



Universidad de Valladolid



## Grado en Medicina

---

# Influencia de la variante p. Arg72Pro del gen *TP53* en la apoptosis tras sufrir un desprendimiento de retina

Jorge Elías Estefan Andrés

Tutor: Ricardo Usategui Martín

Cotutor: Salvador Pastor Idoate

Curso: 2022/2023

## ÍNDICE

|   |    |
|---|----|
| 1. RESUMEN.....   | 2  |
| 2. INTRODUCCIÓN.....  | 2  |
| 2.1 Definición.....   | 2  |
| 2.2 Prevalencia.....  | 3  |
| 2.3 Tipos.....  | 4  |
| 2.4 Fisiopatología.....   | 4  |
| 2.5 Factores de riesgo.....   | 4  |
| 2.6 Síntomas.....   | 5  |
| 2.7 Diagnóstico.....  | 5  |
| 2.8 Tratamiento.....  | 6  |
| 2.9 Pronóstico.....   | 6  |
| 3. VITREORRETINOPATÍA PROLIFERATIVA.....  | 7  |
| 3.1 Etiología.....  | 7  |
| 3.2 Prevención primaria.....  | 7  |
| 4. GEN <i>TP53</i> Y APOPTOSIS.....   | 8  |
| 4.1 Polimorfismos en el gen <i>TP53</i> .....   | 11 |
| 5. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....   | 11 |
| 6. PACIENTES Y MÉTODOS.....   | 12 |
| 6.1 Pacientes.....  | 12 |
| 6.2 Extracción de DNA a partir de células nucleadas de sangre periférica y genotipado de pacientes..... | 12 |
| 6.3 Síntesis de cDNA y PCR cuantitativa comparativa.....  | 13 |
| 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....  | 14 |
| 8. CONCLUSIÓN.....  | 18 |
| 9. BIBLIOGRAFÍA.....  | 19 |

## **RESUMEN**

La variante p.Arg72Pro del gen *TP53* es una variación que afecta al gen *TP53*, también conocido como "gen del supresor de tumores p53". Este gen codifica una proteína llamada p53, que desempeña un papel crucial en la regulación del ciclo celular.

La variante p.Arg72Pro involucra un cambio en la secuencia de aminoácidos de la proteína p53. En lugar de tener un aminoácido de arginina (Arg) en la posición 72, se presenta un aminoácido de prolina (Pro).

En este trabajo se ha estudiado la influencia de la variante p.Arg72Pro sobre apoptosis neuronal en pacientes que han sufrido un desprendimiento de retina (DR). El estudio se ha basado en cuantificar la expresión relativa de genes apoptóticos en biopsias de retina de treinta y seis pacientes y comparar los resultados en función de la variante portadora de los mismos y la evolución clínica tras la cirugía. Para discernir el genotipo de los pacientes se ha analizado el DNA de muestras de sangre periférica.

Nuestros resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas en la expresión de los genes involucrados en la vía intrínseca de la apoptosis tras sufrir un DR. Estos hallazgos apoyan la hipótesis de que el polimorfismo p.Arg72Pro del gen *TP53* podría ser un buen biomarcador de la evolución clínica tras la cirugía.

## **INTRODUCCIÓN**

### **DEFINICIÓN**

El desprendimiento de retina (DR) se puede definir como la separación de la retina neurosensorial del epitelio pigmentario de la retina (EPR) subyacente (Figura 1). La aposición directa de la retina al EPR es esencial para la función retinal normal, y el DR que involucra el centro foveal conduce a una pérdida profunda de la visión en el ojo afectado. (1)

Esta separación de su capa subyacente de tejido supone la privación del suministro de oxígeno y nutrientes necesarios para su supervivencia. (2)

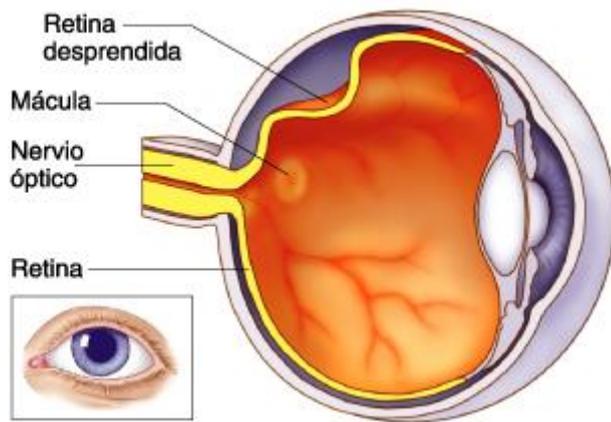


Figura 1. Imagen de la separación de la retina en el polo superior de su EPR, afectándose el campo visual correspondiente. (3)

## PREVALENCIA

Es una condición neurodegenerativa que conlleva una pérdida permanente de la visión que requiere tratamiento quirúrgico urgente.

El DR puede ocurrir a cualquier edad, pero alcanza una prevalencia máxima en personas de 60 a 70 años. Afecta más a los hombres que a las mujeres y en menor medida a la raza negra que a la raza caucásica. Los estudios observacionales de los EE. UU., Europa y Nueva Zelanda encontraron que la DR no traumática ocurrió en alrededor de 6 a 18 de cada 100 000 personas al año, es decir, alrededor de 1/10 000.

