



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

TESIS DOCTORAL

**ESTUDIO DE LA DEGENERACIÓN Y NEUROPROTECCIÓN
RETINIANA: TAURINA, TERAPIA CELULAR, REACCIÓN
GLIAL E INYECCIONES INTRAVÍTREAS DE ANTICUERPOS
ANTI-VEGF**

D^a. Ana Martínez Vacas

2024



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

TESIS DOCTORAL

**ESTUDIO DE LA DEGENERACIÓN Y NEUROPROTECCIÓN
RETINIANA: TAURINA, TERAPIA CELULAR, REACCIÓN
GLIAL E INYECCIONES INTRAVÍTREAS DE ANTICUERPOS
ANTI-VEGF**

D^a. Ana Martínez Vacas

Director/es: Prof. Dña. María Paz Villegas Pérez y Dr. D. Diego García
Ayuso.

2024

“Es preciso sacudir enérgicamente el bosque de las neuronas cerebrales adormecidas; es menester hacerlas vibrar con la emoción de lo nuevo e infundirles nobles y elevadas inquietudes”

Santiago Ramón y Cajal.



**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD
DE LA TESIS PRESENTADA EN MODALIDAD DE COMPENDIO O ARTÍCULOS PARA
OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR**

Aprobado por la Comisión General de Doctorado el 19-10-2022

D./Dña. Ana Martínez Vacas

doctorando del Programa de Doctorado en

Ciencias de la Visión

de la Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad Murcia, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y titulada:

Degeneración y Neuroprotección Retiniana: Taurina, Terapia celular, Reacción glial e Inyecciones Intravítreas de anticuerpos anti-VEGF

y dirigida por,

D./Dña. María Paz Villegas Pérez

D./Dña. Diego García Ayuso

D./Dña.

DECLARO QUE:

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Además, al haber sido autorizada como compendio de publicaciones o, tal y como prevé el artículo 29.8 del reglamento, cuenta con:

- La aceptación por escrito de los coautores de las publicaciones de que el doctorando las presente como parte de la tesis.
- En su caso, la renuncia por escrito de los coautores no doctores de dichos trabajos a presentarlos como parte de otras tesis doctorales en la Universidad de Murcia o en cualquier otra universidad.

Del mismo modo, asumo ante la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada, en caso de plagio, de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Murcia, a 15 de Julio de 2024

Fdo.: Ana Martínez Vacas

Esta DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD debe ser insertada en la primera página de la tesis presentada para la obtención del

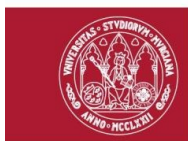
Información básica sobre protección de sus datos personales aportados	
Responsable:	Universidad de Murcia. Avenida teniente Flomesta, 5. Edificio de la Convalecencia. 30003; Murcia. Delegado de Protección de Datos: dpd@um.es
Legitimación:	La Universidad de Murcia se encuentra legitimada para el tratamiento de sus datos por ser necesario para el cumplimiento de una obligación legal aplicable al responsable del tratamiento. art. 6.1.c) del Reglamento General de Protección de Datos
Finalidad:	Gestionar su declaración de autoría y originalidad
Destinatarios:	No se prevén comunicaciones de datos
Derechos:	Los interesados pueden ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación, oposición, limitación del tratamiento, olvido y portabilidad a través del procedimiento establecido a tal efecto en el Registro Electrónico o mediante la presentación de la correspondiente solicitud en las Oficinas de Asistencia en Materia de Registro de la Universidad de Murcia

I.	ANEXOS ADMINISTRATIVOS.....	I
II.	AGRADECIMIENTOS.....	XVI
III.	RESUMEN.....	XIX
IV.	SUMMARY.....	XXII
V.	LISTA DE ABREVIATURAS.....	XXIV
VI.	ILUSTRACIONES.....	XXVII
VII.	ORGANIZACIÓN GENERAL DE LA TESIS.....	XXIX
VIII.	HALLAZGOS ORIGINALES.....	XXXI
IX.	PRODUCCIÓN CIENTÍFICA.....	XXXIII
1.	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1.	SISTEMA VISUAL.....	1
1.1.1.	ESTRUCTURA Y ORGANIZACIÓN DEL SISTEMA VISUAL.....	2
1.1.1.1.	ANATOMÍA DEL GLOBO OCULAR.....	3
1.1.1.2.	LA RETINA.....	3
1.1.1.2.1.	ESTRUCTURA DE LA RETINA.....	4
1.1.1.2.2.	EPITELIO PIGMENTARIO DE LA RETINA.....	6
1.1.1.2.2.1.	GRÁNULOS DE MELANINA.....	7
1.1.1.2.2.2.	GRÁNULOS DE LIPOFUSCINA.....	7
1.1.1.2.2.3.	FAGOSOMAS.....	8
1.1.1.2.2.4.	FUNCIONES DEL EPITELIO PIGMENTARIO DE LA RETINA.....	8
1.1.1.2.3.	FOTORRECEPTORES.....	11
1.1.1.2.4.	CÉLULAS GANGLIONARES DE LA RETINA.....	15
1.1.1.2.4.1.	CÉLULAS GANGLIONARES INTRÍNECAMENTE FOTOSENSIBLES.....	16
1.1.1.2.4.2.	M1.....	17
1.1.1.2.4.3.	M2.....	17
1.1.1.2.4.4.	M3.....	18
1.1.1.2.4.5.	M4.....	18
1.1.1.2.4.6.	M5.....	18
1.1.1.2.4.7.	M6.....	18
1.1.1.2.5.	CÉLULAS DE LA GLÍA.....	19
1.1.1.2.5.1.	CÉLULAS DE MACROGLÍA.....	19
1.1.1.2.5.2.	ASTROCITOS.....	20
1.1.1.2.5.3.	CÉLULAS DE MÜLLER.....	21
1.1.1.2.6.	CÉLULAS DE MICROGLÍA.....	22
1.1.1.2.7.	NEUROINFLAMACIÓN.....	26
1.1.1.2.8.	ESTRÉS OXIDATIVO Y ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO.....	26
1.2.	DEGENERACIONES HEREDITARIAS DE RETINA.....	27
1.2.1.	DISTROFIAS DE FOTORRECEPTORES.....	28
1.2.1.1.	RETINOSIS PIGMENTARIA.....	28
1.2.2.	MODELOS ANIMALES DE DEGENERACIÓN DE FOTORRECEPTORES.....	30
1.2.2.1.	RATAS ROYAL COLLEGE OF SURGEONS.....	30

1.2.2.2.	RATAS P23H	31
1.3.	DEGENERACIÓN FOTOTÓXICA DE LA RETINA	32
1.3.1.	MODELOS ANIMALES DE FOTOTOXICIDAD	34
1.4.	TERAPIA EN ENFERMEDADES RETINIANAS	35
1.4.1.	INYECCIONES INTRAVÍTREAS	35
1.4.1.1.	TERAPIA ANTI-VEGF	36
1.4.1.2.	TERAPIA CELULAR	38
1.5.	TAURINA	39
1.5.1.	LA TAURINA EN LA RETINA	42
1.5.2.	DEPLECIÓN DE TAURINA	42
1.5.3.	EL PAPEL DE LA TAURINA COMO POSIBLE AGENTE NEUROPROTECTOR	45
2.	OBJETIVOS	49
2.1.	OBJETIVOS GENERALES	49
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	49
3.	CONCLUSIONES	54
4.	CONCLUSIONS	59
5.	BIBLIOGRAFÍA	66
6.	COMPENDIO DE PUBLICACIONES	121

I. ANEXOS ADMINISTRATIVOS

I. ANEXOS ADMINISTRATIVOS



UNIVERSIDAD DE
MURCIA

D. Manuel Vidal Sanz, Catedrático de la Universidad de Murcia del Área de Oftalmología, Optometría, Otorrinolaringología y Anatomía Patológica y Presidente de la Comisión Académica de Doctorado en Ciencias de la Visión,

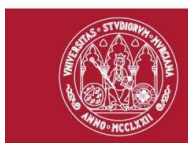
INFORMA:

Que una vez evaluado, de conformidad con el procedimiento establecido en el artículo 35 del “Reglamento por el que se regulan las enseñanzas oficiales de doctorado de la Universidad de Murcia” el expediente completo de la tesis doctoral titulada **“Estudio de la Degeneración y Neuroprotección Retiniana: Taurina, Terapia celular, Reacción glial e Inyecciones Intravítreas de anticuerpos anti-VEGF”**, realizada por D^a. Ana Martínez Vacas, bajo la inmediata dirección y supervisión de D^a. María Paz Villegas Pérez y D. Diego García Ayuso, esta Comisión Académica, en sesión celebrada en fecha 26 de julio de 2024, ha dado su autorización para su presentación ante la Comisión General de Doctorado.

Murcia, a 26 de Septiembre de 2024

Una firma manuscrita en tinta negra, que parece ser la del Prof. Manuel Vidal Sanz.

Prof. Manuel Vidal Sanz



UNIVERSIDAD DE
MURCIA

Doña María Paz Villegas Pérez, Catedrática de la Universidad del Área de Oftalmología, Optometría, Otorrinolaringología y Anatomía Patológica.

Don Diego García Ayuso, Profesor titular del Área de Oftalmología, Optometría, Otorrinolaringología, y Anatomía Patológica.

AUTORIZAN:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada: **“Estudio de la Degeneración y Neuroprotección Retiniana: Taurina, Terapia celular, Reacción glial e Inyecciones Intravítreas de anticuerpos anti-VEGF”** realizada por Doña Ana Martínez Vacas bajo nuestra inmediata dirección y supervisión y que es presentada para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia con mención internacional y bajo la modalidad de compendio de publicaciones.

En Murcia, a 18 de Septiembre de 2024

Prof. María Paz Villegas Pérez

Dr. Diego García Ayuso.



CERTIFICADO DE ESTANCIA DE INVESTIGACIÓN FUERA DE
ESPAÑA PARA OPTAR A MENCIÓN DE
«DOCTORADO INTERNACIONAL»
INTERNATIONAL Ph.D. VISITING RESEARCH CERTIFICATE

1. DATOS DEL DOCTORANDO QUE HA REALIZADO LA ESTANCIA / Ph.D. STUDENT'S PERSONAL DATA

Nombre y apellidos del doctorando/a / Ph.D. student name and surname: Ana Martínez Vacas
Centro de origen / Institution of origin: Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad de Murcia
Programa de Doctorado / Doctoral Programme: Ciencias de la Visión
Título de la tesis / Thesis title: ESTUDIO DE LA DEGENERACIÓN Y NEUROPROTECCIÓN RETINIANA: TAURINA, TERAPIA CELULAR, REACCIÓN GUAL E INYECCIONES INTRAÚTREAS DE ANTICUERPOS ANTI-VEGF

2. DATOS DEL CENTRO EN EL QUE SE HA REALIZADO LA ESTANCIA / HOST INSTITUTION

Nombre del Centro de Educación Superior o Instituto de Investigación / Name of the host institution: Institute of Inflammation and Ageing, College of Medical and Dental Sciences, University of Birmingham
Departamento/Centro / Department/Centre: Institute of Inflammation and Ageing
Dirección del Centro / Address: The Institute of Inflammation and Ageing, University of Birmingham, Edgbaston, Birmingham, B15 2TT, UK.
Localidad y país / City and country: Birmingham, Reino Unido.

