

Investigar entre todos: Hacia la identificación de factores que podrían contribuir a la recuperación funcional de la Retinitis Pigmentosa.

Paola Bovolenta, *Centro de Biología Molecular “Severo Ochoa”, CSIC-UAM y CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER).*

Desde hace tiempo nuestro laboratorio, con el apoyo de Fundaluce, la Fundación ONCE y en un principio también de Retina España, se ha centrado en identificar factores difusibles, y por lo tanto posibles mediadores de comunicación y de interacción celular, que pudieran estar implicados en la progresión de la degeneración de los fotorreceptores, utilizando modelos murinos para esta enfermedad. Nuestra búsqueda, por motivo que ya hemos presentado (Cisneros and Bovolenta, 2010) terminó en un grupo de proteínas secretables conocida como Secreted Frizzled Related Proteins (Sfrps).

Como primera pregunta nos planteamos si estas proteínas tenían alguna función en el desarrollo y/o en mantener la homeostasis de los fotorreceptores. En la retina de ratón se expresan tres Sfrps: Sfrp1, Sfrp2 y Sfrp5 . Para determinar su posible papel, decidimos utilizar ratones en los cuales se ha inactivado la actividad de estos genes, centrándonos en un primer momento en Sfrp1 y utilizando por lo tanto ratones *Sfrp1*^{-/-}. Estos ratones no parecían tener alteraciones debida al desarrollo del ojo y la estructura de la retina adulta parecía a primera vista similar a la de ratones silvestres. Sin embargo, en un análisis más detallado nos dimos cuenta que los ratones *Sfrp1*^{-/-} presentaban alteraciones en el segmento externo de algunos fotorreceptores. Estos defectos eran bastantes sutiles en adultos jóvenes pero se iban acentuando con la edad de los ratones. De hecho, en colaboración con la Dra. Conchi Lillo (INCyL de Salamanca) pudimos llevar a cabo un análisis ultraestructural que demostró la presencia de una desorganización de los fotorreceptores, particularmente evidente en los conos. Estas alteraciones consistían en la presencia de núcleos picnóticos (indicador de muerte celular) en la capa de los fotorreceptores, un desplazamiento de los núcleos de los conos y degeneración de sus segmentos externos y de los contactos sinápticos entre fotorreceptores y células bipolares. Además, en distintas regiones de

la retina se observaba una pérdida de la integridad de la membrana limitante externa. Esta membrana está formada por el conjunto de las uniones adherentes entre la parte inicial del segmento externo de los fotorreceptores y las células gliales de Müller. Estas uniones están parcheadas o ausentes en los ratones deficientes en *Sfrp1*.

Recientemente hemos demostrado que *Sfrp1* desempeña un papel en la regulación de ADAM10 (Esteve et al., 2011), una metaloproteasa responsable del procesamiento de múltiples substratos, incluidos algunos que son muy abundantes en la membrana limitante externa (Weber and Saftig, 2012). Postulamos por lo tanto que, en ausencia de *Sfrp1*, la actividad de ADAM10 sería mayor, y que por lo tanto causaría un incremento de la proteólisis de proteínas de las uniones adherentes. Un análisis bioquímico nos confirmó que efectivamente este era el caso. Estudios previos han demostrado que un aumento del procesamiento de moléculas de las uniones adherentes pueden causar degeneración de fotorreceptores, proporcionando apoyo a la hipótesis que *Sfrp1* podría ser clave en regular las conexiones entre fotorreceptores y otros tipos celulares (i.e. glia de Müller), favoreciendo así su supervivencia.

Si esto fuera así, cabría esperar que la retina de ratones *Sfrp1*^{-/-} fuera más sensible a un estímulo foto-toxico como es la exposición a una luz muy intensa. Asimismo, la ausencia de *Sfrp1* debería acelerar la muerte celular en ratones modelos de RP. Para abordar la primera hipótesis expusimos grupos de ratones silvestres y *Sfrp1*^{-/-} a estímulos lumínicos nocivos mientras que en el segundo caso cruzamos ratones deficientes en *Sfrp1* con un modelo murino de RP. En ambos modelos, observamos que en ausencia de *Sfrp1* el fenotipo de pérdida de fotorreceptores se agravaba, apoyando la idea que *Sfrp1* podría ser un factor de susceptibilidad para la degeneración de los fotorreceptores.

Si esto fuera así, también cabría esperar que elevar los niveles de *Sfrp1* en retina debería poder ralentizar la degeneración de los fotorreceptores. Con el asesoramiento y ayuda de distintos investigadores nos propusimos por lo tanto generar partículas lentivirales que nos permitieran probar esta hipótesis. Después de un considerable esfuerzo para poner a punto la técnica, hemos llevado a cabo los primeros experimentos con resultados que inducen a un moderado optimismo.

Agradecimientos

Quiero agradecer el apoyo constante de todos los miembros del laboratorio a este proyecto, muy en especial a Elsa Cisneros que durante su estancia en el laboratorio ha dedicado todos sus esfuerzos a la consecución de los resultados aquí escritos. También agradezco a los miembros del CBMSO, CSIC-UAM y del Ciberer su ayuda y en particular a Fundaluce y a la Fundación ONCE por confiar en nosotros. También quiero agradecer otras fuentes de financiación que hacen posible el trabajo de nuestro grupo: MICINN (BFU2010-16031), Comunidad Autónoma de Madrid (CAM, S2010/BMD-2315) y ACCI del CIBERER.

Referencias

- Cisneros E, Bovolenta P. (2010) Sfrp1: una molécula candidata para frenar la degeneración de la retina. *Visión*, 37, 23-27
- Esteve P, Sandonis A, Cardozo M, Malapeira J, Ibanez C, Crespo I, Marcos S, Gonzalez-Garcia S, Toribio ML, Arribas J, Shimono A, Guerrero I, Bovolenta P (2011) SFRPs act as negative modulators of ADAM10 to regulate retinal neurogenesis. *Nature neuroscience* 14:562-569.
- Weber S, Saftig P (2012) Ectodomain shedding and ADAMs in development. *Development* 139:3693-3709.