Ramlogan-Steel CA, Andrzejewski S, Steel JC, Layton CJ. Retinal explant culture: A platform to investigate human neuro-retina. *Clin Experiment Ophthalmol* [Internet]. el 10 de diciembre de 2018 [citado el 13 de marzo de 2019]; Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ceo.13434>
15. Cai H, Gong J, Del Priore LV, Tezel TH, Fields MA. Culturing of Retinal Pigment Epithelial Cells on an Ex Vivo Model of Aged Human Bruch's Membrane. *J Vis Exp* [Internet]. el 12 de abril de 2018 [citado el 13 de marzo de 2019];(134). Disponible en: <https://www.jove.com/video/57084/culturing-retinal-pigment-epithelial-cells-on-an-ex-vivo-model-aged>
16. Moleiro AF, Conceição G, Leite-Moreira AF, Rocha-Sousa A. A Critical Analysis of the Available *In Vitro* and *Ex Vivo* Methods to Study Retinal Angiogenesis. *J Ophthalmol*. 2017;2017:1–19.
17. Di Lauro S, Rodriguez-Crespo D, Gayoso MJ, Garcia-Gutierrez MT, Pastor JC, Srivastava GK, et al. A novel coculture model of porcine central neuroretina explants and retinal pigment epithelium cells. *Mol Vis*. el 25 de marzo de 2016;22:243–53.
18. Villacampa P, Menger KE, Abelleira L, Ribeiro J, Duran Y, Smith AJ, et al. Accelerated oxygen-induced retinopathy is a reliable model of ischemia-induced retinal neovascularization. Chen J, editor. *PLOS ONE*. el 26 de junio de 2017;12(6):e0179759.
19. Dejneka NS, Rex TS, Bennett J. Gene Therapy and Animal Models for Retinal Disease. En: Wissinger B, Kohl S, Langenbeck U, editores. *Developments in Ophthalmology* [Internet]. Basel: KARGER; 2003 [citado el 3 de febrero de 2019]. p. 188–98. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/FullText/72047>
20. Liu C-H, Wang Z, Sun Y, Chen J. Animal models of ocular angiogenesis: from development to pathologies. *FASEB J*. noviembre de 2017;31(11):4665–81.
21. Niemeyer G. Retinal Research using the Perfused Mammalian Eye. *Prog Retin Eye Res*. mayo de 2001;20(3):289–318.
22. Rezzola S, Paganini G, Semeraro F, Presta M, Tobia C. Zebrafish ( *Danio rerio* ) embryo as a platform for the identification of novel angiogenesis inhibitors of retinal vascular diseases. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis*. julio de 2016;1862(7):1291–6.
23. Shah M, Cabrera-Ghayouri S, Christie L-A, Held KS, Viswanath V. Translational Preclinical Pharmacologic Disease Models for Ophthalmic Drug Development. *Pharm Res* [Internet]. abril de 2019 [citado el 15 de mayo de 2019];36(4). Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s11095-019-2588-5>
24. Veleri S, Lazar CH, Chang B, Sieving PA, Banin E, Swaroop A. Biology and therapy

of inherited retinal degenerative disease: insights from mouse models. *Dis Model Mech.* febrero de 2015;8(2):109–29.

25. Russell S, Bennett J, Wellman JA, Chung DC, Yu Z-F, Tillman A, 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 Lond Engl.* el 26 de agosto de 2017;390(10097):849–60.

26. Sakami S, Kolesnikov AV, Kefalov VJ, Palczewski K. P23H opsin knock-in mice reveal a novel step in retinal rod disc morphogenesis. *Hum Mol Genet.* el 1 de abril de 2014;23(7):1723–41.

27. Harada C, Kimura A, Guo X, Namekata K, Harada T. Recent advances in genetically modified animal models of glaucoma and their roles in drug repositioning. *Br J Ophthalmol.* el 26 de octubre de 2018;bjophthalmol-2018-312724.

28. Anderson MG, Smith RS, Savinova OV, Hawes NL, Chang B, Zabaleta A, et al. Genetic modification of glaucoma associated phenotypes between AKXD-28/Ty and DBA/2J mice. *BMC Genet.* el 15 de enero de 2001;2:1.

29. Turner AJ, Vander Wall R, Gupta V, Klistorner A, Graham SL. DBA/2J mouse model for experimental glaucoma: pitfalls and problems: DBA/2J mouse model of glaucoma-problems. *Clin Experiment Ophthalmol.* diciembre de 2017;45(9):911–22.

30. Almasieh M, Levin LA. Neuroprotection in Glaucoma: Animal Models and Clinical Trials. *Annu Rev Vis Sci.* el 15 de septiembre de 2017;3(1):91–120.

31. Fletcher EL, Jobling AI, Greferath U, Mills SA, Waugh M, Ho T, et al. Studying Age-Related Macular Degeneration Using Animal Models: *Optom Vis Sci.* agosto de 2014;91(8):878–86.

32. Pennesi ME, Neuringer M, Courtney RJ. Animal models of age related macular degeneration. *Mol Aspects Med.* agosto de 2012;33(4):487–509.

33. Ryals RC, Andrews MD, Datta S, Coyner AS, Fischer CM, Wen Y, et al. Long-term Characterization of Retinal Degeneration in Royal College of Surgeons Rats Using Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* marzo de 2017;58(3):1378–86.

34. Di Pierdomenico J, García-Ayuso D, Pinilla I, Cuenca N, Vidal-Sanz M, Agudo-Barriuso M, et al. Early Events in Retinal Degeneration Caused by Rhodopsin Mutation or Pigment Epithelium Malfunction: Differences and Similarities. *Front Neuroanat [Internet].* el 6 de marzo de 2017 [citado el 12 de junio de 2019];11. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5337514/>

35. Vessey KA, Greferath U, Aplin FP, Jobling AI, Phipps JA, Ho T, et al. Adenosine

triphosphate-induced photoreceptor death and retinal remodeling in rats. *J Comp Neurol.* el 3 de abril de 2014;522(13):2928–50.

36. Nadal-Nicolás FM, Sobrado-Calvo P, Jiménez-López M, Vidal-Sanz M, Agudo-Barriuso M. Long-Term Effect of Optic Nerve Axotomy on the Retinal Ganglion Cell Layer. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* el 1 de septiembre de 2015;56(10):6095–112.

37. García-Ayuso D, Galindo-Romero C, Di Pierdomenico J, Vidal-Sanz M, Agudo-Barriuso M, Villegas Pérez MP. Light-induced retinal degeneration causes a transient downregulation of melanopsin in the rat retina. *Exp Eye Res.* 2017;161:10–6.