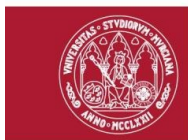
3. DATOS DEL TUTOR/INVESTIGADOR RESPONSABLE DE LA ESTANCIA / RESEARCH SUPERVISOR AT HOST INSTITUTION

Nombre y apellidos del tutor/investigador / Research supervisor name and surname: Jose Manuel Romero Hombrebueno
DNI/Pasaporte nº. / I.D. / Passport nº: 53231199-E
E-mail: j.m.romero@bham.ac.uk
Departamento/Centro al que pertenece / Department/Centre: Institute of Inflammation and Ageing, College of Medical and Dental Sciences, University of Birmingham

4. CERTIFICADO DE LA ESTANCIA / VISITING RESEARCH CERTIFICATE ⁽¹⁾:

(1) A cumplimentar por el tutor investigador responsable de la estancia / To complete by the research supervisor.

The person who sign this document certify that the Ph.D. student above-mentioned has visited this institution under my supervision in the following dates: from 1 of February of 2024 to 1 of June of 2024, carrying out a study of the defect in mitochondrial function and biogenesis in diabetes after treatment with different substances. Learning and carrying out



UNIVERSIDAD DE
MURCIA

techniques such as primary cell cultures, sea hourse, retinal and corneal flat mounts, immunohistochemistry, among others, for its correct development.

En/In Birmingham a 28 of May de 2024

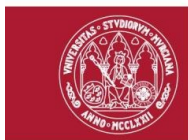
Firmado y sellado / Signed and stamped*. Dr/a D^o./D^a.: Jose Manuel Romero Hombrebueno

A handwritten signature in blue ink, consisting of a stylized 'J' and 'R' followed by a horizontal line.

(*) Debe firmar y sellar todas las hojas del informe / You must sign and seal all the pages of the report

COMISIÓN GENERAL DE DOCTORADO DE LA UNIVERSIDAD DE MURCIA (España)

Página 2 de 2

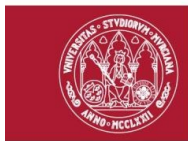


Por este informe, se solicita a la Comisión General de Doctorado que autorice la presentación bajo la modalidad de “compendio de publicaciones” la Tesis Doctoral titulada: “**Estudio de la Degeneración y Neuroprotección Retiniana: Taurina, Terapia celular, Reacción glial e Inyecciones Intravítreas de anticuerpos anti-VEGF**” realizada por Ana Martínez Vacas, para la obtención de título de Doctor en el programa de doctorado de Ciencias de la Visión.

Durante el periodo de formación de Doctorando, su producción científica ha sido satisfactoria, habiendo publicado tres artículos como primer autor y un total de siete artículos en revistas con una excelente posición en el campo científico, todas ellas en el primer cuartil del Journal Citation Report (JCR), que además configuran una unidad como Tesis Doctoral.

Los artículos que se presentan son los siguientes:

- Di Pierdomenico J, **Martínez-Vacas A**, Hernández-Muñoz D, Gómez-Ramírez AM, Valiente-Soriano FJ, Agudo-Barriuso M, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Coordinated Intervention of Microglial and Müller Cells in Light-Induced Retinal Degeneration. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2020 Mar 9;61(3):47. <https://doi.org/10.1167/iops.61.3.47> Impact factor: 5.0, Rank: Ophthalmology 6/95, Q1
- **Martínez-Vacas A**, Di Pierdomenico J, Valiente-Soriano FJ, Vidal-Sanz M, Picaud S, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Glial Cell Activation and Oxidative Stress in Retinal Degeneration Induced by β -Alanine Caused Taurine Depletion and Light Exposure. Int J Mol Sci. 2021 Dec 29;23(1):346. <https://doi.org/10.3390/ijms23010346> Impact factor: 4.9, Rank: Biochemistry & Molecular Biology 66/313, Q1
- Di Pierdomenico J, Gallego-Ortega A, **Martínez-Vacas A**, García-Bernal D, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Intravitreal and subretinal syngeneic bone marrow mononuclear stem cell transplantation improves photoreceptor survival but does not ameliorate retinal function in two rat models of retinal degeneration. Acta Ophthalmol. 2022 Sep;100(6):e1313-e1331. <https://doi.org/10.1111/aos.15165> Impact factor: 3.0, Rank: Ophthalmology 18/95, Q1
- **Martínez-Vacas A**, Di Pierdomenico J, Gallego-Ortega A, Valiente-Soriano FJ, Vidal-Sanz M, Picaud S, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Systemic taurine treatment affords functional and morphological neuroprotection of photoreceptors and restores retinal pigment epithelium function in RCS rats. Redox Biol. 2022 Nov;57:102506. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2022.102506> Impact factor: 10.7, Rank: Biochemistry & Molecular Biology 17/313, Q1
- Di Pierdomenico J, **Martínez-Vacas A**, Picaud S, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Taurine: an essential amino sulfonic acid for retinal health. Neural Regen Res. 2023 Apr;18(4):807-808. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.353491> Impact factor: 5.9, Rank: Neurosciences 35/310, Q1



UNIVERSIDAD DE
MURCIA

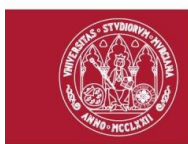
- García-Ayuso D, Di Pierdomenico J, **Martínez-Vacas A**, Vidal-Sanz M, Picaud S, Villegas-Pérez MP. Taurine: a promising nutraceutic in the prevention of retinal degeneration. Neural Regen Res. 2024 Mar;19(3):606-610. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.380820> Impact factor: 5.9, Rank: Neurosciences 35/310, Q1
- **Martínez-Vacas A**, Di Pierdomenico J, Gómez-Ramirez AM, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Dose-Related Side Effects of Intravitreal Injections of Humanized Anti-Vascular Endothelial Growth Factor in Rats: Glial Cell Reactivity and Retinal Ganglion Cell Loss. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2024 Apr 1;65(4):10. <https://doi.org/10.1167/iops.65.4.10> Impact factor: 5.0, Rank: Ophthalmology 6/95, Q1

Por todo lo anteriormente expuesto, bajo el criterio de los codirectores de esta Tesis Doctoral, queda justificada la presentación del compendio de publicaciones como Tesis Doctoral.

En Murcia, a 26 de Julio de 2024

María Paz Villegas Pérez

Diego García Ayuso



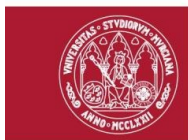
Por este informe, se solicita a la Comisión General de Doctorado que autorice la presentación bajo la modalidad de “compendio de publicaciones” la Tesis Doctoral titulada: “**Estudio de la Degeneración y Neuroprotección Retiniana: Taurina, Terapia celular, Reacción glial e Inyecciones Intravítreas de anticuerpos anti-VEGF**” realizada por Ana Martínez Vacas, para la obtención de título de Doctor en el programa de doctorado de Ciencias de la Visión.

Mis aportaciones en cada uno de los artículos presentados que abajo se referencian han sido las de:

- Participación como autor principal en tres de los siete artículos
- Contribución a la concepción y diseño de los experimentos
- Desarrollo de los experimentos
- Análisis de resultados
- Ayuda a la escritura y realización de los artículos

Los artículos que se presentan son los siguientes:

- Di Pierdomenico J, **Martínez-Vacas A**, Hernández-Muñoz D, Gómez-Ramírez AM, Valiente-Soriano FJ, Agudo-Barriuso M, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Coordinated Intervention of Microglial and Müller Cells in Light-Induced Retinal Degeneration. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2020 Mar 9;61(3):47. <https://doi.org/10.1167/iops.61.3.47> Impact factor: 5.0, Rank: Ophthalmology 6/95, Q1
- **Martínez-Vacas A**, Di Pierdomenico J, Valiente-Soriano FJ, Vidal-Sanz M, Picaud S, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Glial Cell Activation and Oxidative Stress in Retinal Degeneration Induced by β -Alanine Caused Taurine Depletion and Light Exposure. Int J Mol Sci. 2021 Dec 29;23(1):346. <https://doi.org/10.3390/ijms23010346> Impact factor: 4.9, Rank: Biochemistry & Molecular Biology 66/313, Q1
- Di Pierdomenico J, Gallego-Ortega A, **Martínez-Vacas A**, García-Bernal D, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Intravitreal and subretinal syngeneic bone marrow mononuclear stem cell transplantation improves photoreceptor survival but does not ameliorate retinal function in two rat models of retinal degeneration. Acta Ophthalmol. 2022 Sep;100(6):e1313-e1331. <https://doi.org/10.1111/aos.15165> Impact factor: 3.0, Rank: Ophthalmology 18/95, Q1
- **Martínez-Vacas A**, Di Pierdomenico J, Gallego-Ortega A, Valiente-Soriano FJ, Vidal-Sanz M, Picaud S, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Systemic taurine treatment affords functional and morphological neuroprotection of photoreceptors and restores retinal pigment epithelium function in RCS rats. Redox Biol. 2022 Nov;57:102506. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2022.102506> Impact factor: 10.7, Rank: Biochemistry & Molecular Biology 17/313, Q1



- Di Pierdomenico J, **Martínez-Vacas A**, Picaud S, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Taurine: an essential amino sulfonic acid for retinal health. Neural Regen Res. 2023 Apr;18(4):807-808. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.353491> Impact factor: 5.9, Rank: Neurosciences 35/310, Q1
- García-Ayuso D, Di Pierdomenico J, **Martínez-Vacas A**, Vidal-Sanz M, Picaud S, Villegas-Pérez MP. Taurine: a promising nutraceutical in the prevention of retinal degeneration. Neural Regen Res. 2024 Mar;19(3):606-610. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.380820> Impact factor: 5.9, Rank: Neurosciences 35/310, Q1
- **Martínez-Vacas A**, Di Pierdomenico J, Gómez-Ramírez AM, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Dose-Related Side Effects of Intravitreal Injections of Humanized Anti-Vascular Endothelial Growth Factor in Rats: Glial Cell Reactivity and Retinal Ganglion Cell Loss. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2024 Apr 1;65(4):10. <https://doi.org/10.1167/iovs.65.4.10> Impact factor: 5.0, Rank: Ophthalmology 6/95, Q1

Por todo lo anteriormente expuesto, bajo el criterio de los codirectores de esta Tesis Doctoral, queda justificada la presentación del compendio de publicaciones como Tesis Doctoral.

En Murcia, a 26 de Julio de 2024



Ana Martínez Vacas



María Paz Villegas Pérez



Diego García Ayuso



Por la presente los abajo firmantes, coautores del artículo con la siguiente referencia bibliográfica:

Martínez-Vacas A, Di Pierdomenico J, Gómez-Ramírez AM, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Dose-Related Side Effects of Intravitreal Injections of Humanized Anti-Vascular Endothelial Growth Factor in Rats: Glial Cell Reactivity and Retinal Ganglion Cell Loss. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2024 Apr 1;65(4):10. <https://doi.org/10.1167/iovs.65.4.10>

Declaran:

- Su conformidad con la utilización de este artículo como parte del compendio de publicaciones que Ana Martínez Vacas presentará con el propósito de formular sus Tesis Doctoral como compendio de publicaciones.
- Su compromiso de no presentar este artículo como parte de otra Tesis Doctoral.
- La participación de Ana Martínez Vacas como autor principal de este artículo contribuyendo a la concepción y diseño de los experimentos, al desarrollo de los mismos, al análisis de los datos y a la ayuda de la escritura de los artículos.

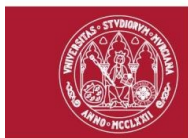
D. Johnny Di Pierdomenico

Dña. Ana María Gómez Ramírez

D. Manuel Vidal Sanz

Dña. María Paz Villegas Pérez

D. Diego García Ayuso



Por la presente los abajo firmantes, coautores del artículo con la siguiente referencia bibliográfica:

Di Pierdomenico J, **Martínez-Vacas A**, Hernández-Muñoz D, Gómez-Ramírez AM, Valiente-Soriano FJ, Agudo-Barriuso M, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Coordinated Intervention of Microglial and Müller Cells in Light-Induced Retinal Degeneration. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2020 Mar 9;61(3):47. <https://doi.org/10.1167/iovs.61.3.47>

Declaran:

- Su conformidad con la utilización de este artículo como parte del compendio de publicaciones que Ana Martínez Vacas presentará con el propósito de formular sus Tesis Doctoral como compendio de publicaciones.
- Su compromiso de no presentar este artículo como parte de otra Tesis Doctoral.
- La participación de Ana Martínez Vacas como autor de este artículo contribuyendo a la concepción y diseño de los experimentos, al desarrollo de los mismos, al análisis de los datos y a la ayuda de la escritura de los artículos.

