

RESUMEN

Las degeneraciones retinianas son la principal causa de ceguera hereditaria debida, principalmente, a la pérdida de los fotorreceptores, los conos y los bastones. La retinosis pigmentaria (RP) es una forma frecuente de degeneración retiniana que constituye la principal causa genética de ceguera en los países desarrollados. Las mutaciones genéticas son las responsables de la muerte de los bastones. Sin embargo, la muerte de los conos parece debida a los cambios metabólicos que provoca la degeneración de los bastones como la hiperoxia (estrés oxidativo y nitrosativo), la secreción de diversos factores (citoquinas, quimioquinas) por parte de los bastones y otras células del entorno, etc. La muerte de los conos provoca la pérdida de la visión central en RP.

El principal objetivo de esta tesis es profundizar en el papel del estrés oxidativo y la inflamación en la muerte de los fotorreceptores en la RP. Para ello, en primer lugar, se analizó la respuesta antioxidante, la presencia de marcadores de estrés oxidativo/nitrosativo y el contenido de citoquinas en humor acuoso y en sangre periférica de pacientes con RP, que pudiesen estar implicados en la progresión o en el retraso de la enfermedad. En segundo lugar, se desarrolló un modelo *ex vivo* de degeneración retiniana mediante la realización de cultivos organotípicos de retina porcina expuestos a Zaprinast, un inhibidor de fosfodiesterasas (PDEs), simulando una de las mutaciones típicas de RP. Por último, se evaluó el efecto de la inhibición de TNF α con anticuerpos anti-TNF α sobre la progresión de la degeneración retiniana en el modelo *ex vivo* de retina porcina y en un modelo *in vivo* de RP, el ratón *rd10*.

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que los pacientes con RP presentan una deficiente respuesta antioxidante en el ojo y niveles elevados de algunos marcadores de estrés oxidativo/nitrosativo

en sangre periférica. A nivel ocular, estos pacientes tienen menor capacidad antioxidante total incluyendo una menor actividad del enzima superóxido dismutasa (SOD) 3. A nivel periférico, también presentan menor actividad del enzima SOD3, además de un incremento de indicadores de peroxidación lipídica y una activación de la vía óxido nítrico/GMP cíclico. Los pacientes con mejor respuesta antioxidante ocular mostraban mejor función visual sugiriendo un papel del estrés oxidativo en la progresión de la enfermedad. Por otro lado, se observó un incremento de la concentración de IL-6 y TNF α en el humor acuoso de estos pacientes corroborando resultados obtenidos por otros autores que sugieren que en RP existe una inflamación crónica sostenida.

El modelo experimental de degeneración retiniana *ex vivo*, reproduce algunas de las alteraciones que se han descrito en modelos murinos y en pacientes con RP. En este modelo la degeneración retiniana observada al inhibir el enzima PDE6 con Zaprinas, va acompañada de estrés oxidativo e inflamación. En este modelo la inhibición de TNF α con el anticuerpo Infliximab, reduce la degeneración retiniana, la activación de las células de Müller y normaliza la capacidad antioxidante total aunque no reduce el contenido de marcadores de estrés oxidativo.

En el ratón *rd10*, el tratamiento con Adalimumab, anticuerpo monoclonal anti-TNF α , reduce la muerte de los fotorreceptores y la gliosis reactiva a día postnatal 18. La inhibición de TNF α reduce la actividad de la poli(ADP) ribosa polimerasa (PARP), enzima implicada en el proceso de muerte celular, previene la sobreexpresión de las citoquinas TNF α y factor inhibidor de leucemia (LIF) y mejora la respuesta antioxidante.

En definitiva, estos resultados confirman la hipótesis de que alteraciones del sistema antioxidante y los procesos inflamatorios a nivel ocular están implicados en la patogénesis de la RP en pacientes. El

modelo *ex vivo* de degeneración retiniana en retina porcina puede ser un modelo alternativo útil para la búsqueda de dianas terapéuticas y el ensayo de diversas drogas que prevengan o retrasen la muerte de los fotorreceptores. Nuestros resultados sugieren que en RP el TNF α desempeña un papel importante en la muerte de las células de la retina activando diversas vías de muerte celular. El diseño de estrategias que promuevan su bloqueo pueden ser terapias prometedoras en pacientes con RP.

