

Estudio in vivo en ratones del efecto de la progesterona para el tratamiento de la retinosis pigmentosa

Alambiaga Caravaca Adrián M *, Cantón Antolín, Rodilla Vincent, Miranda Sanz María, López Castellano Alicia

Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad CEU Cardenal Herrera. CEU Universities, C/Santiago Ramón y Cajal, s/n., Alfara del Patriarca, 46115, Valencia, España

*Correspondencia: adrian.alambiagacaravaca@uchceu.es

1. Introducción

La retinosis pigmentaria (RP) es un grupo de enfermedades degenerativas retinianas hereditarias que provoca la muerte de las células fotorreceptoras para la que los tratamientos actuales tienen un éxito limitado [1].

Se ha demostrado que la administración oral de altas concentraciones de progesterona (PG), actúa en múltiples niveles para retrasar la muerte de los fotorreceptores en el transcurso de la RP [2]. Asimismo se ha estudiado la permeabilidad ocular de la PG ex vivo utilizando distintas formulaciones animales [3–5].

El objetivo del trabajo que se presenta es estudiar in vivo la eficacia de la PG administrada tópicamente para el tratamiento de la RP.

2. Materiales y métodos

2.1. Modelo animal utilizado y tratamiento

Como modelo experimental de RP se utilizaron ratones rds (Retinal Degeneration Slow), ($N \geq 8$) que fueron tratados con una solución acuosa de PG en ciclodextrinas a una concentración de 1 mg/mL entre los días 11 y 21 post-natal. En el ojo izquierdo (OI) de los ratones tratados (RT) se administró una gota de la solución de PG cada 12 horas. Una vez finalizado el tratamiento se procedió al sacrificio del animal y se enuclearon los ojos. Los ratones del grupo control (RC) fueron tratados en el OI con suero salino. Los

ojos derechos (OD) no fueron tratados para estudiar un posible efecto sistémico.

2.2. Tinciones

Tras el procesamiento convencional los ojos se cortaron con un criostato Leica CM 1850 UV Ag protect, (Leica Microsistemas SLU, Barcelona, España) en secciones de 8 μ m.

Se realizó una tinción fluorescente doble de TUNEL (In Situ Cell Death Detection Kit) y GFAP (Glial fibrilar acidic protein). Finalmente se montaron los cortes utilizando el medio de montaje Vectaschield con DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol).

Los cortes histológicos se fotografiaron en la parte central a 20X mediante una cámara Nikon DS-Fil acoplada a un microscopio Leica DM 2000. En la tinción TUNEL se contaron el número de células positivas por área. En la tinción de GFAP se cuantificó el porcentaje de área con marcaje. Finalmente, mediante la contratinción DAPI se contaron el número de filas de núcleos en la capa nuclear externa. Para ello se utilizó el programa informático Fiji.

2.3. Análisis estadístico

La normalidad de los datos se evaluó mediante el test de Shaphiro-Wilk y la homocedasticidad con el test de Levene. El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías seguida por una comparación de medias marginales mediante el test de Bonferroni. En todos los casos se utilizó una significación de $\alpha < 0,05$.

3. Resultados y Discusión

El recuento de células marcadas con la tinción TUNEL demuestra que existen diferencias estadísticamente significativas entre los ojos que han recibido tratamiento (OI-RT) y los que no (OI-RC) (Fig 1A). Existe una disminución en el número de células TUNEL positivas en ratones tratados con PG. Esta misma diferencia se observó también en la tinción de GFAP (Fig 1B). En cambio, en el recuento de filas de la capa nuclear externa (CNE) (Fig 1C) no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los ojos tratados de los dos grupos (OI-RT y OI-RC).