D. Johnny Di Pierdomenico

Dña. Ana María Gómez Ramírez

Dña. Marta Agudo Barriuso

Dña. María Paz Villegas Pérez

D. Daniel Hernández-Muñoz

D. Francisco Javier Valiente Soriano

D. Manuel Vidal Sanz

D. Diego García Ayuso



Por la presente los abajo firmantes, coautores del artículo con la siguiente referencia bibliográfica:

Martínez-Vacas A, Di Pierdomenico J, Valiente-Soriano FJ, Vidal-Sanz M, Picaud S, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Glial Cell Activation and Oxidative Stress in Retinal Degeneration Induced by β -Alanine Caused Taurine Depletion and Light Exposure. Int J Mol Sci. 2021 Dec 29;23(1):346. <https://doi.org/10.3390/ijms23010346>

Declaran:

- Su conformidad con la utilización de este artículo como parte del compendio de publicaciones que Ana Martínez Vacas presentará con el propósito de formular sus Tesis Doctoral como compendio de publicaciones.
- Su compromiso de no presentar este artículo como parte de otra Tesis Doctoral.
- La participación de Ana Martínez Vacas como autor principal de este artículo contribuyendo a la concepción y diseño de los experimentos, al desarrollo de los mismos, al análisis de los datos y a la ayuda de la escritura de los artículos.

D. Johnny Di Pierdomenico

D. Francisco Javier Valiente Soriano

D. Manuel Vidal Sanz

D. Serge Picaud

Dña. María Paz Villegas Pérez

D. Diego García Ayuso



Por la presente los abajo firmantes, coautores del artículo con la siguiente referencia bibliográfica:

Martínez-Vacas A, Di Pierdomenico J, Gallego-Ortega A, Valiente-Soriano FJ, Vidal-Sanz M, Picaud S, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Systemic taurine treatment affords functional and morphological neuroprotection of photoreceptors and restores retinal pigment epithelium function in RCS rats. Redox Biol. 2022 Nov;57:102506. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2022.102506>

Declaran:

- Su conformidad con la utilización de este artículo como parte del compendio de publicaciones que Ana Martínez Vacas presentará con el propósito de formular sus Tesis Doctoral como compendio de publicaciones.
- Su compromiso de no presentar este artículo como parte de otra Tesis Doctoral.
- La participación de Ana Martínez Vacas como autor principal de este artículo contribuyendo a la concepción y diseño de los experimentos, al desarrollo de los mismos, al análisis de los datos y a la ayuda de la escritura de los artículos.

D. Johnny Di Pierdomenico

D. Alejandro Gallego Ortega

D. Francisco Javier Valiente Soriano

D. Manuel Vidal Sanz

D. Serge Picaud

Dña. María Paz Villegas Pérez

D. Diego García Ayuso



Por la presente los abajo firmantes, coautores del artículo con la siguiente referencia bibliográfica:

Di Pierdomenico J, **Martínez-Vacas A**, Picaud S, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Taurine: an essential amino sulfonic acid for retinal health. Neural Regen Res. 2023 Apr;18(4):807-808. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.353491>

Declaran:

- Su conformidad con la utilización de este artículo como parte del compendio de publicaciones que Ana Martínez Vacas presentará con el propósito de formular sus Tesis Doctoral como compendio de publicaciones.
- Su compromiso de no presentar este artículo como parte de otra Tesis Doctoral.
- La participación de Ana Martínez Vacas como autor de este artículo contribuyendo a la concepción y diseño de los experimentos, al desarrollo de los mismos, al análisis de los datos y a la ayuda de la escritura de los artículos.

D. Johnny Di Pierdomenico

D. Serge Picaud

Dña. María Paz Villegas Pérez

D. Diego García Ayuso



Por la presente los abajo firmantes, coautores del artículo con la siguiente referencia bibliográfica:

García-Ayuso D, Di Pierdomenico J, **Martínez-Vacas A**, Vidal-Sanz M, Picaud S, Villegas-Pérez MP. Taurine: a promising nutraceutic in the prevention of retinal degeneration. Neural Regen Res. 2024 Mar;19(3):606-610. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.380820>

Declaran:

- Su conformidad con la utilización de este artículo como parte del compendio de publicaciones que Ana Martínez Vacas presentará con el propósito de formular sus Tesis Doctoral como compendio de publicaciones.
- Su compromiso de no presentar este artículo como parte de otra Tesis Doctoral.
- La participación de Ana Martínez Vacas como autor de este artículo contribuyendo a la concepción y diseño de los experimentos, al desarrollo de los mismos, al análisis de los datos y a la ayuda de la escritura de los artículos.

D. Diego García Ayuso

D. Johnny Di Pierdomenico

D. Manuel Vidal Sanz

D. Serge Picaud

Dña. María Paz Villegas Pérez



Por la presente los abajo firmantes, coautores del artículo con la siguiente referencia bibliográfica:

Di Pierdomenico J, Gallego-Ortega A, **Martínez-Vacas A**, García-Bernal D, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Intravitreal and subretinal syngeneic bone marrow mononuclear stem cell transplantation improves photoreceptor survival but does not ameliorate retinal function in two rat models of retinal degeneration. Acta Ophthalmol. 2022 Sep;100(6):e1313-e1331. <https://doi.org/10.1111/aos.15165>

Declaran:

- Su conformidad con la utilización de este artículo como parte del compendio de publicaciones que Ana Martínez Vacas presentará con el propósito de formular sus Tesis Doctoral como compendio de publicaciones.
- Su compromiso de no presentar este artículo como parte de otra Tesis Doctoral.
- La participación de Ana Martínez Vacas como autor de este artículo contribuyendo a la concepción y diseño de los experimentos, al desarrollo de los mismos, al análisis de los datos y a la ayuda de la escritura de los artículos.

D. Johnny Di Pierdomenico

D. Alejandro Gallego Ortega

D. David García Bernal

D. Manuel Vidal Sanz

Dña. María Paz Villegas Pérez

D. Diego García Ayuso

II. AGRADECIMIENTOS

Cuando echo la vista a atrás veo todo el camino recorrido, las metas cumplidas y sueños logrados. Veo el crecimiento personal y profesional de una chica que sentía muchísima curiosidad por la investigación, y que, tras nueve años, ha aprendido a amar la ciencia. En este largo recorrido he sido completamente feliz, haciendo lo que de verdad quería hacer, y siendo lo que quería ser. Completar esta tesis doctoral ha sido un desafío inmenso, y no habría sido posible sin el apoyo y la guía de muchas personas, a quienes me gustaría expresar mi más profundo agradecimiento.

En primer lugar, quiero agradecer a mi co-directora y tutora de esta tesis doctoral, **María Paz Villegas**, por su invaluable orientación, paciencia y apoyo durante todo este proceso. He de agradecerle sus consejos, sus críticas, sus ganas de enseñar y el haberme permitido la oportunidad de trabajar y aprender juntas. Todo esto ha hecho de mí una mejor persona tanto profesional como personalmente. Gracias por despertar en mi la curiosidad por la ciencia, y mostrarme el camino para llegar a ser una gran científica. Allí dónde la vida me lleve, siempre estaré agradecida por todo lo aprendido.

En segundo lugar, quiero agradecer a mi co-director **Diego García**, por haberme brindado la oportunidad de trabajar con él durante nueve años. No sabría como agradecerle la confianza que brindó en mi desde el primer momento para guiarme en mi TFG. Desde ese momento, y hasta ahora, ha sido un camino que puedo decir con orgullo, que ha valido la pena. Me gustaría agradecerle sus consejos, tanto académicos como personales, que han sido fundamentales para la realización de este trabajo, su paciencia infinita, sus ganas de seguir adelante, su apoyo fundamental, su disponibilidad. Espero a ver estado a la altura de esta gran carrera de fondo como es la investigación. Gracias por enseñarme a conseguir mis retos, aunque no sean fáciles de llevar a cabo. Simplemente, gracias.

A **Manuel Vidal**, gracias por permitirme trabajar en este magnífico grupo de investigación, y por enseñarme a trabajar con constancia, disciplina y por generar en mi la autoexigencia y rigor para este tan sacrificado trabajo que es la investigación.

A **Marcelino Avilés**, gracias por ser un apoyo fundamental durante este largo recorrido, por toda la ayuda que me has brindado sin queja alguna, por su paciencia y dedicación, por mantener siempre la puerta abierta para mí, por sus consejos, su disponibilidad a resolver con soltura y eficacia los problemas que han surgido durante el desarrollo de esta tesis sin escatimar ni en tiempo ni en recursos. Gracias por todo.

A **Marta Agudo**, gracias por su inmensa paciencia, por ayudarme cuando lo he necesitado, por su disponibilidad ante todo, por mantener siempre esa alegría aportando un poquito de sentido del humor y por enseñarme a ser más consciente y firme al tomar decisiones importantes.

A **Johnny Di Pierdomenico**, gracias por ayudarme sin pensárselo, sin mirar el reloj, por tener la inmensa paciencia en días en los que hace falta, por llenar mis días de risas y buenos momentos, por apoyarme en cada decisión y ayudarme a tomar las que no podía tomar sola. Gracias por ser parte de esta etapa.

A **Javier Valiente**, **Caridad Galindo** y **Manuel Salinas**, gracias por sus consejos y por hacer los momentos difíciles más llevaderos, por demostrarme que puedo contar con ellos en cualquier

momento sin importar la hora del día, por su gran profesionalidad como científicos y por no dudar ni un segundo cuando los he necesitado. Gracias por enseñarme a disfrutar de la investigación.

A **Juan Antonio, María y Alejandro**, gracias por haber formado parte de este largo recorrido, porque sin vosotros habría sido menos divertido.

María José, no sabría describir en tan pocas palabras la admiración y cariño que siento hacia ti. Quién me iba a decir que desde el primer día que nos vimos en una clase desconocida de una facultad aún más desconocida, sería el principio de nuestra larga amistad. Este camino, sin duda, no habría sido lo mismo sin ti. Mi más fiel compañera de batallas, mi apoyo fundamental, mi amiga del alma, mi alma gemela, mi hermana. Gracias por ser quién eres y por poder contar contigo para todo, sea la hora que sea. Gracias por cogerme de la mano y no solarla nunca, por acompañarme a todos y cada uno de los momentos importantes, y cómo no, esto no podía quedarse atrás. Puedo decir con orgullo que tú ya eres Doctora, y ahora te toca a ti acompañarme para conseguir esta meta. Solo puedo decir gracias por estar en mi vida.

Kristy, que difícil se me hace escribir tantos sentimientos en tan poco espacio. Tengo muchas cosas que agradecer al laboratorio y una de ellas es haberte puesto en mi vida. Gracias por ser tan importante en este trayecto que caminamos juntas, por ser un apoyo fundamental, por las risas innumerables y por demostrar que todo se puede si lo haces con las personas adecuadas a tu lado. Por ser mi compañera de travesuras y locuras, pero también de momentos difíciles y duros. Muchas gracias por todo.

A **José Manuel**, o mejor dicho “¡¡Pepín!!” gracias por ser una parte importante de este laboratorio, por ser una gran persona, por su gran ayuda y por su buen humor. Gracias por hacer de esta etapa una aventura mucho más llevadera.

