

LA IMPORTANCIA DE LOS MODELOS ANIMALES DE RETINOSIS PIGMENTARIA EN LA LUCHA CONTRA LA ENFERMEDAD

Agurtzane Rivas y Elena Vecino

Departamento de Biología Celular e Histología, Facultad de Medicina, Universidad del País Vasco



La retinosis pigmentaria (RP) es una enfermedad de origen genético, sin embargo algunos pacientes no presentan historia familiar. A día de hoy han sido implicados 40 genes en dicha patología pero las bases genéticas del 50% de los casos son todavía desconocidas. Estos genes defectuosos están implicados en diferentes funciones, todas ellas clave en el correcto funcionamiento del proceso de la visión. Esta heterogeneidad es la responsable de la diferente progresión degenerativa entre unos pacientes y otros.

Muchos de los genes mutados, encontrados en los modelos animales de RP, han sido, después, descubiertos como responsables de la patología en humanos. Por ejemplo el descubrimiento del gen *Mertk* mutado en ratas RCS (Royal College of Surgeon), causante de una degeneración de la retina (D'Crux et al., 2000), posibilitó el hallazgo de esta misma alteración en humanos con RP (Gal et al., 2000). Este es un ejemplo del efecto dominó que puede producirse con solo un análisis genético de un simple modelo animal, y que da

lugar a un mejor entendimiento de las distintas formas de RP en humanos.

De esta manera, los modelos animales son verdaderos modelos que mimetizan perfectamente la enfermedad humana desde un punto de vista genético y también produce similares condiciones fenotípicas de pérdida de visión.

Actualmente no hay ningún tratamiento aplicable a nivel clínico, pero numerosos grupos de investigación trabajan con modelos animales en el desarrollo de estrategias terapéuticas dirigidas a curar la enfermedad genética específica mediante: terapia génica (Acland et al., 2001), ralentizando o deteniendo la enfermedad con factores de crecimiento (Sahel, 2005), reemplazando las células perdidas por medio de trasplantes (Lund et al., 2003) o desarrollando prótesis retinales (Gekeler et al., 2006). Todos estos resultados han sido posibles gracias al uso de modelos animales de retinosis pigmentaria (RP), que reproducen la patología humana facilitando el conocimiento de sus causas así como el desarrollo de terapias.

Hay un gran número de modelos experimentales para esta enfermedad. Podemos dividirlos en animales con mutación natural, desarrollada espontáneamente o animales transgénicos en los que la enfermedad ha sido inducida por medio de manipulación genética. Las mutaciones naturales han sido detectadas gracias al trabajo de los veterinarios, bien en las clínicas veterinarias, bien en las granjas de producción de animales. Así encontramos mutaciones naturales en perros (Aguirre and Rubin, 1975), gatos (Narfstrom, 1985), pollos (Ulshafer and Allen, 1985), ratas (Dowling and Sidman, 1962) y ratones (Keeler, 1966).

Los modelos caninos con los que se trabaja, desde los años 70, en el grupo del Dr. Aguirre en la Universidad de Pensilvania han sido, sin duda, cruciales en el estudio de la enfermedad y en el desarrollo de nuevas terapias como la terapia génica, tan en auge en los últimos años (Acland et al., 2001), o las células encapsuladas liberadoras de factores neurotróficos (Tao et al., 2002), ambas técnicas se encuentran actualmente en fase clínica (Sieving et al., 2002; Bainbridge et al., 2008; Maguire et al., 2008).

Ratas y ratones por otra parte, animales de experimentación por excelencia, nos proporcionan modelos animales con numerosas ventajas para el estudio de la enfermedad. Su corta vida media permite evaluaciones del transcurso de la enfermedad en breves periodos de tiempo, los protoco-

los para estudios genéticos están bien establecidos, su corto periodo gestacional nos provee de grandes camadas en poco tiempo y el mantenimiento en estabularios no tiene complicaciones. El tamaño del ojo de la rata, al ser un poco más grande que el del ratón simplifica las manipulaciones quirúrgicas y los exámenes oftalmológicos.

