

## Artículo de Revisión

### ***Degeneración Macular Asociada a la Edad: importancia del uso de modelos animales para el estudio de su patogénesis y potenciales agentes terapéuticos*** ***(Age-related macular degeneration: importance of the use of animals models for the study of its pathogenesis and potential therapeutic agents)***

***Por Bioq. Albana Tovo, Daniela I. Costantini (estudiante de Bioquímica), Dra. Paula V. Subirada y Dr. Pablo F. Barcelona***

***pbarcelona@unc.edu.ar***

***Integrantes del CIBICI-CONICET, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.***

#### **Resumen**

La degeneración macular asociada a la edad (DMAE) es una patología multifactorial donde se produce la degeneración de la macula, región de la retina de mayor densidad de fotorreceptores, la cual genera la pérdida de la visión central. La DMAE es una enfermedad crónica, que afecta mayoritariamente a adultos mayores de 65 años. Sus mecanismos patogénicos no son conocidos en su totalidad, por esa razón profundizar su estudio es fundamental para el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos. En este sentido, los animales de experimentación son una herramienta valiosa ya que nos ofrecen la posibilidad de estudiar múltiples procesos que se llevan a cabo durante esta patología. Entre las diversas especies actualmente utilizadas, se destacan ampliamente los roedores, aunque ninguna de ellas logra reproducir en su totalidad las etapas de la patología tal y como ocurre en los seres humanos. En esta revisión, intentaremos exponer las virtudes y limitaciones de los diferentes modelos animales disponibles en la actualidad, para mejorar el entendimiento de los mecanismos de la DMAE así como para aplicar en el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas para su prevención y tratamiento.