A **Mª Dolores** por su paciencia, por su gran ayuda, por estar siempre y por ser como una madre que se ha ganado mi cariño con creces.

A **Rosa y Belén**, por aparecer en mi vida cuando menos me lo esperaba, pero por demostrarme que no hace falta estar desde un principio para ser importantes en tu vida. Dos personas maravillosas que el laboratorio me puso en el camino, y a día de hoy, dos amigas que me llevo para toda la vida. Gracias por ser un apoyo fundamental durante esta tesis, gracias por las risas, por los llantos, y por todos y cada uno de los momentos a vuestro lado. Gracias por aparecer para quedaros.

Quiero agradecer a una persona en especial, que me ha apoyado innumerables veces sin queja alguna fuese la hora que fuese, creyendo en mi cuando yo no lo hacía y dándome el ánimo que necesitaba en todo momento, a **Mel**, que más que una amiga, para mí es una hermana, es familia. Gracias por formar parte de mi vida y por demostrarme que sin duda alguna ahora soy completamente más feliz por poder tener una persona como tú a mi lado. Por demostrarme que la familia que uno elige es para toda la vida. Por aguantarme en los días malos y por qué los buenos sean siempre así de buenos. Mil gracias por ser, estar y permanecer.

Para terminar, quiero agradecer a mi familia, especialmente a mis padres **Ana y Kiko**. Quiero expresarles mi gratitud por su amor incondicional, por apoyarme siempre y por haber creído en mí, incluso en los momentos en los que yo misma dudaba, por saber de lo que soy capaz cuando

ni yo misma puedo verlo. Por transmitirme esas ganas de seguir luchando por lo que quiero y nunca mirar hacia atrás. Gracias a mi hermano **Kiko**, por ser mi mayor ejemplo a seguir y por demostrarme que ser un hermano no es solo compartir sangre, sino estar ahí el uno para el otro sin dudar siquiera. Gracias por escucharme cuando lo he necesitado, y por guiarme de la mejor manera posible, siendo el mejor hermano que podría tener. Gracias por ser mi fuente de fortaleza y por vuestro constante apoyo emocional, sin el cual no habría llegado hasta aquí. Gracias de corazón, sin vosotros esto no hubiese sido posible.

No puedo terminar sin mencionar a **Nacho** por su paciencia, comprensión y apoyo constante durante estos años. Gracias por darme la fuerza que necesitaba en el momento adecuado, por ser mi refugio en los días difíciles y por celebrar conmigo cada pequeño logro.

A todos, muchas gracias de corazón.



Ana

III. RESUMEN

Introducción: Las enfermedades degenerativas de la retina comprenden un grupo heterogéneo de patologías retinianas causadas por factores ambientales y/o genéticos que conducen a la ceguera de forma irreversible. Dos de estas enfermedades son bastante frecuentes y se caracterizan porque afectan inicialmente a la retina externa: las degeneraciones hereditarias de los fotorreceptores, de las que las más comunes son la retinosis pigmentaria (RP) y la degeneración macular asociada a la edad (DMAE). Estas enfermedades se inician con la pérdida de fotorreceptores y/o de células del epitelio pigmentario de la retina (EPR) pero progresan posteriormente produciendo una remodelación de toda la retina que produce la pérdida de las células ganglionares de la retina (CGR). Dado que actualmente no existe un tratamiento eficaz que prevenga la degeneración de la retina en estas enfermedades y que son enfermedades muy heterogéneas, suponen un reto para la investigación oftalmológica.

En esta Tesis Doctoral investigamos los efectos de diversas intervenciones terapéuticas sobre la retina de ratas normales o con degeneración hereditaria de los fotorreceptores. Nos enfocamos fundamentalmente en evaluar el papel de las células gliales de la retina y la protección de los fotorreceptores.

Objetivos: Estudiamos: I) en ratas normales albinas los efectos adversos de las inyecciones intravítreas de dos anti-VEGF humanizados: ranibizumab y aflibercept, a dos concentraciones diferentes, y de un anti-VEGF específico para rata. II) en ratas albinas con degeneración fototóxica de la retina el papel de la glía en la formación de anillos de degeneración de fotorreceptores. III) en ratas normales albinas el efecto del déficit nutricional de taurina. IV) en ratas Royal College of Surgeons (RCS) con degeneración hereditaria de los fotorreceptores el efecto de la suplementación de la dieta con taurina V) en ratas RCS y P23H-1 con degeneración hereditaria de fotorreceptores: el efecto de la terapia celular singénica con células mononucleares derivadas de médula ósea (CMN-MO).

Material y métodos: I) Para el primer objetivo se utilizaron ratas adultas albinas Sprague-Dawley a las que se le realizó una única inyección intravítrea (IIV) de 5 μ L de PBS o ranibizumab o aflibercept a la concentración utilizada en la práctica clínica (10 μ g/ μ L o 40 μ g/ μ L) o a una concentración inferior (0,38 μ g/ μ L y 1,5 μ g/ μ L) calculada para el ojo de rata o de un VEGF policlonal de cabra anti-rata (0,015 μ g/ μ L). Los animales se procesaron 7 días o 1 mes después y los montajes completos de retina se inmunodetectaron para marcar las células de microglía, macroglía, las CGR y las células ganglionares de la retina intrínsecamente fotosensibles (CGRip). II) Para el segundo objetivo se utilizaron ratas adultas albinas Sprague-Dawley que fueron

expuestas a la luz continua, y procesadas 1, 2 o 3 meses después. Los montajes completos de retina se inmunodetectaron para marcar las células de microglía, las células de Müller y los conos S y L/M. III) Para el tercer objetivo se utilizaron ratas albinas adultas Sprague-Dawley que fueron divididas en un grupo control y tres grupos experimentales en los que se indujo un déficit nutricional de taurina, mediante la administración de β -alanina al 3% en el agua durante dos meses. Dos de estos últimos grupos fueron también expuestos a la luz. Las retinas fueron seccionadas transversalmente e inmunodetectadas para marcar las células microgliales y macrogliales, los segmentos externos de los fotorreceptores, las conexiones sinápticas y el estrés oxidativo celular. IV) Para el cuarto objetivo, se utilizaron ratas RCS distróficas que fueron divididas en dos grupos, uno control y otro que recibió taurina (0,2 M) en el agua durante 24 días. Los animales se procesaron a los 45 días de edad y se realizaron cortes transversales de la retina que se inmunodetectaron para marcar las células microgliales y macrogliales, los segmentos externos de los fotorreceptores, las conexiones sinápticas y el estrés oxidativo celular. V) Para el último objetivo se utilizaron ratas RCS y P23H-1 a las que se le realizó una inyección de CMN-MO por vía subretiniana o por vía intravítrea. Los animales se procesaron 7, 15, 30 o 60 días después y se realizaron cortes transversales de las retinas que se inmunodetectaron para marcar las células microgliales y macrogliales, los conos y conexiones sinápticas.

Resultados: I) Todas las IIV produjeron una activación de las células microgliales y una hipertrofia de los astrocitos retinianos. La respuesta glial fue mayor cuando se inyectaron las concentraciones más altas de ranibizumab y aflibercept, que provocaron también una muerte de CGR, pero no de CGRif. II) La fototoxicidad causa una pérdida de los conos S y L/M. Al mes se observan anillos de degeneración de conos en la retina superior, que a los 2 y 3 meses se extienden a la retina central e inferior. Estos anillos mostraban células microgliales activadas y células de Müller. III) La depleción de taurina causó una disminución del espesor de la retina, acortamiento de los segmentos externos de los fotorreceptores, activación de células microgliales, estrés oxidativo en las capas nucleares externa e interna y en la capa de CGR, pérdida sináptica, así como alteración de la capacidad fagocítica del EPR y estos efectos se agraven por la exposición a la luz, que además produce muerte de fotorreceptores. IV) En ratas distróficas la suplementación de la dieta con taurina aumenta la supervivencia de fotorreceptores y disminuye la activación microglial, el estrés oxidativo en las capas nucleares, disminuye la pérdida de las conexiones sinápticas y aumenta la fagocitosis en las células del EPR. V) Las inyecciones intravítreas o subretinianas de CMN-MO aumentaron la supervivencia de los

fotorreceptores, disminuyeron la degeneración sináptica, pero no modificaron la activación y migración de las células microgliales ni las respuestas electroretinográficas.

Conclusiones: I) Las IIV de todas las sustancias tienen efectos inflamatorios retinianos. La IIV de los anti-VEGF humanizados a dosis altas producen inflamación severa y muerte de CGR, pero no de CGRif. II) La relación espacio-temporal entre la muerte de los conos, y la activación de las células gliales documentan que las células de microglía y las células de Müller están implicadas en la formación de los anillos, donde muestran acciones coordinadas III) La depleción de taurina provoca muerte de fotorreceptores y CGR y altera las células del EPR, y aumenta la susceptibilidad de los SE de los fotorreceptores al daño fototóxico. IV) La suplementación de la dieta de ratas RCS con taurina disminuye la degeneración de los fotorreceptores y mejora las respuestas electroretinográficas. V) El trasplante intravítreo y subretiniano de CMN-MO singénicas disminuye la degeneración de los fotorreceptores y, pero no mejora la función retiniana.

IV. SUMMARY

Introduction: Degenerative retinal diseases encompass a heterogeneous group of retinal pathologies caused by environmental and/or genetic factors, leading to irreversible blindness. Two of these diseases are quite common and are characterized by initially affecting the outer retina: hereditary photoreceptor degenerations, the most common of which are retinitis pigmentosa (RP) and age-related macular degeneration (AMD). These diseases begin with the loss of photoreceptors and/or retinal pigment epithelium (RPE) cells, but they later progress, causing remodeling of the entire retina, leading to the loss of retinal ganglion cells (RGCs). Since there is currently no effective treatment to prevent retinal degeneration in these diseases and because they are highly heterogeneous, they present a challenge for ophthalmological research.

In this Doctoral Thesis, we investigate the effects of various therapeutic interventions on the retina of normal rats or rats with hereditary photoreceptor degeneration. We primarily focus on evaluating the role of retinal glial cells and photoreceptor protection.

Objectives: We studied: I) In normal albino rats, the adverse effects of intravitreal injections of two humanized anti-VEGF agents: ranibizumab and aflibercept, at two different concentrations, and a rat-specific anti-VEGF. II) In albino rats with phototoxic retinal degeneration, the role of glia in the formation of photoreceptor degeneration rings. III) In normal albino rats, the effect of taurine nutritional deficiency. IV) In Royal College of Surgeons (RCS) rats with hereditary photoreceptor degeneration, the effect of dietary taurine supplementation. V) In RCS and P23H-1 rats with hereditary photoreceptor degeneration, the effect of syngeneic cell therapy using bone marrow-derived mononuclear cells (BM-MNCs).

Methods: I) For the first objective, adult albino Sprague-Dawley rats were used, which received a single intravitreal injection (IVI) of 5 μ L of PBS, ranibizumab, or aflibercept at the concentration used in clinical practice (10 μ g/ μ L or 40 μ g/ μ L) or at a lower concentration (0.38 μ g/ μ L and 1.5 μ g/ μ L) calculated for the rat eye, or a polyclonal goat anti-rat VEGF (0.015 μ g/ μ L). The animals were processed 7 days or 1 month later, and whole retinal mounts were immunodetected to mark microglial cells, macroglial cells, retinal ganglion cells (RGC), and intrinsically photosensitive retinal ganglion cells (ipRGC). II) For the second objective, adult albino Sprague-Dawley rats were exposed to continuous light and processed 1, 2, or 3 months later. Whole retinal mounts were immunodetected to mark microglial cells, Müller cells, and S and L/M cones. III) For the third objective, adult albino Sprague-Dawley rats were divided into a control group and three experimental groups in which a taurine nutritional deficit was induced by administering 3% β -alanine in the water for two months. Two of these groups were also exposed

to light. The retinas were cross-sectioned and immunodetected to mark microglial and macroglial cells, photoreceptor outer segments, synaptic connections, and cellular oxidative stress. IV) For the fourth objective, dystrophic RCS rats were divided into two groups, one control and one that received taurine (0.2 M) in the water for 24 days. The animals were processed at 45 days of age, and retinal cross-sections were immunodetected to mark microglial and macroglial cells, photoreceptor outer segments, synaptic connections, and cellular oxidative stress. V) For the last objective, RCS and P23H-1 rats were used, receiving an injection of BM-MNCs via subretinal or intravitreal administration. The animals were processed 7, 15, 30, or 60 days later, and retinal cross-sections were immunodetected to mark microglial and macroglial cells, cones, and synaptic connections.