Los animales modificados genéticamente pueden ser creados por transgénesis, que consiste en la transferencia de genes en un organismo mediante el uso de bacterias, virus o pistolas de genes o bien generando animales knock-out que son aquellos en los que se ha bloqueado la expresión de un gen específico, evitando la formación de la proteína correspondiente.

Existen modelos animales de RP, creados mediante manipulación genética en ratas (Berson et al., 1991), ratones (Heckenlively, 1988), cerdos (Petters et al., 1997) y recientemente en conejo (Kondo et al., 2008). El desarrollo de la biología molecular ha permitido la generación de gran variedad de modelos animales transgénicos, lo que ha resultado especialmente importante en enfermedades tan heterogéneas genéticamente como la RP.

El Dr. Petters creó, a finales de los 90, un modelo de RP porcino manipulado genéticamente, este modelo resultó de gran interés debido a que la retina de los cerdos es más similar a la humana que otros animales de gran tamaño como perro, cabra o vaca y por supuesto más que los roedores, animales nocturnos que constan de mayor densidad de fotorreceptores de bastón que los diurnos.

Cuando el investigador diseña un experimento con un modelo animal de RP, tiene que pensar que modelo es el más adecuado a las necesidades de su trabajo, por ejemplo tendrá que tener en cuenta cuestiones como el tiempo de degeneración de la mutación a estudio, la vida media del animal, la necesidad de aparatos oftalmológicos adaptados a los animales más pequeños, etc. así como tener unas buenas instalaciones para el mantenimiento de los animales, lo que es más difícil en el caso de los animales de gran tamaño como perro, gatos o cerdos.

No podemos olvidar, sin embargo, que se trata de seres vivos, por lo que siempre ha de procurarse el mejor trato y cuidado de los animales reduciendo el número de prácticas experimentales. La experimentación animal, además, solo puede llevarse a cabo en el caso de que no se cuente con otras técnicas alternativas.

Bibliografía

Aguirre G.D. and Rubin L.F. (1975). Rod-cone dysplasia (progressive retinal atrophy) in Irish setters. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 166,157-164.

Acland G.M., Aguirre G.D., Ray J., Zhang Q., Aleman T.S., Cideciyan A.V., Pearce-Kelling S.E., Anand V., Zeng Y., Maguire A.M., Jacobson S.G., Hauswirth W.W. and Bennett J. (2001). Gene therapy restores vision in a canine model of childhood blindness. *Nat. Genet.* 27, 92–95.

Bainbridge J.W., Smith A.J., Barker S.S., Robbie S., Henderson R., Balaggan K., Viswanathan A., Holder G.E., Stockman A., Tyler N., Petersen-Jones S., Bhattacharya S.S., Thrasher A.J., Fitzke F.W., Carter B.J., Rubin G.S., Moore A.T. and Ali R.R. (2008). Effect of gene therapy on visual function in Leber's congenital amaurosis. *N. Engl. J. Med.* 358, 2231-2239.

Berson E.L., Rosner B., Sandberg M.A., Weigel-DiFranco C. and Dryja T.P. (1991). Ocular findings in patients with autosomal dominant retinitis pigmentosa and rhodopsin, proline-347- leucine. *Am. J. Ophthalmol.* 111, 614-623.

D'Cruz P. M., Yasumura D., Weir J., Matthes M.T., Abderrahim H., LaVail M.M., and Vollrath D. (2000). Mutation of the receptor tyrosine kinase gene *Mertk* in the retinal dystrophic RCS rat. *Hum. Mol. Genet.* 9, 645–651.

Dowling J.E. and Sidman, R.L. (1962). Inherited retinal dystrophy in the rat. *J. Cell Biol.* 14, 73– 109.