(1)

Antes de la década de 1920, esta era una condición de ceguera permanente. En los años siguientes, Jules Gonin, fue pionero en la primera reparación de desprendimientos de retina en Suiza. En 1945, después del desarrollo del oftalmoscopio indirecto binocular mejoraron las técnicas para reparar el DR. En los últimos 50 años, las técnicas de cerclaje escleral, retinopexia neumática y vitrectomía han hecho que la reparación de desprendimientos de retina sea significativamente más manejable con mejores resultados visuales. (4)

## **TIPOS**

Existen tres tipos principales de DR:

1. Desprendimiento de retina regmatógeno (DRR): es el tipo más común y se produce cuando se forma una rotura en la retina, permitiendo que el líquido vítreo que llena el ojo penetre por debajo de la retina y la separe de su posición normal. Es en el que nos centraremos en el presente trabajo.
2. Desprendimiento de retina traccional: se produce cuando el tejido cicatrizado de la retina hace tracción provocando que se separe de la retina de su posición normal. La causa más común de DR por tracción es la retinopatía diabética, una afección ocular en personas con diabetes. La retinopatía diabética daña los vasos sanguíneos de la retina y puede generar cicatrices en ella. A medida que las cicatrices se agrandan, pueden tirar de la retina y desprenderla de la parte de atrás del ojo.
3. Desprendimiento de retina exudativo o seroso: se produce cuando se acumula líquido debajo de la retina, generalmente debido a una lesión o inflamación ocular. Las causas de la acumulación de líquido incluyen enfermedades inflamatorias, infecciosas y neoplásicas de la coroides o la retina. (5, 6)

## **FISIOPATOLOGÍA**

Normalmente, el EPR es capaz de mantener la adhesión con la retina neurosensorial suprayacente a través de una variedad de mecanismos. Estos mecanismos incluyen el transporte activo de líquido subretiniano a través del EPR, la actividad metabólica del mismo y la interdigitación de los segmentos externos de los fotorreceptores y las microvellosidades. Con el DR, estos mecanismos se superan, lo que lleva a la separación de la retina neurosensorial (capas internas) de la capa del EPR. (4)

## **FACTORES DE RIESGO**

Factores de riesgo para el DRR: Sexo masculino, roturas retinianas periféricas, miopía patológica, cirugía intraocular previa, traumatismo, desprendimiento de retina previo y antecedentes familiares (6)

## **SÍNTOMAS**

Los síntomas del DR pueden incluir destellos de luz, moscas volantes, una sombra o una cortina que parece estar cubriendo parte de su campo visual y una disminución repentina en la agudeza visual. (7)

## **DIAGNÓSTICO**

### *Historia actual*

La pérdida de campo visual unilateral de nueva aparición asociada con ver luces intermitentes o moscas volantes es un DR hasta que se demuestre lo contrario. Los pacientes a menudo describen la pérdida subsiguiente del campo visual como una sombra oscura que aparece en su visión periférica y que progresa hacia el centro en cuestión de horas o semanas. (8)

### *Examen físico*

La agudeza visual, el examen pupilar, las pruebas del campo visual y la medición de la presión intraocular son partes importantes del examen oftalmológico con dilatación previa para evaluar a los pacientes con síntomas de desprendimiento de retina. Examen adicional para incluir la visión del color en el campo visual. (4)

La oftalmoscopia indirecta muestra el desprendimiento de retina y puede diferenciar los subtipos de desprendimiento en casi todos los casos.

Debe realizarse el examen del fondo de ojo periférico, utilizando oftalmoscopia indirecta con depresión escleral, lámpara de hendidura con el ojo en las posiciones extremas de la mirada o una lente con 3 espejos.

Cuando una hemorragia vítrea (que puede deberse a un desgarro de la retina), una catarata, opacificación de la córnea o lesión traumática oscurece la retina, debe sospecharse un desprendimiento de retina y realizarse una ecografía en modo B. (9)

## **TRATAMIENTO**

El manejo quirúrgico está indicado para los desprendimientos regmatógenos y traccionales.

El desprendimiento regmatógeno se trata según la causa y la localización de la lesión. Estos métodos incluyen el sellado de los desgarros retinianos con láser o crioterapia. Otros tratamientos son la retinopexia neumática (inyección de gas intravítreo) y la vitrectomía. Las roturas retinianas sin desprendimiento pueden ser sellados mediante fotocoagulación con láser o criopexia transconjuntival. Casi todos los desprendimientos regmatógenos pueden ser reaplicados quirúrgicamente.

Los desprendimientos no regmatógenos debidos a tracción vitreoretiniana pueden tratarse mediante vitrectomía.

Para los desprendimientos serosos, el manejo no es quirúrgico. Cualquier enfermedad inflamatoria o masa subyacente debe identificarse y tratarse si es posible. (4)

## **PRONÓSTICO**

En la presentación, el DR generalmente se divide en 'macula on', cuando la fóvea todavía está adherida, y 'macula off', donde la retina está desprendida en el centro. Las personas con DR con mácula suelen tener una buena agudeza visual inicial y un mejor pronóstico con una cirugía exitosa. Los DR sin mácula tienen una peor agudeza visual inicial y tienen un peor pronóstico incluso con la reinserción exitosa de la retina. En general, alrededor del 95 % de las personas tienen una reparación anatómicamente exitosa de la DRR. En el 90% de los DR con mácula reparados con éxito, la visión es 6/12 o mejor.