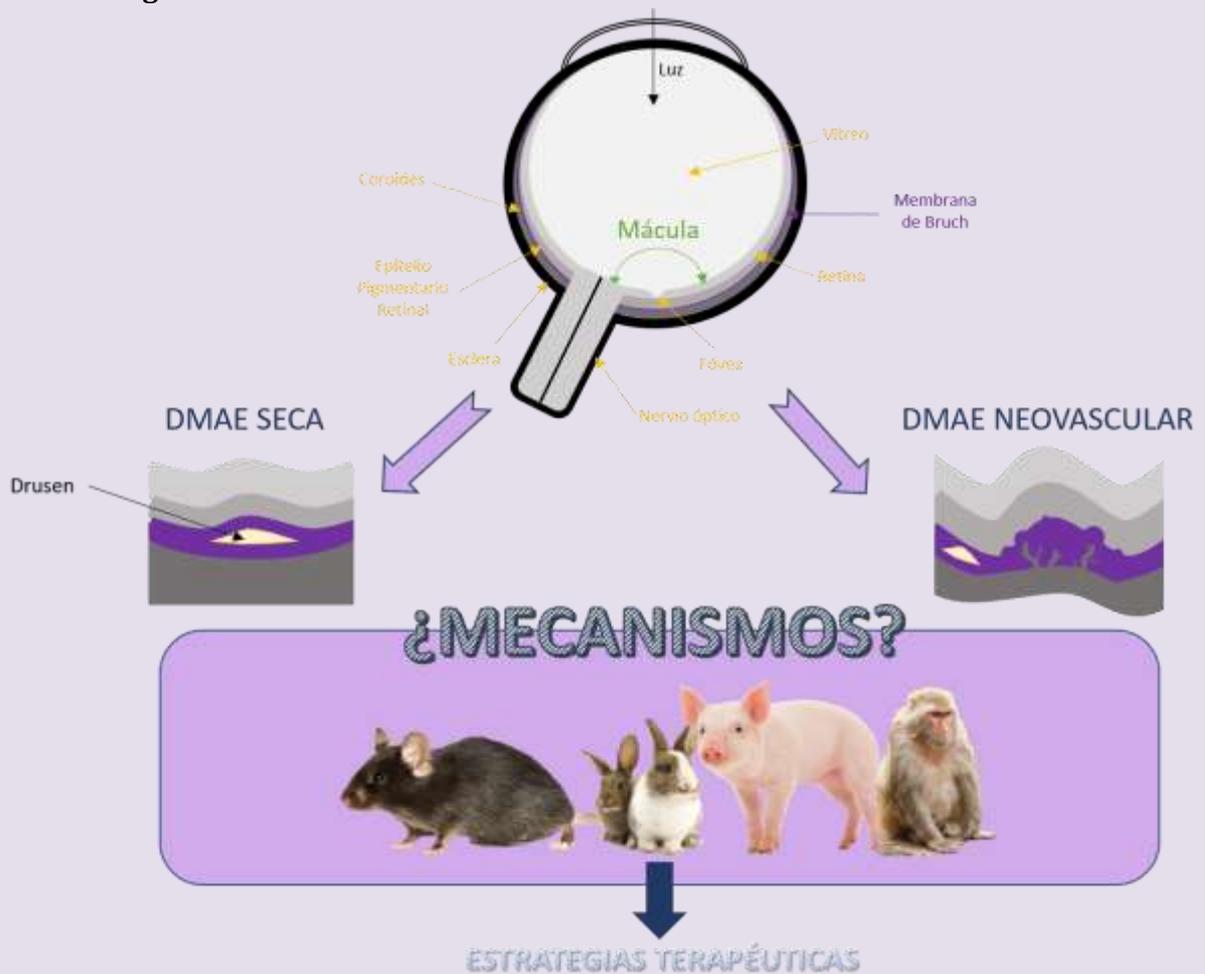
#### **Abstract**

Age-related macular degeneration (AMD) is a multifactorial pathology where macula, high photoreceptor region of the retina, suffers a degeneration causing loss of central vision. AMD is a chronic disease that mainly affects adults over 65 years old. Its pathogenic mechanisms are unknown plenty, therefore it is important to deepen the study of its pathogenic mechanisms in order to develop new therapeutic agents. In this sense, experimental animals are a valuable tool since they offer us the possibility of studying multiple processes during the pathology. Among the various species currently used, rodents widely stand out, although none of them allow to fully reproduce the stages of the

pathology as it occurs in humans. In this review, we will try to expose the virtues and limitations of the different animal models available today, to improve the understanding of the mechanisms of AMD as well as their application in the development of new therapeutic strategies for its prevention and treatment.

**Palabras Claves** Degeneración macular asociada a la edad, Modelos Animales, Neovascularización, Coroides, Retina.

**Resumen gráfico**



## Introducción

La degeneración macular asociada a la edad (DMAE) es una afección progresiva que se manifiesta de manera gradual en un alto porcentaje en personas mayores de 50 años (1). Esta enfermedad constituye la principal causa de ceguera severa e irreversible en los países desarrollados, y la tercera en todo el mundo (2). En los próximos 20 años se espera un incremento mayor al 70% en la prevalencia de las enfermedades directamente relacionadas con el envejecimiento tal como es la DMAE (3,4).

La Macula es el área central de la retina donde la densidad de fotorreceptores es mayor, lo cual proporciona la agudeza visual que permite al ojo percibir detalles finos y pequeños (4). Esta región de la retina se especializa en la captación de las imágenes que ocupan el centro de nuestro campo visual, para luego ser transmitidas a través de las células ganglionares una señal eléctrica al cerebro (5).

La DMAE se la clasifica en DMAE seca y DMAE neovascular. En el primer caso, se produce la formación de depósitos de lípidos, proteínas y debris celulares denominados Drusen, en la interfaz del Epitelio Pigmentario Retinal (EPR) y la membrana de Bruch, lo cual induce un déficit en el aporte nutricional por parte del EPR hacia los fotorreceptores. En el segundo caso, se generan neovasos desde la vasculatura coroidea que invaden la retina mediante la ruptura de la membrana de Bruch y causan el desprendimiento de la retina con consecuente degeneración de fotorreceptores y déficit visual (6).

En la actualidad existen tres hipótesis acerca de su patogénesis. Una de ellas, la “teoría hemodinámica”, plantea que el depósito de lípidos en la esclera y en la membrana de Bruch induce un endurecimiento del tejido y particularmente de los vasos coroideos de manera similar a la aterosclerosis, disminuyendo el flujo sanguíneo y aumentando la presión de los coriocapilares, lo cual culmina con la Neovascularización Coroidea (NVC) (6). Otra, sostiene que hay una disfunción del EPR en la que el estrés oxidativo sumado a la activación del complemento, estimulan la síntesis de factores proinflamatorios y proangiogénicos (7). Finalmente, otra corriente de pensamiento hipotetiza que un estado inflamatorio crónico del microambiente ocular induce la activación células inflamatorias residentes y el reclutamiento de las células circulatorias, o promoviendo la síntesis y secreción de factores angiogénicos (8). Sin embargo, los mecanismos patogénicos exactos y la secuencia temporal en la que estos tienen lugar son aún desconocidos.