Results: I) All IVIs caused microglial cell activation and hypertrophy of retinal astrocytes. The IVI of high doses of humanized anti-VEGF causes severe inflammation and RGC death, but not ipRGC death. II) Phototoxicity caused a loss of S and L/M cones. After one month, rings of cone degeneration were observed in the superior retina, extending to the central and inferior retina after 2 and 3 months. These rings showed activated microglial cells and Müller cells. III) Taurine depletion caused a reduction in retinal thickness, shortening of the photoreceptor outer segments, activation of microglial cells, oxidative stress in the outer and inner nuclear layers and the RGC layer, synaptic loss, and impaired phagocytic capacity of the RPE. These effects were exacerbated by light exposure, which additionally caused photoreceptor death. IV) In dystrophic rats, dietary supplementation with taurine increased photoreceptor survival, reduced microglial activation, oxidative stress in the nuclear layers, decreased synaptic loss, and enhanced phagocytosis in RPE cells. V) Intravitreal or subretinal injections of BM-MNC increased photoreceptor survival and reduced synaptic degeneration but did not alter the activation and migration of microglial cells or the electroretinographic responses.

Conclusions: I) All IVIs have retinal inflammatory effects. The IVI of higher doses of humanized anti-VEGF drugs induces severe inflammation and RGC death, but not ipRGC death. II) The spatiotemporal relationship between cone death and glial cell activation suggests that microglial and Müller cells are involved in the formation of rings, where they show coordinated actions. III) Taurine depletion causes photoreceptor and RGC death, alters RPE cells, and increases the susceptibility of photoreceptor outer segments to phototoxic damage. IV) Supplementation of the diet with taurine in RCS rats reduces photoreceptor degeneration and improves electroretinographic responses. V) Intravitreal and subretinal transplantation of syngeneic BM-MNC reduces photoreceptor degeneration but does not improve retinal function.

V. LISTA DE ABREVIATURAS

AZE: bis-retinaldehído-fosfatidiletanolamina

ADN: Ácido desoxirribonucleico

BDNF: Factor neurotrófico derivado del cerebro

bFGF: Factor básico de crecimiento de fibroblastos

CCG: Capa de células ganglionares

CFN: Capa de Fibras Nerviosas

CGif: Células ganglionares intrínsecamente fotosensibles

CGR: Células ganglionares de la retina

CGRm+: Células melanopsínicas

CMH: Células madre hematopoyéticas

CMN-MO: Células mononucleares derivadas de médula ósea

CMS: Células madre mesenquimales

CNE: Capa nuclear externa

CNI: Capa nuclear interna

CPE: Capa plexiforme externa

CPI: Capa plexiforme interna

CRBP: Proteína de unión al retinol celular

CS: Colículo superior

CSE: Capa de segmentos externos de los fotorreceptores

DMAE: Degeneración macular asociada a la edad

EPR: Epitelio pigmentario de la retina

FAK: Quinasa de adhesión focal

FGF: Factor de crecimiento de fibroblastos

GABA: Ácido gamma-aminobutírico

GAD: Glutamato descarboxilasa

GDNF: Factor neurotrófico derivado de la glía

GES: Sulfanato de guanidoetano

GFAP: Proteína ácida fibrilar glial

IGF1: Factor de crecimiento similar a la insulina-1

IIV: Inyecciones intravítreas

IL: Interleucina

iNOS: Sintetasa de óxido nítrico inducible

JAK1: Janus quinasa 1

LEDs: Diodos emisores de luz

LPS: Lipopolisacáridos

MAPK: Proteínas quinasas activadas por mitógenos

MerTk: Receptor Mer tirosina-quinasa

MFG-E8: Glóbulo graso lácteo-Factor 8 de EGF

MLE: Membrana limitante externa

MLI: Membrana limitante interna

NADH: Hidrato de nicotinamida adenina dinucleótido

NGF: Factor de crecimiento nervioso

NGLd: Núcleo geniculado lateral dorsal

NGLv: Núcleo geniculado lateral ventral

NMDA: N-metil-D-aspartato

NO: Nervio óptico

NPHb: Núcleo perihabenuar

NPO: Núcleo pretectal olivar

NSQ: Núcleo supraquiasmático

P1GF-1: Factor de crecimiento placentario-1

P1GF2: Factor de crecimiento placentario-2

PEDF: Factor derivado del epitelio pigmentario

PTP: Proteínas tirosina fosfatasas

RCS: Royal College of Surgeons

RD: Retinopatía diabética

ROS: Especies reactivas de oxígeno

RP: Retinosis pigmentaria

SE: Segmento externo del fotorreceptor

SI: segmento interno del fotorreceptor

SNC: Sistema nervioso central

STAT1: Transductor de señales y activador de la transcripción 1

Tau-T: Transportador de Taurina

TGFβ: Factor de crecimiento transformante β

TNF-α: Factor de necrosis tumoral-α

VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular

XO: Xantina oxidasa

VI. ILUSTRACIONES

Figura 1	Sistema visual: Vía óptica y proyecciones de las CGR. Imagen modificada de <i>Purves et al., 2004</i> .	Página 2
Figura 2	Dibujo esquemático de la retina de Santiago Ramón y Cajal (<i>Ramón y Cajal, 1892</i>).	Página 4
Figura 3	Dibujo esquemático de las capas de la retina. Imagen modificada de <i>Donal y D'Amigo, 1994</i> .	Página 5
Figura 4	Imagen de la estructura del ERP. Dónde se puede observar la monocapa de células hexagonales marcadas con Fluorogold en una imagen realizada con microscopía confocal. Imagen modificada de <i>Valiente-Soriano et al., 2020</i> .	Página 7
Figura 5	Espectro visible por el ojo humano. Imagen modificada de https://www.alamy.es	Página 11
Figura 6	Estructura de los fotorreceptores: Conos y Bastones. Dónde se pueden observar las diferentes partes que forman la estructura del fotorreceptor: El segmento externo (SE), cuerpo celular (CC), segmento interno (SI) y el terminal sináptico (TS). Imagen modificada de <i>Goldberg et al., 2016</i> .	Página 12
Figura 7	Imagen de los picos de sensibilidad de los diferentes fotopigmentos visuales. Absorbancia espectral de la luz de los diferentes fotopigmentos en la retina humana. En líneas continuas podemos observar los tres tipos diferentes de opsinas en los conos según su pico de sensibilidad, y en línea discontinua observamos la rodopsina en los bastones. Imagen modificada de http://mitareadelartegriego.blogspot.com/2012/02/el-ojo-humano.html	Página 14
Figura 8	Imagen y distribución de las CGR en una retina de ratón. A) Fotomontaje de una retina de ratón pigmentada que muestra células ganglionares de la retina marcadas con anticuerpos que reconocen neurofilamentos de alto peso molecular no fosforilados (SMI32) y calbindina. Las células marcadas con SMI32 corresponden a las CGR, mientras que las que están marcadas doblemente están indicadas con puntos blancos y corresponden al tipo CGRif M4. B-D) Detalles con mayor aumento que muestran la marcación de las CGRif con SMI32 (B), calbindina (C) y la doble marcación de las CGRif M4 (D). Imagen modificada de <i>Vidal-Villegas et al., 2021</i> .	Página 16

Figura 9	<i>Dibujo esquemático representativo de los diferentes estadios de activación microglial según la clasificación de Jonas et al. 2012.</i> Imágenes representativas de una célula de microglía en reposo que comienza en el estadio de reposo 1A, y continúa hasta un estadio activado 6A (estadio de macrófago), se transforma en estadio 6R (multinucleocélulas) y, a continuación, vuelve al estadio de reposo 1R. Las flechas azules indican el aumento de la activación y la flecha verde indica la transición de activado a retorno. Esta demarcación parece ser el punto en el que los macrófagos fagocitan otras células o restos y los digieren. Modificada de Jonas et al., 2012.	Página 23
Figura 10	<i>Estructura química de la molécula de Taurina.</i> Imagen creada con https://molview.org	Página 40
Figura 11	<i>Estructura química de la molécula de GABA.</i> Imagen creada con https://molview.org	Página 40
Figura 12	<i>Estructura química de la molécula de β-alanina.</i> Imagen creada con https://molview.org	Página 44

VII. ORGANIZACIÓN GENERAL DE LA TESIS

La presente Tesis Doctoral se ha regido por El Real Decreto 99/2011, de 28 de enero, por el que se regulan las enseñanzas oficiales de doctorado. Además, esta Tesis Doctoral se presenta en la modalidad de “Tesis Doctoral como compendio de publicaciones” con acuerdo a lo expuesto en el artículo 11.6 del citado Real Decreto.

Con esta Tesis, la doctoranda opta a la Mención de Doctor Internacional. Como estipulan las bases y siendo requisito indispensable para la acreditación de dicha Mención, la doctoranda ha realizado una estancia de cuatro meses en el Grupo de Investigación del Profesor Dr. José Manuel Romero Hombrebueno en *The Institute of Inflammation and Ageing*, en Birmingham. Para optar a la Mención de Doctorado Internacional, la regulación por la que se rigen los estudios de doctorado de la Universidad de Murcia exige que, al menos, el resumen y las conclusiones estén redactados y defendidos en la lengua inglesa. El resto de la Tesis puede estar escrita y ser defendida en castellano. Así bien, la presente tesis doctoral ha sido redactada en castellano, con el resumen y las conclusiones escritas en castellano e inglés.

La Tesis Doctoral consta de los siguientes apartados: introducción, objetivos, compendio de artículos, conclusiones y bibliografía. Al inicio, se ha incluido una copia de los anexos administrativos necesarios para su depósito. Al final, se han añadido las publicaciones científicas derivadas de esta Tesis.

Por consiguiente, y para cumplir los requisitos recogidos en la normativa, se adjunta en su presentación para la correspondiente autorización en la Comisión General de Doctorado:

- Informe de la comisión académica del programa de doctorado en ciencias de la visión.
- Informe de los directores justificativo de la presentación del compendio de publicaciones como tesis doctoral.
- Informe motivado de la Comisión Académica del Programa de Doctorado y visto bueno de la Comisión de Rama de Conocimiento.
- Conformidad de los coautores de cada uno de los artículos presentados con la presentación del correspondiente artículo por parte del doctorando con el propósito de formula tesis doctoral como compendio de publicaciones.
- Compromiso de cada uno de los coautores de no presentar los artículos de su coautora como parte de otra tesis doctoral.
- Declaración de cada uno de los autores acerca de la relevancia de la contribución del doctorando a la investigación cuyos resultados fueran plasmados en los artículos de su coautoría.

- Acreditación de una estancia de Investigación de cuatro meses en el *The Institute of Inflammation and Ageing* en la Universidad de Birmingham bajo la supervisión y tutela del Profesor Dr. José Manuel Romero Hombrebueno.
- Informes favorables de los Doctores Francisco Nadal Nicolás y Luis Alarcón Martínez.