Sin embargo, en aquellos con DR sin mácula, solo el 50 % de los ojos alcanza una agudeza visual de 6/15. Las razones del fracaso anatómico de la cirugía incluyen rupturas retinianas nuevas o pérdidas y vitreoretinopatía proliferativa (VRP). (1)

## **VITREORRETINOPATIA PROLIFERATIVA**

La VRP, una complicación importante del desprendimiento de retina regmatógeno, es un proceso anormal por el cual se forman membranas celulares proliferativas y contráctiles en el vítreo y en ambos lados de la retina, lo que da como resultado un DR traccional con pliegues retinianos fijos. La investigación sugiere que las membranas se forman en respuesta a las citocinas y los mediadores inflamatorios que surgen después de la alteración anatómica y el daño tisular causado por el DRR y la inflamación resultante. (10)

### *Etiología*

La VRP describe el proceso aberrante mediante el cual se forman las membranas epi/subretinianas después del DRR, lo que finalmente conduce a la tracción de la retina y al DR recurrente. La VRP intrarretiniana es causada por tejido glial que se activa para proliferar dentro de la retina y puede causar acortamiento de la retina. La VRP surge en un 5-10% estimado de los casos de RRD y, por lo tanto, representa una complicación importante del DR.

Cabe mencionar que existen factores genéticos que pueden asociar un mayor riesgo de desarrollar VRP. Se puede explicar el desarrollo de este proceso aberrante como un fallo de los mecanismo apoptóticos a consecuencia de variables genéticas. (10)

### *Prevención primaria*

La mejor manera de prevenir la VRP es reparar rápidamente y con éxito el DR. Sin embargo, debido a factores del paciente, oculares y quirúrgicos que no siempre son controlables. Una estrategia para prevenir la VRP es buscar factores de riesgo de VRP en ojos con DR y tratar de controlar o influir en esos factores de riesgo.

Los factores clínicos asociados con un mayor riesgo de VRP incluyen:

-Desprendimiento de retina reumatógeno crónico, historia previa de VRP, cirugía de desprendimiento de retina o múltiples cirugías de retina, afaquia, hemorragia vítrea, pliegues retinianos preoperatorios, desgarró de retina gigante.

No hay ningún agente farmacológico actual probado para tratar o prevenir el VRP.

Los corticosteroides, por ejemplo, se han considerado dado su mecanismo de acción y potencial para reducir la expansión masiva de factores de crecimiento que contribuyen a la formación de membranas. Desafortunadamente, las pruebas han sido variables, no concluyentes. En un ensayo clínico aleatorizado y controlado de pacientes con alto riesgo de desarrollar VRP, el tratamiento con corticosteroides sistémicos provocó una disminución en la formación de la membrana epirretiniana, pero no mejoró la agudeza visual.

Los fármacos antineoplásicos, independientemente de sus efectos secundarios, también se han considerado como un medio para tratar la VRP.

El 5-fluorouracilo se ha estudiado en una variedad de circunstancias, pero su uso está limitado por la toxicidad. En ojos con desprendimientos de retina con alto riesgo de desarrollar VRP, se demostró que el 5-fluorouracilo intravítreo y la heparina de alto peso molecular infundida durante la cirugía reducen potencialmente la incidencia de VRP postoperatoria.

Los productos biológicos que interactúan con los factores de crecimiento implicados también se han mostrado prometedores para mitigar la VRP. (10)

## **GEN TP53 Y APOPTOSIS**

Gen que codifica una proteína que se encuentra en el núcleo de las células y cumple una función importante en el control de la división y destrucción de las células. Localizado en el brazo corto del cromosoma 17, codifica la proteína homónima que se encuentra en todos los tejidos humanos. Su nombre deriva del peso molecular de la misma, 53kDa.

Una importante función de p53 es participar el control del ciclo celular en el paso de G1 a S. Cuando se han producido lesiones en el ADN, p53 para el ciclo celular en G1-S para dar tiempo a que actúen los sistemas de reparación del ADN y de esta forma asegura: la integridad genómica y la reparación ADN; en caso de no ser posible la reparación del ADN la célula entrará en apoptosis.

p53 es una proteína homotetramérica (Figura 2), donde cada monómero se divide en distintos dominios funcionales: dominio amino terminal, dominio de unión a DNA, dominio de tetramerización, y dominio carboxilo terminal.

La proteína normalmente reside en el núcleo celular y tiene una vida media muy corta en los tejidos normales. Esta proteína está siendo producida constantemente, pero es muy rápidamente degradada.