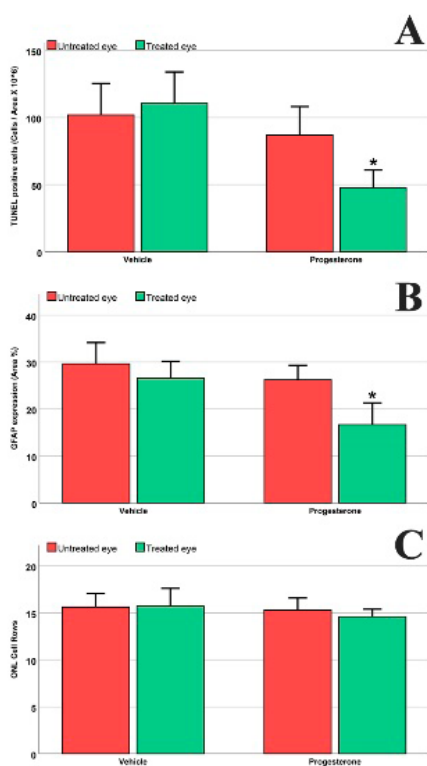


Fig. 1. Recuento de células en OD (rojo) y OI (verde) en RC y RT en tinción TUNEL (A), GFAP (B) y CNE (C).

Referencias bibliográficas

- Hernández-Rabaza V, López-Pedrajas R, Almansa I. Progesterone, Lipoic Acid, and Sulforaphane as Promising Antioxidants for Retinal Diseases: A Review. *Antioxidants*. 2019;8:1–21.
- Sánchez-Vallejo V, Benlloch-Navarro S, López-Pedrajas R, et al. Neuroprotective actions of progesterone in an in vivo model of retinitis pigmentosa. *Pharmacol Res*. 2015;99:276–88.
- Alambiaga-Caravaca AM, Domenech-Monsell IM, Sebastián-Morelló M, et al. HPLC-UV analytical validation of a method for quantification of progesterone in ex vivo trans-corneal and trans-scleral diffusion studies. *J Pharm Biomed Anal*. 2021;193:113749.

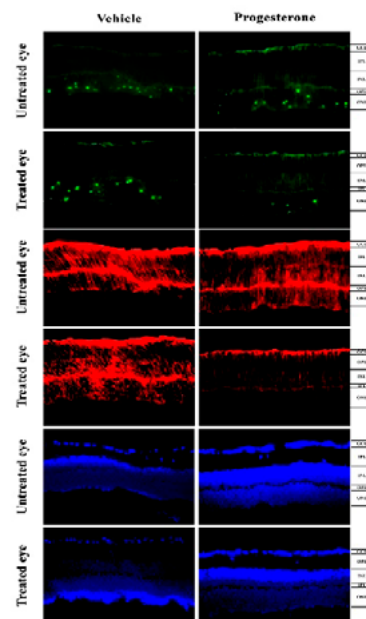


Fig. 2. Tinción TUNEL (verde), GFAP (rojo) y CNE (azul).

El ojo tratado con PG muestra diferencias estadísticamente significativas en comparación con todos los demás ojos en las tinciones de TUNEL y GFAP, pero no en el recuento de filas en la CNE (Fig. 2).

4. Conclusiones

Los estudios in vivo demostraron que una solución de PG en ciclodextrinas administrada tópicamente en ojo de ratón, tiene un papel protector frente a la muerte celular de fotorreceptores en el modelo animal de RP estudiado y no se produce un efecto sistémico en el ojo contralateral.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por la Universidad CEU Cardenal Herrera (INDI19/28) y por ayudas a la formación de Jóvenes Investigadores CEU-SANTANDER 20/21.

4. Alambiaga-Caravaca AM, Calatayud-Pascual MA, Rodilla V, et al. Micelles of progesterone for topical eye administration: Interspecies and intertissues differences in ex vivo ocular permeability. *Pharmaceutics*. 2020;12:1–18.
5. Alambiaga-Caravaca AM, Domenech-Monsell IM, Sebastián-Morelló M, et al. Development, characterization, and ex vivo evaluation of an insert for the ocular administration of progesterone. *Int J Pharm*. 2021;606:120921.

Este trabajo debe ser citado como:

Alambiaga Caravaca A, Cantón A, Rodilla V, Miranda Sanz M, López Castellano A. Estudio in vivo en ratones del efecto de la progesterona para el tratamiento de la retinosis pigmentosa. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):96-8.