Asimismo, y cumpliendo con la normativa que regula esta modalidad de Tesis Doctoral por compendio de publicaciones y la solicitud de la mención de Doctor internacional, en esta tesis aparece:

- Un resumen global en castellano e inglés en el que se presentan como una unidad científica todos los trabajos aportados al compendio.
- Un apartado de introducción dónde se detallan conceptos básicos y necesarios para la comprensión de los trabajos y justifica la unidad científica de la Tesis.
- Un apartado de objetivos dónde se enumeran los objetivos generales y específicos propuestos en esta Tesis.
- Un apartado de conclusiones dónde se enumeran los hallazgos obtenidos más importantes, escritos en castellano e inglés.
- Un apartado de bibliografía dónde se recogen la lista de todas las referencias citadas a lo largo de la Tesis.
- Por último, se incluyen como anexos finales las publicaciones científicas derivadas de parte del trabajo presentado en esta Tesis.

VIII. HALLAZGOS ORIGINALES

La realización de esta tesis nos ha permitido documentar los siguientes hallazgos originales:

1. En referencia al estudio de los efectos de las inyecciones intravítreas de PBS, dos VEGF humanizados más utilizados en la actualidad ranibizumab y aflibercept, a dos concentraciones diferentes, y de un anti-VEGF específico para rata, se ha documentado que:
 - Todas las IIV producen reactividad glial
 - Los dos anticuerpos anti-VEGF humanizados ranibizumab y aflibercept producen a dosis altas una gran reactividad glial y muerte de CGR pero no de CGRif.
2. En referencia a la caracterización del papel de la glía en la formación de anillos de degeneración de fotorreceptores en ratas albinas con degeneración fototóxica, se ha documentado que:
 - La exposición a la luz provoca una pérdida progresiva de los conos S y L/M, en forma de anillos.
 - Las células microgliales y las células de Müller desempeñan roles específicos y coordinados en la degeneración: Mientras que las células microgliales están más implicadas en la fagocitosis de los fotorreceptores las células de Müller lo están en la migración, la remodelación retiniana y la formación de un sello glial.
3. En referencia al estudio del efecto del déficit de taurina en la retina de la rata albina, inducido por la administración de β -alanina, se ha documentado que:
 - Provoca un adelgazamiento de la retina y un acortamiento de los segmentos externos de los fotorreceptores.
 - Provoca el aumento significativo de activación de las células gliales.
 - Altera la capacidad fagocítica de las células del EPR.
 - Provoca una afectación tanto de las conexiones sinápticas la retina.
 - Cuando la depleción de taurina se combina con exposición a la luz, aumenta sus efectos adversos sobre la retina: mayor activación de células gliales, mayor muerte de fotorreceptores y de CGR y aumento del estrés oxidativo.

4. En referencia al estudio del efecto de la suplementación de la dieta con taurina en ratas RCS, se ha documentado que:

- Incrementa la supervivencia de fotorreceptores.
- Mejora la función retiniana: la respuesta de los bastones, la amplitud de las ondas a y b, y de la onda b fotópica.
- Disminuye la activación de las células microgliales y macrogliales.
- Mejora la fagocitosis del EPR.
- Disminuye el daño oxidativo en las capas nucleares interna y externa de la retina.
- Disminuye el deterioro sináptico en las dos capas plexiformes de la retina.

5. En referencia al efecto de la terapia celular singénica con células mononucleares derivadas de médula ósea en la supervivencia de fotorreceptores en dos modelos animales de degeneración hereditaria de fotorreceptores: las ratas RCS y P23H-1, se ha documentado que:

- El trasplante de CMN-MO tanto en el vítreo como en el espacio subretiniano disminuye la activación de las células gliales.
- El trasplante de CMN-MO tanto en el vítreo como en el espacio subretiniano protege a los fotorreceptores de la degeneración.
- El trasplante de CMN-MO tanto en el vítreo como en el espacio subretiniano disminuye la degeneración sináptica pero no mejora la respuesta funcional retiniana.
- Los efectos de rescate de fotorreceptores son mayores con la administración intravítrea y sobre todo en las ratas RCS.

IX. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

Durante la elaboración de esta tesis doctoral, en el Laboratorio de Oftalmología Experimental de la Universidad de Murcia (UMU) e Instituto Murciano de Investigación Biomédica Pascual Parrilla (IMIB-Pascual Parrilla), he participado en varios proyectos de investigación cuyos resultados se han reflejado en 8 publicaciones científicas, 3 de ellas como autor principal, y 25 comunicaciones a congresos nacionales e internacionales. A continuación, se detallan las publicaciones, indicando con un asterisco inicial los que forman parte de la base experimental de la presente Tesis Doctoral y también las presentaciones realizadas en congresos.

- ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

2019

García-Ayuso D, Di Pierdomenico J, Valiente-Soriano FJ, **Martínez-Vacas A**, Agudo-Barriuso M, Vidal-Sanz M, Picaud S, Villegas-Pérez MP. β -alanine supplementation induces taurine depletion and causes alterations of the retinal nerve fiber layer and axonal transport by retinal ganglion cells. **Exp Eye Res.** 2019 Nov;188:107781. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2019.107781>

2020

Di Pierdomenico J, **Martínez-Vacas A**, Hernández-Muñoz D, Gómez-Ramírez AM, Valiente-Soriano FJ, Agudo-Barriuso M, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Coordinated Intervention of Microglial and Müller Cells in Light-Induced Retinal Degeneration. **Invest Ophthalmol Vis Sci.** 2020 Mar 9;61(3):47. <https://doi.org/10.1167/iovs.61.3.47>

2021

***Martínez-Vacas A**, Di Pierdomenico J, Valiente-Soriano FJ, Vidal-Sanz M, Picaud S, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Glial Cell Activation and Oxidative Stress in Retinal Degeneration Induced by β -Alanine Caused Taurine Depletion and Light Exposure. **Int J Mol Sci.** 2021 Dec 29;23(1):346. <https://doi.org/10.3390/ijms23010346>

2022

*Di Pierdomenico J, Gallego-Ortega A, **Martínez-Vacas A**, García-Bernal D, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Intravitreal and subretinal syngeneic bone marrow mononuclear stem cell transplantation improves photoreceptor survival but does not ameliorate retinal function in two rat models of retinal degeneration. **Acta Ophthalmol.** 2022 Sep;100(6):e1313-e1331. <https://doi.org/10.1111/aos.15165>

***Martínez-Vacas A**, Di Pierdomenico J, Gallego-Ortega A, Valiente-Soriano FJ, Vidal-Sanz M, Picaud S, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Systemic taurine treatment affords functional and morphological neuroprotection of photoreceptors and restores retinal pigment epithelium function in RCS rats. **Redox Biol.** 2022 Nov;57:102506. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2022.102506>

2023

*Di Pierdomenico J, **Martínez-Vacas A**, Picaud S, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Taurine: an essential amino sulfonic acid for retinal health. **Neural Regen Res.** 2023 Apr;18(4):807-808. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.353491>

2024

*García-Ayuso D, Di Pierdomenico J, **Martínez-Vacas A**, Vidal-Sanz M, Picaud S, Villegas-Pérez MP. Taurine: a promising nutraceutical in the prevention of retinal degeneration. **Neural Regen Res.** 2024 Mar;19(3):606-610. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.380820>

***Martínez-Vacas A**, Di Pierdomenico J, Gómez-Ramírez AM, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Dose-Related Side Effects of Intravitreal Injections of Humanized Anti-Vascular Endothelial Growth Factor in Rats: Glial Cell Reactivity and Retinal Ganglion Cell Loss. **Invest Ophthalmol Vis Sci.** 2024 Apr 1;65(4):10. <https://doi.org/10.1167/iovs.65.4.10>

- COMUNICACIONES A CONGRESOS

2018

García-Ayuso D, Di Pierdomenico J, **Martínez Vacas A**, Vidal-Sanz M, Agudo-Barriuso M, Picaud S, Villegas-Pérez MP. La deficiencia inducida de taurina aumenta la degeneración fototóxica de la retina en un modelo animal. Comunicación oral. Congreso Internacional de Optometría, Contactología y Óptica oftálmica (Congreso OPTOM). Madrid, España.

***Martínez Vacas A**, García-Ayuso D, Di Pierdomenico J, Agudo-Barriuso M, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP. Estudio de la respuesta glial en un modelo de degeneración de la retina por fototoxicidad y déficit de taurina. Póster. Congreso Internacional de Optometría, Contactología y Óptica oftálmica (OPTOM). Madrid, España.

***Martínez Vacas A**, Di Pierdomenico J, Agudo-Barriuso M, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Taurine depletion induces glial cell activation and photoreceptor loss. Comunicación Oral. International Congress of Research in Retina and Vision (SIREV). Madrid, España.

García-Ayuso D, Di Pierdomenico J, **Martínez Vacas A**, Hadj-Daid W, Hernández-Muñoz D, Marie M, Agudo-Barriuso M, Vidal-Sanz M, Picaud S, Villegas-Pérez MP. Different aetiologies cause distinct patterns of cone degeneration. Comunicación oral. European Association for Vision and Eye Research Congress (EVER). Niza, Francia.

2019

***Martínez Vacas A**, Di Pierdomenico J, Agudo-Barriuso M, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Glial response in an animal model of retinal degeneration induced by taurine depletion and/or light-exposure. Comunicación oral. Congreso de la Sociedad Española de Histología e Ingeniería Tisular (SEHIT). Murcia, España.

2021

***Martínez Vacas A**, Di Pierdomenico J, Agudo-Barriuso M, Vidal-Sanz M, García-Ayuso D, Villegas-Pérez MP. Efecto de las inyecciones intravítreas de diferentes anti-VEGF en la población de células ganglionares de la retina de rata. Comunicación oral. Congreso Internacional de Optometría, Contactología y Óptica oftálmica (OPTOM). Madrid, España.

García-Ayuso D, Di Pierdomenico J, **Martínez-Vacas A**, Valiente-Soriano FJ, Agudo-Barriuso M, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP. La suplementación de la dieta con beta-alanina causa déficit de taurina y degeneración de la retina. Comunicación oral. Congreso Internacional de Optometría, Contactología y Óptica oftálmica (OPTOM). Madrid, España.

***Martínez Vacas A**, Di Pierdomenico J, Gómez-Ramírez AM, Vidal-Sanz M, García-Ayuso D, Villegas-Pérez MP. Intravitreal injections of anti-VEGF at high concentrations cause RGC loss but not IPRGC loss. Comunicación oral. VI Jornadas Doctorales de la Universidad de Murcia. Murcia, España.

***Martínez Vacas A**, Di Pierdomenico J, Gómez-Ramírez AM, Vidal-Sanz M, García-Ayuso D, Villegas-Pérez MP. Intravitreal injections of humanized anti-VEGF drugs cause inflammation and toxicity in the rat retina in a dose-dependent manner. Comunicación oral. International Congress of Research in Retina and Vision (SIREV). Murcia, España.

***Martínez Vacas A**, Di Pierdomenico J, Gallego-Ortega A, Picaud S, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Taurine supplementation increases survival of functional photoreceptors and decreases glial activation in RCS rats. Póster. European Association for Vision and Eye Research Congress (EVER). Valencia, España.

2022

***Martínez Vacas A**, Di Pierdomenico J, Vidal-Sanz M, Picaud S, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. La depleción de taurina causa estrés oxidativo en retina externa e interna y pérdida de conexiones sinápticas. Comunicación oral. I Jornadas de Jóvenes Investigadores (SIREV). Valladolid, España.

***Martínez Vacas A**, Di Pierdomenico J, Vidal-Sanz M, Picaud S, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. La taurina es necesaria para el mantenimiento de las conexiones sinápticas y la supervivencia neuronal en la retina de rata adulta. Comunicación oral. VII Jornadas Doctorales de la Universidad de Murcia. Murcia, España.