La proteína p53 es un factor de transcripción capaz de activar e inhibir la transcripción de una amplia variedad de genes (12, 13)

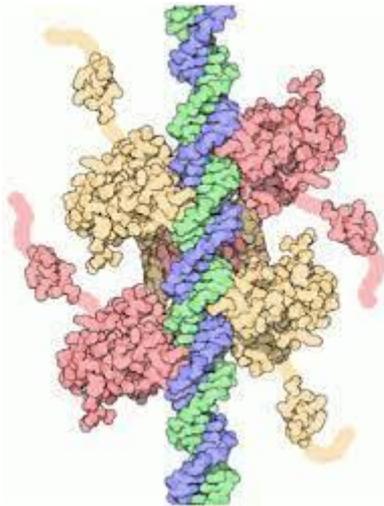


Figura 2. Imagen que representa los cuatro monómeros, cada uno compuesto por 393 aminoácidos, de la proteína p53 unida a una molécula de DNA. (11)

La muerte celular es una respuesta celular fundamental que juega un importante papel en la conformación de nuestro organismo, y es por tanto fundamental durante el desarrollo de órganos y sistemas, y en la regulación de la homeostasis de los tejidos eliminando células no deseadas.

La apoptosis o muerte celular programada, es un proceso de muerte celular programado que se caracteriza por la ausencia de una respuesta inflamatoria y por ser un proceso complejo en el que intervienen multitud de mediadores en su regulación.

Clásicamente se diferencian dos vías de activación de la apoptosis: la intrínseca o mitocondrial, y la vía extrínseca. En estas vías intervienen las caspasas, que son las principales proteasas implicadas en la inducción, ejecución y propagación de la apoptosis. (Figura 3)

Las caspasas se pueden clasificar en: Iniciadoras (caspasas 2, 8, 9 y 10) y efectoras (3, 6 y 7).

De este modo las primeras activarían a las segundas, y éstas a su vez desencadenarían el proceso de muerte celular.

La vía intrínseca se desencadena por reacciones de estrés intracelular que actúan sobre las mitocondrias (daños en el ADN, endoplasmático, etc.) y que dan lugar a la permeabilización de la membrana mitocondrial. De esta manera, la alteración del potencial transmembrana y, la consecuente liberación de factores proapoptóticos desde el espacio intermembrana, conducen a la muerte celular, como es el citocromo C.

La activación de la vía extrínseca comienza cuando se produce la unión de determinados ligandos, como el TNF $\alpha$  entre otros, con sus receptores de membrana específicos, como el TNFR1. (TNF receptor 1)

Como consecuencia de la unión de estos ligandos con los receptores, se produce la activación de las caspasas iniciadoras. (12)

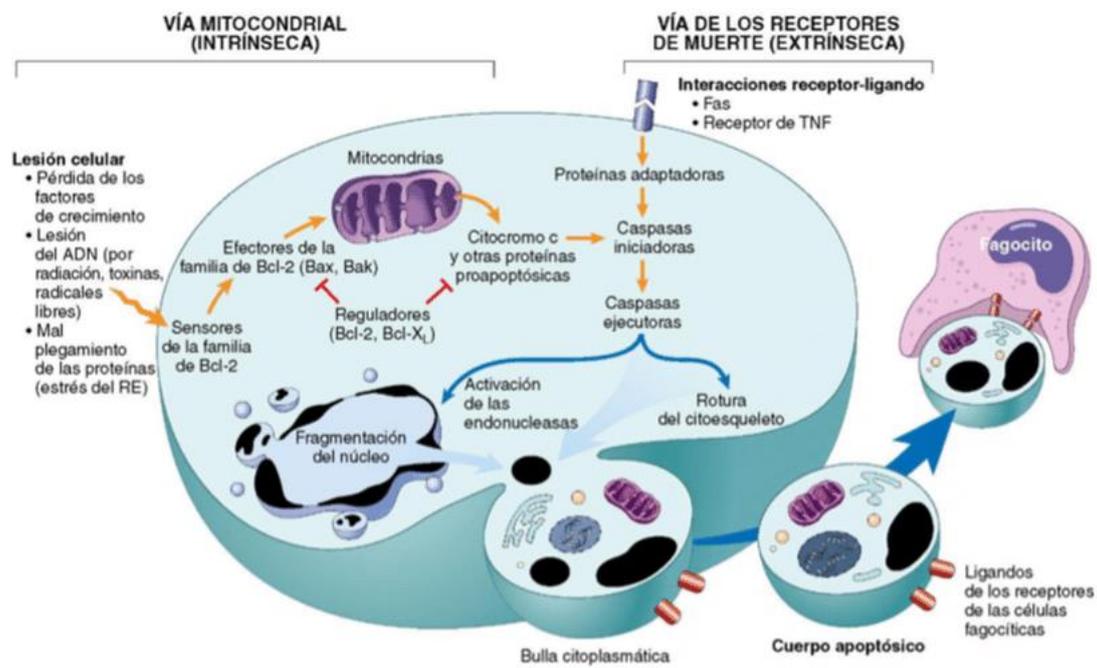


Figura 3. Representación de las dos vías, intrínseca por lesión de la propia célula y extrínseca por interacción de ligandos con receptores de membrana, por las que una célula puede llevar a cabo el proceso de apoptosis. (13)

## **POLIMORFISMOS EN EL GEN *TP53***

Se han descrito numerosos polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) y otras variaciones polimórficas en el gen *TP53*. Uno de ellos es el polimorfismo del codón 72 del gen *TP53* que regula la expresión de genes implicados en la apoptosis, la inmunidad y la inflamación, y se ha asociado con varios tipos de cáncer y procesos inflamatorios. Este polimorfismo aparece en humanos bajo 2 variantes, arginina o prolina.