La relevancia del estudio de la DMAE radica en que esta es una patología crónica en la que los síntomas comienzan siendo leves o imperceptibles, hasta culminar con la pérdida de la visión sino se tratan a tiempo (4). Por tal motivo el uso de modelos animales que reproduzcan algunos los aspectos más importantes de la patología, proporciona una herramienta importante para la comprensión de los mecanismos bioquímicos, celulares y moleculares involucrados en la progresión de la patología, así como en el desarrollo de nuevos tratamientos.

## Modelos experimentales de DMAE

Como ya se mencionó, hay múltiples mecanismos moleculares y celulares que están involucrados y conocer más acerca de ellos favorecerá el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos. Con este objetivo, el uso de animales de experimentación constituye una herramienta clave para su investigación. Aunque hasta el momento aún no existe ningún

modelo que reproduzca la patología tal y como ocurre en los humanos, hay una amplia variedad de modelos que permiten evaluar diferentes aspectos por lo que la selección de cada una de ellos dependerá de sus virtudes y debilidades. Si bien, se han establecido modelos en primates, cerdos, conejos, ratas y ratones, los roedores son los más utilizados por su bajo costo de mantenimiento, facilidad de reproducir la patología parcialmente, pero en tiempos cortos sumado a la posibilidad de ser modificados genéticamente. Sin embargo, la principal desventaja anatómica de esta especie es que carece de mácula. A pesar de ello, se ha descrito que el área central de la retina de roedores posee una mayor concentración de bastones, un tipo de fotorreceptores (5). Por el contrario, los grandes animales tienen a su favor la cercanía genética con los humanos, pero los costos, manejo, manipulación genética y tiempo de desarrollo de la enfermedad hacen que su uso sea muy limitado.

Para el estudio de la DMAE seca hay una amplia variedad de modelos que se pueden utilizar dependiendo cuál sea el mecanismo que se desea investigar. Como se mencionó anteriormente, es una patología que tiene un fuerte componente inflamatorio (9). Se cree que el complemento podría tener implicancia en la formación de los depósitos de Drusen, por lo tanto, hay ratones transgénicos que sobreexpresan C3 así como ratones deficientes para los receptores de C3a y C5a entre otros. A su vez, para estudiar el rol de las quimiocinas y el reclutamiento de células mononucleares, se puede optar por ratones deficientes para CFH, CCL2, CCR2, CX3CR1. Por otro lado, factores externos tales como la dieta o el tabaquismo son fuentes de estrés oxidativo y también pueden desencadenar la DMAE. En relación a este último mecanismo, existen modelos de ratones con dietas ricas en glucosa y/o lípidos o ratones genéticamente modificados en los genes CTSD, CP o APOE, así como en marcadores de estrés oxidativo tales como SOD1 y SOD2 (10,11,12). Sin embargo, en la mayoría de estos modelos los ratones muestran cambios en la retina luego de 12-24 meses de edad, generando una dificultad experimental para evaluar distintos tratamientos. Existen otros modelos donde el daño retiniano se produce de forma aguda, inducidos por la inyección sistémica de yodato de sodio, un oxidante específico del EPR (13), o por una exposición prolongada a luz de alta intensidad (14) pero en este caso los cambios son muy diferentes de los cambios crónicos y progresivos que se encuentran en la DMAE humana. En estos últimos años se ha desarrollado un modelo que genera alteración del flujo sanguíneo coroideo mediante una por la remoción del ganglio cervical superior (15)

Respecto al estudio de DMAE neovascular, el modelo más utilizado es el denominado neovascularización coroidea inducida por láser de fotocoagulación (16), donde se realiza la inducción por daño térmico de un láser sobre el EPR que irrumpe la integridad de la membrana de Bruch. Este modelo permite evaluar el componente inflamatorio y neovascular a cortos tiempos 7-14 días y se puede realizar tanto en primates como en roedores (16). También existe un modelo quirúrgico de NVC en el que se inyecta Matrigel en el espacio subretinal, la cual es una sustancia rica en proteínas de la matriz extracelular y sustancias proangiogénicas que favorecen la neovascularización, este modelo puede ser aplicado en cerdos, conejos y también en roedores (17).

Es importante resaltar que los animales de experimentación, principalmente ratones, constituyen una herramienta fundamental e irremplazable para el estudio de las características de la DMAE. Destacando su facilidad de manipulación así como la

posibilidad de estudiar la gran cantidad de variables que participan en esta patología tan compleja en tiempos cortos. Es necesario continuar avanzando en el conocimiento de la patogénesis, para que el desarrollo de modelos más específicos y terapias novedosas sea posible.