***Martínez Vacas A**, Di Pierdomenico J, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. La suplementación de la dieta con taurina promueve la supervivencia de fotorreceptores funcionales en ratas con degeneración hereditaria de la retina. Comunicación oral. I Congreso Internacional de Retina Murcia (RETIMUR). Murcia, España.

***Martínez Vacas A**, Di Pierdomenico J, Valiente-Soriano FJ, Picaud S, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Does taurine have a role in the phagocytic function of the retinal pigment epithelium?. Póster. European Association for Vision and Eye Research Congress (EVER). Valencia, España.

García-Ayuso D, Di Pierdomenico J, **Martínez Vacas A**, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP. Understanding the role of microglia in the onset of photoreceptor degeneration. Comunicación oral. European Association for Vision and Eye Research Congress (EVER). Valencia, España.

García-Ayuso D, Di Pierdomenico J, **Martínez Vacas A**, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP. Role of Müller cells in cone mosaic rearrangement and retinal remodelling in photoreceptor degenerations. Comunicación oral. European Association for Vision and Eye Research Congress (EVER). Valencia, España.

2023

***Martínez Vacas A**, Di Pierdomenico J, Valiente-Soriano FJ, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Semiautomated quantification of phagosomes as method to study retinal pigment epithelium function. Comunicación oral. International Congress of Research in Retina and Vision (SIREV). Alicante, España.

Videla Ristol A; Di Pierdomenico J, **Martínez Vacas A**, García Ayuso D, Villegas Pérez MP. The role of minocycline and bone marrow-derived mononuclear stem cell in the treatment of the inherited retinal degeneration. Comunicación oral. International Congress of Research in Retina and Vision (SIREV). Alicante, España. **Premio a la mejor comunicación de la sección**

***Martínez Vacas A**, Di Pierdomenico J, Vidal-Sanz M, Picaud S, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Efectos de la depleción de taurina en la retina: daños celulares, estrés oxidativo y conexiones sinápticas. Póster. VIII Jornadas Doctorales de la Universidad de Murcia. Murcia, España.

***Martínez Vacas A**, Di Pierdomenico J, Valiente-Soriano FJ, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Taurine influences the phagocytic function of retinal pigment epithelium cells in healthy and dystrophic animals. Póster. European Association for Vision and Eye Research Congress (EVER). Valencia, España. **Premio al mejor póster de la sección.**

García-Ayuso D, **Martínez Vacas A**, Di Pierdomenico J, Vidal-Sanz M, Valiente-Soriano FJ, Picaud S, Villegas-Pérez MP. On the potencial therapeutic role of taurine in retinal degenerative diseases. Comunicación oral. European Association for Vision and Eye Research Congress (EVER). Valencia, España.

Di Pierdomenico J, Videla Ristol A, **Martínez Vacas A**, Padilla Jiménez RM, Vidal Sanz M, García Ayuso D, Villegas Perez MP. Neuroprotective effects of syngeneic bone marrow-derived mononuclear stem cell transplantation and intraperitoneal minocycline in the treatment of inherited photoreceptor retinal degeneration. Comunicación oral. European Association for Vision and Eye Research Congress (EVER). Valencia, España.

2024

Di Pierdomenico J, Videla-Ristol A, **Martínez-Vacas A**, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Tratando la degeneración hereditaria de la retina: neuroprotección mediante células madre mononucleares de médula ósea y minociclina. Comunicación oral. Congreso Internacional de Optometría, Contactología y Óptica oftálmica (OPTOM). Madrid, España.

***Martínez-Vacas A**, Di Pierdomenico J, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. La taurina promueve la supervivencia de fotorreceptores funcionales y reduce la gliosis reactiva en ratas con degeneración hereditaria de la retina. Póster. IX Jornadas Doctorales de la Universidad de Murcia. Murcia, España.

***Martínez-Vacas A**, Di Pierdomenico J, Gómez-Ramírez AM, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Póster. Glial cell reactivity and retinal ganglion cell loss after intravitreal injections of humanized anti-VEGF in rats. Póster. European Association for Vision and Eye Research Congress (EVER). Valencia, España.

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. SISTEMA VISUAL

El sistema visual es parte del sistema nervioso central (SNC) y el encargado de la percepción visual, es decir, de la recepción, el procesamiento e interpretación de los estímulos visuales (Hubel, 1999). Además, el sistema visual realiza una serie de tareas complejas que incluyen: la formación de representaciones monoculares, la integración de una percepción binocular central a partir de dos proyecciones dimensionales, la identificación y categorización de objetos visuales, la evaluación de distancias hacia y entre objetos, y la orientación de los movimientos corporales en relación con los objetos observados.

El sistema visual está formado por diferentes estructuras: el ojo, que contiene la retina, el nervio óptico, el quiasma óptico, el tracto óptico, las radiaciones ópticas y las diferentes zonas de proyección de áreas corticales y subcorticales del cerebro (Dowling, 1987; Figura 1).

El quiasma óptico es una estructura crucial en el sistema visual de los mamíferos. En este punto, las proyecciones nerviosas de ambos ojos, específicamente los nervios ópticos (NO), se encuentran y se reorganizan. Además, los axones de las células ganglionares de la retina (CGR) se dividen de tal manera que la información visual de cada ojo se distribuye a ambos hemisferios cerebrales, provocando que la mitad de los axones de cada nervio óptico decusen en el quiasma óptico (Dowling, 1987; Figura 1). Una vez se ha producido esta división, los axones continúan como tractos ópticos y llegan al núcleo geniculado dorsolateral (NGLd) del tálamo. El NGLd actúa como una estación de relevo donde la información visual es organizada y enviada a la corteza visual a través de las radiaciones ópticas. La corteza visual primaria, ubicada en el lóbulo occipital del cerebro, es donde se lleva a cabo el procesamiento inicial de la información visual, lo que permite la percepción y la interpretación de las imágenes visuales (Dowling, 1987; Figura 1).

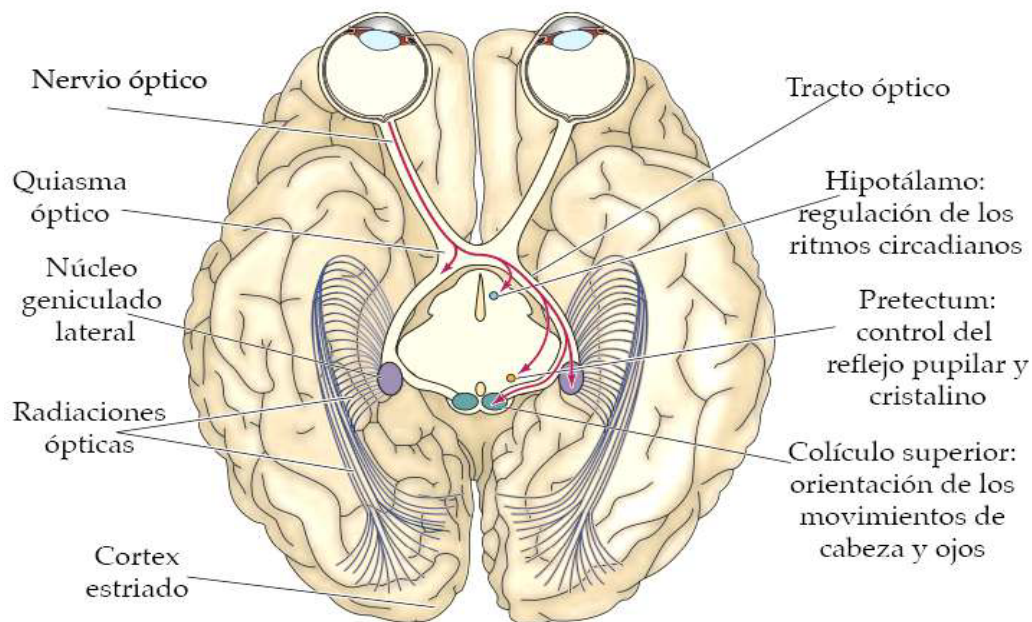


Figura 1. Sistema visual: Vía óptica y proyecciones de las CGR. Imagen modificada de *Purves et al., 2004*.

El sistema visual del roedor constituye un excelente modelo de experimentación en estudios de neurodegeneración y neuroprotección. La retina de los roedores, al igual que en otros mamíferos, está organizada en capas; sin embargo, carece de fovea como en los humanos y primates, aunque sí posee una estría visual, que es una región con alta densidad de CGR y conos L/M (*Salinas-Navarro et al., 2009a, 2009b; Ortín-Martínez et al., 2010*).

1.1.1. ESTRUCTURA Y ORGANIZACIÓN DEL SISTEMA VISUAL

La entrada de información visual en el sistema visual se produce a través del globo ocular. En este órgano y, concretamente, en la retina tiene lugar el proceso de transducción de los estímulos luminosos en estímulos eléctricos, concretamente en los fotorreceptores de la retina, para posteriormente transmitirse por la vía visual hacia el cerebro. Los estímulos llegan primero a la corteza visual primaria, donde tienen lugar la sensopercepción de las imágenes y la interpretación de elementos como la forma, la profundidad, el color y el movimiento (*Hubel, 1999; Neira-Gómez et al., 2022*).

1.1.1.1. ANATOMÍA DEL GLOBO OCULAR

El globo ocular humano es casi esférico y su pared externa está formada por tres capas concéntricas: la túnica externa, la túnica intermedia o úvea y la túnica interna o retina.

La túnica externa representa la capa más superficial de las tres capas que envuelven al globo ocular, constituyendo su principal mecanismo de protección. Esta capa está compuesta por dos elementos: en la parte posterior del globo por la esclera, que es opaca, y en la parte anterior del globo por la córnea. La córnea es una estructura transparente debido a su avascularidad, a su contenido en agua y a la disposición de las fibras de colágeno que la constituyen. Ésta es el primer elemento dióptrico que atraviesan los rayos de luz al llegar ojo, y el más potente, con 43 dioptrías.

La túnica intermedia o úvea está formada en la parte posterior del ojo por la coroides, una capa fundamentalmente vascular cuya función principal es la aportación de nutrientes a la retina más externa. La túnica intermedia está formada en su parte anterior por el cuerpo ciliar y el iris. El cuerpo ciliar contiene en su parte más anterior los denominados procesos ciliares, cuya función principal es la producción de humor acuoso. Asimismo, contiene al músculo ciliar, encargado de realizar los cambios de curvatura del cristalino durante la acomodación para enfocar en retina los rayos procedentes de estímulos cercanos. El iris está compuesto por dos capas epiteliales, la anterior y la posterior, además del estroma que contiene el músculo dilatador y el músculo esfínter del iris. Estos músculos regulan el tamaño de la pupila y por ello, la cantidad de luz que entra en el globo ocular.

La túnica interna del globo ocular es la retina, que tiene un origen neural y forma parte del SNC.

1.1.1.2. LA RETINA

La retina está especializada en la captación y el proceso inicial de los estímulos luminosos. Dado que se encuentra dentro del globo ocular y separada del resto del SNC, es un tejido de fácil acceso, lo que la convierte en un modelo muy utilizado para estudios anatómicos y fisiológicos del tejido nervioso. La descripción inicial de la estructura de la retina y su organización celular fue una de las grandes aportaciones de Santiago Ramón y Cajal, que utilizó la retina para dilucidar las bases de la comunicación neuronal ([Ramón y Cajal, 1892](#); [Dowling, 1987](#); [Figura 2](#)).