Varios estudios han demostrado que la apoptosis es una de las principales causas de pérdida neuronal después de un traumatismo, isquemia y neurodegeneración en el sistema nervioso central.(14)

El polimorfismo Arg72Pro del *TP53* consiste en un cambio de arginina a prolina del codón 72, que se ubica en la región rica en Prolina involucrada en las funciones apoptóticas de la proteína p53. El cambio Arginina por Prolina afecta la estructura primaria de la proteína y genera diferencias funcionales debido a que la variante Arg se asocia con un aumento de expresión de genes proapoptóticos, frente a la variante Pro que expresa una cantidad significativamente menor de algunos de ellos.

El trabajo de investigación cursa a propósito de comparar la distribución del polimorfismo Arg/Pro del gen p53 entre pacientes sometidos a cirugía de DR primario en relación con el desarrollo de VRP. (14)

## **HIPOTESIS Y OBJETIVO**

- La hipótesis de nuestro trabajo fue que el SNP de p.Arg72Pro del gen *TP53* podría modificar la apoptosis neuronal tras un DR.
- Por ello nuestro objetivo fue analizar la expresión de genes apoptóticos en la retina tras un DR en función del SNP de los pacientes.

## **PACIENTES Y MÉTODOS**

### **Pacientes**

Se han incluido 36 pacientes operados de DR en el Servicio de Oftalmología del Hospital Clínico Universitario de Valladolid en el 2022. De ellos, se obtuvieron muestras de sangre periférica para el genotipado mediante la amplificación del exón 4 del gen *TP53* y la evaluación de la expresión relativa del mRNA de genes involucrados en la apoptosis (BAX, BCL2, CASP3, CASP8 y CASP9) se realizó a partir de biopsias de retina.

De cada uno de los pacientes se han recopilado las siguientes variables clínicas: Sexo, edad, estado de la macula (ON/OFF), agudeza visual (BCVA) inicial y final, presencia de VRP, días de evolución, estado de la lente (Fáquica/Pseudofáquico), cirugía combinada, agente tamponador y clasificación OCT-ELM y EZ

### **Extracción de DNA a partir de células nucleadas de sangre periférica y genotipado de pacientes.**

El proceso llevado a cabo radicó en la extracción de DNA a partir de las células nucleadas de muestras de sangre periférica de los pacientes.

Mediante centrifugación de las muestras, se obtuvo el paquete leucocitario y se extrajo el DNA. Consecutivamente se amplificó el exón 4 del gen *TP53* mediante PCR. Posteriormente se realizó una digestión enzimática con una enzima de restricción para luego proceder a una electroforesis en un gel de agarosa. La electroforesis permite observar un patrón de bandas en función del genotipo del paciente (Figura 4).

Las bandas observadas fueron: Pro/Pro: 291pb (1 banda); Arg/Arg: 165pb y 126pb (2 bandas); Arg/Pro: 291pb, 165pb y 126pb (3 bandas).

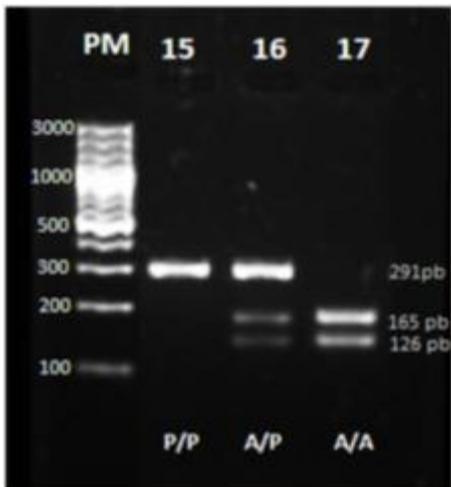


Figura 4. Distribución de las bandas en el gel de agarosa tras la electroforesis donde se distinguen los pacientes Pro/Pro con una sola banda, los heterocigotos con tres bandas y los Arg/Arg con dos bandas.

#### **Síntesis de cDNA y PCR cuantitativa comparativa**

Para evaluar la expresión génica, el RNA total se extrajo a partir de las biopsias de las retinas congeladas. Mediante una retrotranscripción-PCR conseguimos la síntesis de cDNA. Se realizó la cuantificación del cDNA y posteriormente se diluyó en agua libre de nucleasas para hacer el estudio desde una concentración idéntica en todas muestras.

El siguiente paso consistió en realizar una PCR cuantitativa comparativa (qPCR) con la cual se estudió la expresión de los genes de apoptosis: BCL2, BAX, CASP3, CASP8 y CASP9.

Todas las reacciones de qPCR se realizaron por triplicado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La muestra de estudio se compone de treinta y seis pacientes operados de DR en el 2022, de los cuales veinte son hombres (55%) y dieciséis son mujeres (45%) y la media de edad de la muestra son sesenta y cuatro años.