### Referencias Bibliográficas

1. Gohel PS, Mandava N, Olson JL, Durairaj VD. Age-related macular degeneration: an update on treatment. (2008) *Am J Med.* 121(4):279-81.
2. Resnikoff S, Pascolini D, Etya'ale D, Kocur I, Pararajasegaram R, Pokharel GP, Mariotti SP. Global data on visual impairment in the year 2002. (2004) *Bull World Health Organ.* 82(11):844-51.
3. Gohdes DM, Balamurugan A, Larsen BA, Maylahn C. Age-related eye diseases: an emerging challenge for public health professionals. (2005) *Prev Chronic Dis,* 2(3):A17.
4. Wong TY, Chakravarthy U, Klein R, Mitchell P, Zlateva G, Buggage R, Fahrback K, Probst C, Sledge I. The natural history and prognosis of neovascular age-related macular degeneration: a systematic review of the literature and meta-analysis. (2008) *Ophthalmology,* 115(1):116-26.
5. Volland S, Esteve-Rudd J, Hoo J, Yee C, Williams DS. A comparison of some organizational characteristics of the mouse central retina and the human macula. (2015) *PLoS One,* 29;10(4):e0125631.
6. Katie L. Pennington and Margaret M. De Angelis. Epidemiology of age-related macular degeneration (AMD): associations with cardiovascular disease phenotypes and lipid factors. (2016) *Eye and vision,* 22;3:34.
7. Jayakrishna Ambati, Benjamin J. Fowler. Mechanisms of age-related macular degeneration. (2012) *Neuron.* 2012 Jul 12;75(1):26-39.
8. Michelle Grunin, Shira-Hagbi-Levi, Batya Rinsky, Yoav Smith, Itay Chowers. Transcriptome Analysis on Monocytes from Patients with Neovascular Age-Related Macular Degeneration. (2016) *Sci Rep* 4;6:29046.
9. Kumar-Singh R. The role of complement membrane attack complex in dry and wet AMD. (2019) *Exp Eye Res.* 184:266-277.
10. Fletcher EL, Jobling AI, Greferath U, Mills SA, Waugh M, Ho T, de Jongh RU, Phipps JA, Vessey KA. Studying age-related macular degeneration using animal models. (2014) *Optom Vis Sci.* 91(8):878-86. Review.
11. Mark E Pennesi, Martha Neuringer, Robert J Courtney. Animal models of age related macular degeneration. (2012) *Mol Aspects Med.*;33(4):487-509.

12. Hema L Ramkumar, Jun Zhang, Chi-Chao Chan. Retinal ultra structure of murine models of dry age-related macular degeneration (AMD). (2010) Prog Retin Eye Res;29(3):169-90.
13. Carido, M., Zhu, Y., Postel, K., Benkner, B., Cimalla, P., Karl, M. O., Kurth, T., Paquet-Durand, F., Koch, E., Münch, T. A. et al. Characterization of a mouse model with complete RPE loss and its use for RPE cell transplantation.(2014). Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 55, 5431-5444.
14. Bordone, M. P., Lanzani, M. F., López-Costa, J. J., Chianelli, M. S., Franco, P., Sáenz, D. A. and Rosenstein, R. E. Bacterial lipopolysaccharide protects the retina from light-induced damage.(2012). J. Neurochem. 122, 392-403.
15. Vincent Lambert , Julie Lecomte, Sylvain Hansen, Silvia Blacher, Maria-Luz Alvarez Gonzalez, Ingrid Struman, Nor Eddine Sounni, Eric Rozet, Pascal de Tullio, Jean Michel Foidart, Jean-Marie Rakic, Agnès Noel. Laser-induced choroidal neovascularization model to study age-related macular degeneration in mice. (2013)Nat. Protoc. 8, 2197–2211.
16. Liu T , Hui L, Wang Y, Guo J, Li R, Su J, Chen J, Xin X, Li W (2013) In-vivo investigation of laser-induced choroidal neovascularization in rat using spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT) Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 251:1293–1301
17. Cao J, Zhao L, Li Y, Liu Y, Xiao W, Song Y, Luo L, Huang D, Yancopoulos GD, Wiegand SJ, Wen R. A (2010). A subretinal matrigel rat choroidal neovascularization (CNV) model and inhibition of CNV and associated inflammation and fibrosis by VEGF trap. Invest Ophthalmol Vis Sci.;51(11):6009-17.