Gal, A., Li, Y., Thompson D. A., Weir, J., Orth, U., Jacobson, S. G., Apfelstedt-Sylla, E., & Vollrath, D. (2000). Mutations in *MERTK*, the human orthologue of the RCS rat retinal dystrophy gene, cause retinitis pigmentosa. *Nature Genetics*, 26,270–271 .

Gekeler F., Szurman P., Grisanti S., Weiler U., Claus R., Greiner T.O., Völker M., Kohler K., Zrenner E. and Bartz-Schmidt K.U. (2006). Compound subretinal prostheses with extra-ocular parts designed for human trials: successful long-term implantation in pigs. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 245, 230-241.

Heckenlively, J.R., Yoser S.L., Friedman L.H. and Oversier J.J. (1988). Clinical findings and common symptoms in retinitis pigmentosa. *Am.J. Ophthalmol.* 105, 504-511.

Keeler, C. (1966). Retinal degeneration in the mouse is rodless retina. *J. Hered.* 57, 47–50.

Kondo M., Sakai T., Komeima K., Kurimoto Y., Koyasu T., Nishizawa Y. Usukura J., Fujikado T., Tano Y., Terasaki H. (2008). Generation and Characteristics of Transgenic Rabbit Model of Retinal Degeneration. *ARVO E-abstract:2200.*

Lund R.D., Ono S.J., Keegan D.J., Lawrence J.M. (2003). Retinal transplantation: progress and problems in clinical application. *J. Leukoc. Biol.* 74, 151–160.

Maguire A.M., Simonelli F., Pierce E.A., Pugh E.N. Jr., Mingozzi F., Bennicelli J., Banfi S., Marshall K.A., Testa F., Surace E.M., Rossi S., Lyubarsky A., Arruda V.R., Konkle B., Stone E., Sun J., Jacobs J., Dell'Osso L., Hertle R., Ma J.X., Redmond T.M., Zhu X., Hauck B., Zelenia O., Shindler K.S., Maguire M.G., Wright J.F., Volpe N.J., McDonnell J.W., Auricchio A., High K.A., Bennett J. (2008). Safety and efficacy of gene transfer for Leber's congenital amaurosis. *N. Engl. J. Med.* 358, 2240-2248.

Narfstrom K. (1985). Progressive retinal atrophy in the Abyssinian cat. Clinical characteristics. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 26, 193-200.

Sahel J.A. (2005). Saving cone cells in hereditary rod diseases: a possible role for rod-derived cone viability factor (RdCVF) therapy. *Retina* 2005; 25, 38–39.

Sieving P.A., Caruso R.C., Tao W., Coleman H.R., Thompson D.J., Fullmer K.R., Bush R.A. (2006). Ciliary neurotrophic factor (CNTF) for human retinal degeneration: phase I trial of CNTF delivered by encapsulated cell intraocular implants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 3896–3901.

Tao W., Wen R., Goddard M.B., Sherman S.D., O'Rourke P.J., Stabila P.F., Bell W.J., Dean B.J., Kauper K.A., Budz V.A., Tsiaras W.G., Acland G.M., Pearce-Kelling S., Laties A.M., and Aguirre G.D. (2002) Encapsulated Cell-Based Delivery of CNTF Reduces Photoreceptor Degeneration in Animal Models of Retinitis Pigmentosa. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 43, 3292-3298.

Peters R.M., Alexander C.A., Wells K.D., Collins E.B., Sommer J.R., Blanton M.R., Rojas G., Hao Y., Flowers W.L., Banin E., Cideciyan A.V., Jacobson S.G. and Wong F. (1997). Genetically engineered large animal model for studying cone photoreceptor survival and degeneration in retinitis pigmentosa. *Nature Biotechnol.* 15, 965-970.

Ulshafer R.J. and Allen C. (1985). Ultrastructural changes in the retinal pigment epithelium of congenitally blind chickens. *Curr. Eye Res.* 4, 1009–1021.



LA CAIXA COLABORA CON FARPE
EN LA LUCHA CONTRA LA CEGUERA