A la exploración, veintiséis pacientes tenían macula off (72%) frente a diez con mácula on (28%). Con los datos de la BCVA recogidos la media inicial es de 0,72 y la media final es de 0,25. Del total, siete paciente desarrollaron VRP (19%); probablemente con un tiempo de seguimiento mayor los casos de pacientes que desarrollasen VRP sería superior.

Desde el inicio de los síntomas han pasado una media de ocho días y medio. Presentaban lente fáquica veinticinco pacientes (69%) frente a once pacientes pseudofáquicos (31%).

Se optó por cirugía combinada (Fáquico + Vitrectomía de pars plana (VPP)) a diecisiete de los pacientes (47%).

Se usó C3F18 como agente tamponador en veintiocho pacientes (78%), SIO en seis pacientes (17%) y SF6 en dos (5%).

Se clasificó a los 36 pacientes en dos grupos en función de si portaban la variante mutada del gen *TP53* para comparar las variables y datos expuestos previamente y se distribuyeron en la Tabla 1. En lo que a variables clínicas se refiere, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos

Tabla 1. Características clínicas de los pacientes incluidos según el genotipo de la variante p. Arg72Pro del gen *TP53*.

| Genotipo   | Arg/Arg     | Arg/Pro<br>Pro/Pro | +<br>p-valor<br>IC (95%) |         |
|--|-------------|--------------------|--------------------------|---------|
| <b>n (hombre/mujer)</b>                                  | 21(11/10)   | 15(9/6)            | 0.741 ‡                  |         |
| <b>Edad (años) (media ± DS)</b>                          | 63.7 ± 10.5 | 64.5 ± 9.57        | 0.816 *                  |         |
| <b>Estado de la mácula (OFF/ON)</b>                      | 15-OFF/6-ON | 11-OFF/4-ON        | 1.00 ‡                   |         |
| <b>BCVA Inicial logMAR (media ± DS)</b>                  | 0.63 ± 0.35 | 0.80 ± 0.53        | 0.253 *                  |         |
| <b>Presencia de VRP</b>                                  | 3           | 4                  | 1.00 ‡                   |         |
| <b>Días desde el inicio de los síntomas (media ± DS)</b> | 7.89±8.69   | 9.01±11.45         | 0.74 *                   |         |
| <b>Estado de la lente (Faquico/Pseudofaquico)</b>        | 14/7        | 11/4               | 0.728 ‡                  |         |
| <b>Miopía patológica (&gt;6D)</b>                        | 3           | 2                  | 1.00 ‡                   |         |
| <b>Cirugía combinada (Faquico + VPP)</b>                 | 10          | 7                  | 0.658 ‡                  |         |
| <b>Agente tamponador (n):</b>                            | <b>SF6</b>  | 1                  | 1                        | 1.00 ‡  |
|  | <b>C3F8</b> | 18                 | 10                       | 0.343 ‡ |
|  | <b>SIO</b>  | 2                  | 4                        | 0.210 ‡ |
| <b>BCVA final logMAR (media ± DS)</b>                    | 0.18 ± 0.26 | 0.32 ± 0.45        | 0.676 *                  |         |
| <b>Clasificación OCT-ELM y EZ</b>                        | Grado I     | 8                  | 6                        | 1.00 ‡  |
|  | Grado II    | 8                  | 3                        | 0.295 ‡ |
|  | Grado III   | 2                  | 2                        | 1.00    |
|  | Grado IV    | 3                  | 4                        | 1.00 ‡  |

n: número de individuos; BCVA: mejor agudeza visual corregida; DS: desviación standard. VRP: vitreoretinopatía proliferativa; SF6: sulfuro hexafluorido; C3F8: perfluoropropano; SIO: aceite de silicona; ELM: membrana limitante externa; EZ: zona elipsoide; clasificación OCT-ELM y EZ: grado I, definido como normal y estructura continua; grado II, alterada, pero en continuo, grado III, está interrumpido grado IV, está ausente. \* t- test para muestras independientes, ‡ Test de Fisher.

En las biopsias de retina obtenidas se procedió el análisis de la expresión de genes implicados en la apoptosis en función del genotipo del polimorfismo p.Arg72Pro del gen *TP53*.

La apoptosis es un tipo de muerte celular en la que una serie de procesos moleculares en la célula conducen a su muerte, la palabra deriva del latín y significa "desprenderse" o "decaer" y se la conoce también como muerte celular programada. Se caracteriza por la ausencia de una respuesta inflamatoria y por ser un proceso complejo en el que intervienen multitud de mediadores en su regulación con dos posibles vías de acción.

Los resultados obtenidos se recogen en la Figura 5.

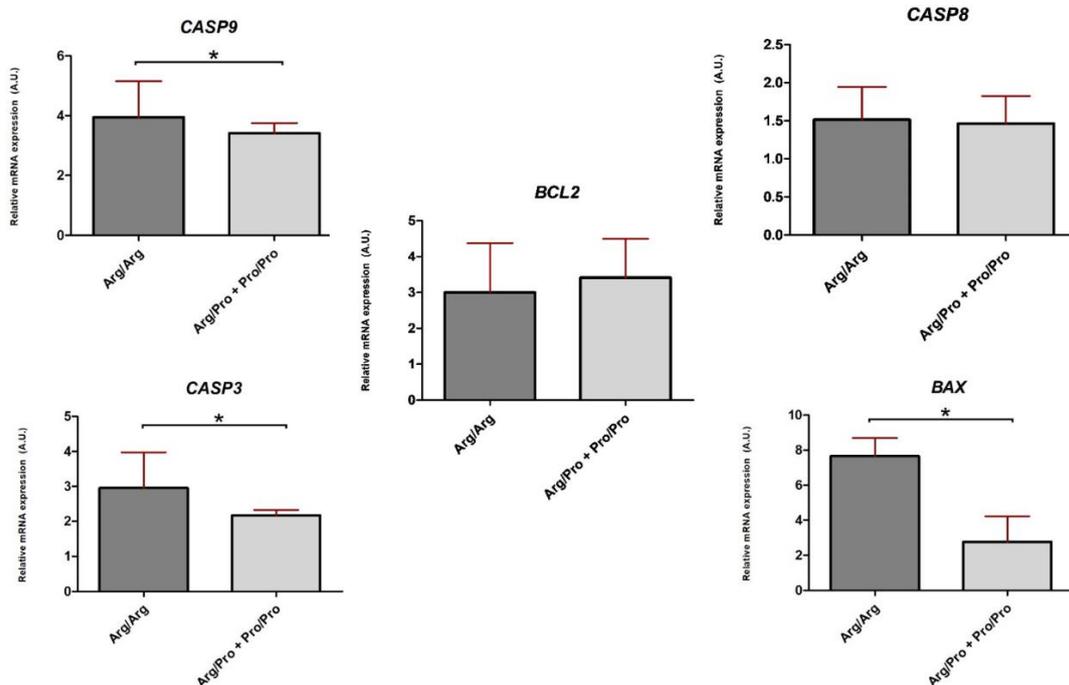


Figura 5. Expresión relativa de los genes *CASP9*, *CASP8*, *CASP3*, *BCL2* y *BAX* en biopsias de retina obtenidas tras cirugía de DR.

Nuestros resultados mostraron diferencias estadísticamente significativas en la expresión de los genes BAX, CASP3 y CASP9. Se observó más expresión de dichos genes en los pacientes homocigotos Arg.

No hubo variaciones respecto a la expresión de los genes de BCL2 y CASP8. (Figura 5).

Todas las caspasas se producen inicialmente como zimógenos inactivos, procaspasas, que luego están sujetos a activación por una amplia gama de señales. La CASP3 es la proteína efectora de apoptosis que promueve el procesamiento y activación de endonucleasas. Por su parte BAX y CASP9 están involucrados en la vía intrínseca de la apoptosis. (15)

La vía intrínseca o mitocondrial que conduce a la apoptosis puede ser iniciada por una variedad de estímulos que incluyen infecciones virales, hipoxia, hipertermia, estrés oxidativo y señales de estrés detectadas intrínsecamente como resultado de la exposición a sustancias químicas tóxicas o exposición a la radiación. Una consecuencia de estos estresores celulares proapoptóticos es la permeabilización de la membrana externa mitocondrial y la liberación de factores apoptógenos como el citocromo C para formar un complejo junto con la CASP9 que desencadena la activación de las caspasas efectoras. (16, 17)

Por ello nuestros resultados apuntan a la hipótesis de que el alelo Arg del SNP p. Arg72Pro del gen *TP53* se podría asociar a una mayor actividad de la vía intrínseca de la apoptosis en la retina tras sufrir un DR.

Previamente ya se ha asociado dicho polimorfismo con el control de la apoptosis neuronal. Varios estudios han revelado que las variantes polimórficas en los genes que codifican proteínas apoptóticas podrían ser muy valiosos en el diagnóstico de accidente cerebrovascular y que la estabilización de p53 contribuye a la apoptosis neuronal inducida por isquemia. Recientemente se ha descubierto que el SNP *TP53* Arg72Pro controla la susceptibilidad a la apoptosis después de la isquemia y dicta el pronóstico de los pacientes con ictus.

Las neuronas Arg72-p53 al marcar una mayor estabilización en la expresión de p53 y, por tanto, en la cascada intrínseca de la apoptosis existe una mayor susceptibilidad a la apoptosis neuronal frente a las neuronas Pro72-p53 precondicionadas que muestran una desestabilización de p53 y mayor protección contra la isquemia.

La supresión del gen *TP53* está asociada con la neuroprotección después de la isquemia. (18)

Nuestros resultados revelaron que en las retinas procedentes de pacientes portadores del genotipo Arg/Arg de la variante p.Arg72Pro del gen *TP53*, tras sufrir un DR, se produjo una mayor expresión relativa de los genes apoptóticos BAX, CASP3 y CASP9, respecto a los pacientes portadores de la variante Pro. La menor expresión de los genes apoptóticos supone una ineficaz muerte celular tras el DR y por tanto podría suponer un mayor proceso inflamatorio. Este estado podría aumentar el riesgo de desarrollar VRP, proceso que supone la formación de membranas proliferativas y contráctiles. Tales membranas traccionan de la retina y puede generar un DR traccional que supone la principal causa de fracaso en las cirugías de DR. Reforzándose así la hipótesis de que dicha variante en el gen *TP53* podría asociarse con un mayor riesgo de sufrir VRP.(14)

Con este contraste somos capaces de afirmar que aquellos pacientes con la variante mutada que sufran un DR tienen un mayor riesgo de sufrir VRP como consecuencia de la alteración de la apoptosis de las células. La importancia de este estudio radica en la identificación de los pacientes más susceptibles de desarrollar la principal complicación, VRP, tras una cirugía de DR y en consecuencia protocolizar un seguimiento más estrecho con el fin de prevenir su desarrollo. También cabe mencionar la posibilidad de desarrollar una medicina personalizada con tratamientos ajustados al perfil del paciente y la susceptibilidad que tienen ante ciertas complicaciones.

## **CONCLUSIÓN**

La variante p. Arg72Pro del gen *TP53* parece asociarse con un control de la apoptosis neuronal tras sufrir un DR, lo cual nos podría servir para identificar a los pacientes más susceptibles de sufrir complicaciones tras la cirugía.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Steel D. Retinal detachment. *BMJ Clin Evid* - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3940167>. 3 de marzo de 2014;2014:0710.
2. Diseases & Conditions - American Academy of Ophthalmology [Internet]. American Academy of Ophthalmology. 2022 [citado 3 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.aao.org/salud-ocular/enfermedades/desgarramiento-desprendimiento-retina>
3. Pronóstico y tratamiento del desprendimiento de retina [Internet]. Top Doctors. 2017 [citado 9 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.topdoctors.es/articulos-medicos/sintomas-y-tratamientos-del-desprendimiento-de-retina>
4. Desprendimiento de retina - EyeWiki [Internet]. [citado 2 de mayo de 2023]. Disponible en: [https://eyewiki.org/Retinal\\_Detachment](https://eyewiki.org/Retinal_Detachment)
5. Exudative Retinal Detachment - EyeWiki [Internet]. [citado 3 de mayo de 2023]. Disponible en: [https://eyewiki.org/Exudative\\_Retinal\\_Detachment](https://eyewiki.org/Exudative_Retinal_Detachment)
6. Desprendimiento de retina - Elsevier [Internet]. [citado 3 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-medica-clinica-las-condes-202-pdf-S0716864010706210>
7. Operación de desprendimiento de retina - IMO [Internet]. IMO. [citado 3 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.imo.es/patologias/operacion-desprendimiento-retina/>
8. Kwok JM, Yu CW, Christakis PG. Retinal detachment. *CMAJ Can Med Assoc J*. 23 de marzo de 2020;192(12):E312.
9. Desprendimiento de retina - Trastornos oftálmicos - MSD [Internet]. Manual MSD versión para profesionales. [citado 3 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.msmanuals.com/es-es/professional/trastornos-oft%C3%A1lmicos/enfermedades-retinianas/desprendimiento-de-retina>
10. Pastor JC. Proliferative Vitreoretinopathy. *Surv Ophthalmol*. julio de 1998;43(1):3-18.
11. Dpto. Bioquímica y Biología Molecular [Internet]. [citado 10 de mayo de 2023]. Disponible en: <http://proteinasestructurafuncion.usal.es/moleculas/SupresorTumoralp53/index.html>
12. Idoate SP. Genética de la inflamación en la reparación retiniana. 2013; Disponible en: [https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/7547/Trabajo%20Fin%20de%20Master%20Retina%202012\\_13\\_SALVADOR%20PASTOR.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/7547/Trabajo%20Fin%20de%20Master%20Retina%202012_13_SALVADOR%20PASTOR.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
13. Vías y mecanismos implicados en la apoptosis celular. Tomado... [Internet]. ResearchGate. [citado 10 de mayo de 2023]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/figure/Figura-2-Vias-y-mecanismos-implicados-en-la-apoptosis-celular-Tomado-de-Mitchell-R\\_fig2\\_341275954](https://www.researchgate.net/figure/Figura-2-Vias-y-mecanismos-implicados-en-la-apoptosis-celular-Tomado-de-Mitchell-R_fig2_341275954)

14. Pastor-Idoate S, Rodriguez-Hernández I, Rojas J, Fernández I, García-Gutierrez MT, Ruiz-Moreno JM, et al. The p53 codon 72 polymorphism (rs1042522) is associated with proliferative vitreoretinopathy: the Retina 4 Project. *Ophthalmology*. marzo de 2013;120(3):623-8.
15. Vías de señalización intracelular que conducen a la apoptosis de las células de la retina [Internet]. [citado 24 de mayo de 2023]. Disponible en: [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0365-66912003000700004](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-66912003000700004)
16. Eskandari E, Eaves CJ. Paradoxical roles of caspase-3 in regulating cell survival, proliferation, and tumorigenesis. *J Cell Biol*. 12 de mayo de 2022;221(6):e202201159.
17. Porter AG, Jänicke RU. Emerging roles of caspase-3 in apoptosis. *Cell Death Differ*. febrero de 1999;6(2):99-104.
18. Ramos-Araque ME, Rodriguez C, Vecino R, Cortijo Garcia E, de Lera Alfonso M, Sanchez Barba M, et al. The Neuronal Ischemic Tolerance Is Conditioned by the Tp53 Arg72Pro Polymorphism. *Transl Stroke Res*. 1 de abril de 2019;10(2):204-15.