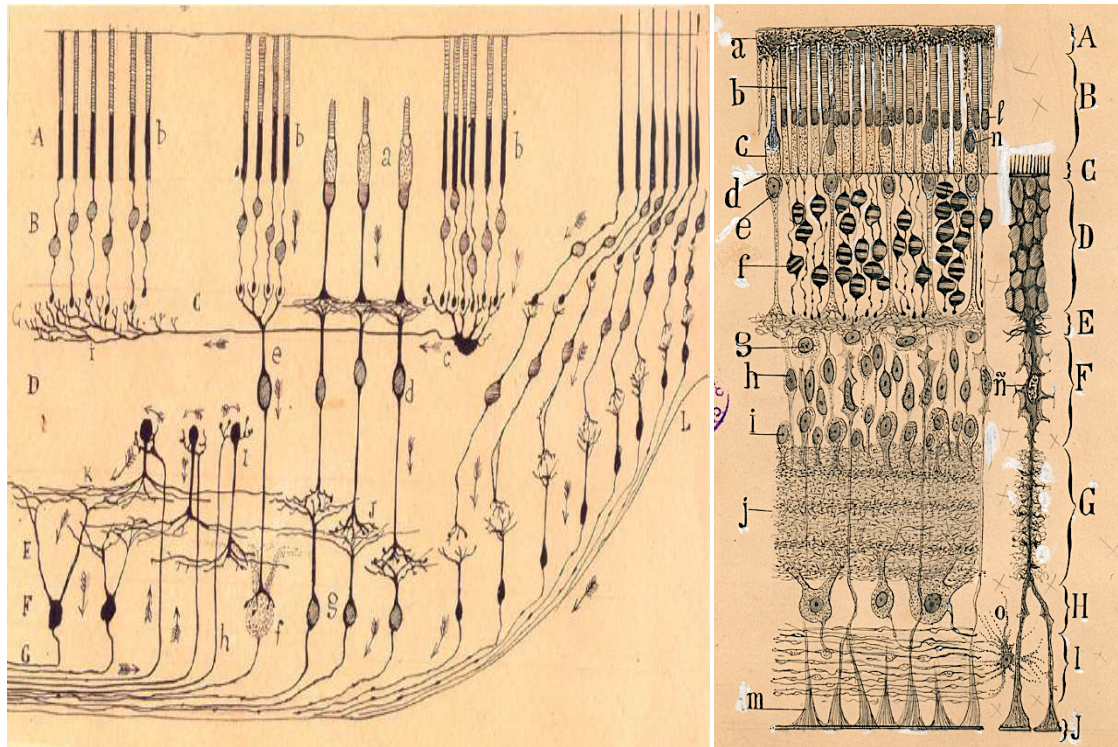


Figura 2. Dibujo esquemático de la retina de Santiago Ramón y Cajal (Ramón y Cajal, 1892).

1.1.1.2.1. ESTRUCTURA DE LA RETINA

La retina de los vertebrados tiene en común una estructura básica (Biarnés et al., 2022): tres capas nucleares, separadas entre ellas por dos capas sinápticas, y otras cinco capas más. Estas capas contienen 6 tipos diferentes de células neuronales: fotorreceptores, células horizontales, células bipolares, células interplexiformes, células amacrinas y CGR. Además de neuronas, la retina contiene otros tres tipos celulares no neuronales: las células de Müller, los astrocitos y las células de microglía. Las células de Müller tienen un gran tamaño y se extienden desde las capas más internas a las más externas de la retina de manera radial, aportando sustento y soporte mecánico a las neuronas de la retina. Los astrocitos se sitúan en la capa de células ganglionares (CCG) y capa de fibras nerviosas (CFN) rodeando a las fibras nerviosas y a los vasos sanguíneos (Ramírez et al., 1996; Triviño et al., 1996). Las células de microglía son de pequeño tamaño y morfología variable y su función principal es fundamentalmente fagocítica (Sobrado et al., 2007).

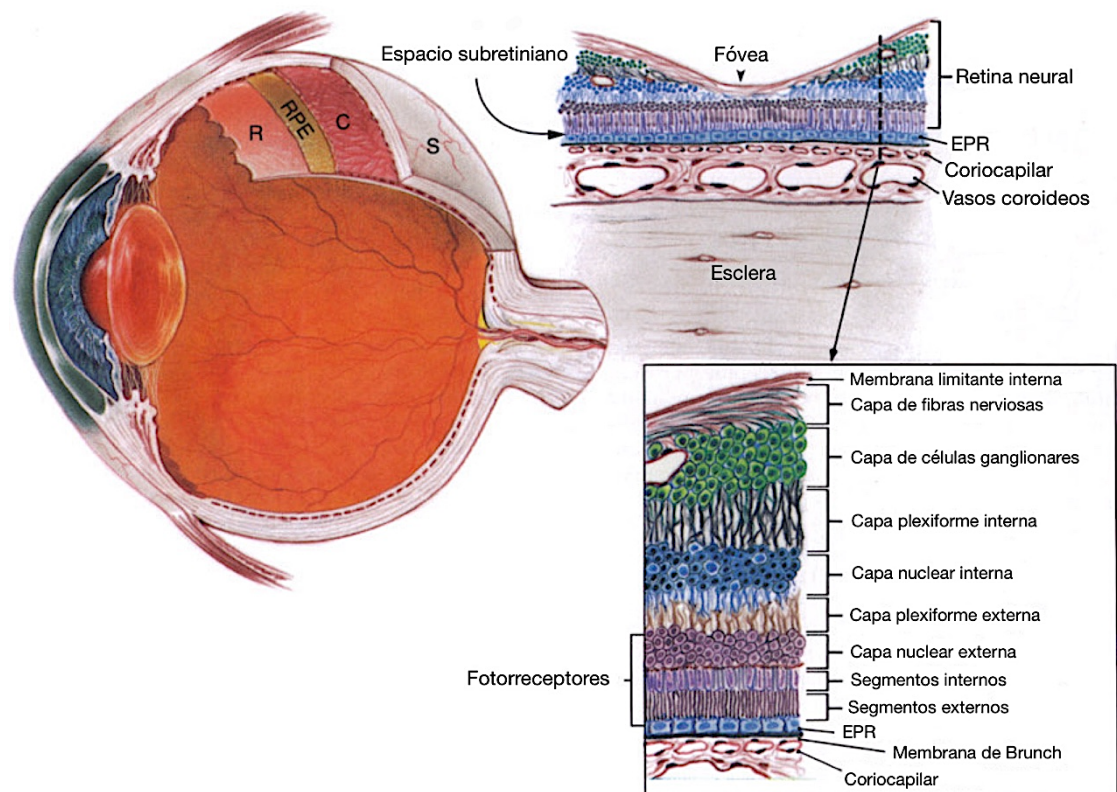


Figura 3. Dibujo esquemático de las capas de la retina. Imagen modificada de Donal y D'Amigo, 1994.

La retina de los vertebrados está formada por 10 capas que, desde la más externa, en contacto con la coroides, hasta la más interna, en contacto con el vítreo, son (Figura 3):

1. **Epitelio pigmentario de la retina (EPR):** monocapa de células epiteliales que limita externamente con la membrana de Bruch que la separa de la coroides. El EPR tiene muchas funciones importantes para la visión: actúa como regenerador de los pigmentos visuales, contiene gránulos con melanina para evitar la dispersión de la luz, realiza la fagocitosis de los segmentos externos de los fotorreceptores, secreta factores tróficos y forma la barrera hematorretiniana externa, entre otras. En animales albinos este epitelio no contiene gránulos de melanina y es transparente, por lo que permite ver la vascularización coroidea.
2. **Capa de los segmentos externos de los fotorreceptores (CSE):** formada por los segmentos externos de los fotorreceptores.
3. **Membrana limitante externa (MLE):** formada por un entramado de uniones del tipo zónula adherens entre la región más externa de las células de Müller y los fotorreceptores.
4. **Capa nuclear externa (CNE):** formada por los núcleos de los fotorreceptores.

5. **Capa plexiforme externa (CPE):** formada por los terminales axonales (pedículos y esférulas) de los fotorreceptores y los procesos dendríticos de las células bipolares, horizontales e interplexiformes.
6. **Capa nuclear interna (CNI):** formada por los núcleos de células amacrinas, bipolares, interplexiformes, de Müller y de las células horizontales.
7. **Capa plexiforme interna (CPI):** formada por los procesos dendríticos de las CGR y las células amacrinas y por los axones de las células bipolares.
8. **Capa de células ganglionares (CCG):** constituida por las CGR y las células amacrinas desplazadas en esta capa.
9. **Capa de fibras nerviosas (CFN):** formada por los axones de las CGR en su trayecto hacia la papila óptica y por astrocitos.
10. **Membrana limitante interna (MLI):** es la capa que contacta con el vítreo y está formada por los procesos internos de las células de Müller.

A continuación, veremos en detalle algunas de las capas y células de la retina que son importantes para el desarrollo de esta Tesis Doctoral.

1.1.1.2.2. EPITELIO PIGMENTARIO DE LA RETINA

El EPR es una monocapa de células hexagonales pigmentadas ([Figura 4](#)) que está situada entre la retina neurosensorial y la coroides. Las células del EPR son de origen neuroectodérmico, lo que significa que se originan a partir del mismo tejido embrionario que el SNC. El EPR se caracteriza por una polaridad apical-basal, complejos de unión lateral entre células adyacentes y una superficie basal que se asienta sobre una membrana basal conocida con el nombre de membrana de Bruch. El polo apical de las células contiene las microvellosidades apicales del EPR que se interdigitan con los SE de los fotorreceptores ([Lakkaraju et al., 2020](#); [Rizzolo, 2007](#); [Shin et al., 2006](#)). La integridad de esta capa es crucial para el correcto funcionamiento de los fotorreceptores y para el proceso de visión ([Fuhrmann et al., 2014](#)).

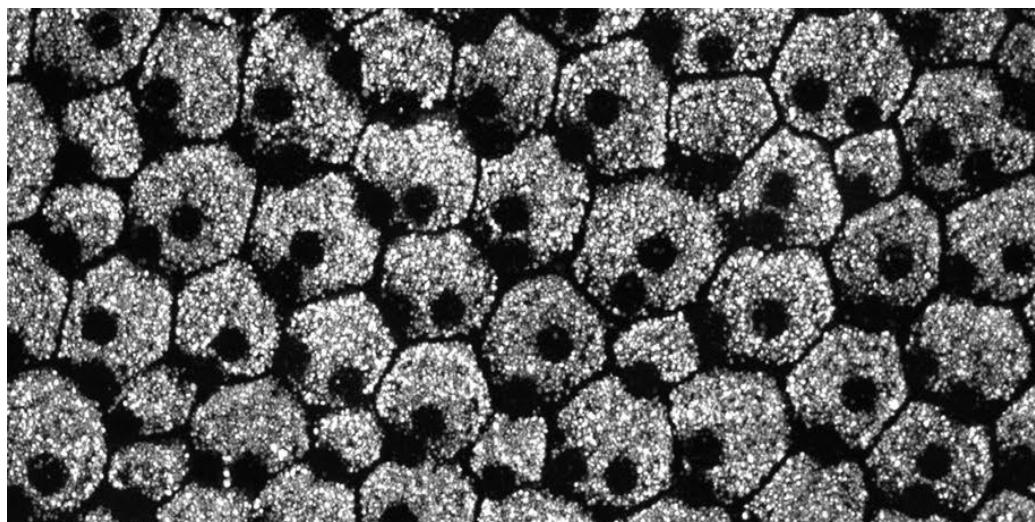


Figura 4. Imagen de la estructura del ERP. *Dónde se puede observar la monocapa de células hexagonales marcadas con Fluorogold en una imagen realizada con microscopía confocal. Imagen modificada de Valiente-Soriano et al., 2020.*

El EPR contiene tres tipos de vesículas citoplasmáticas: los fagosomas, los gránulos de melanina y los gránulos de lipofusina.

1.1.1.2.2.1. GRÁNULOS DE MELANINA

Los gránulos de melanina se llaman también melanosomas ([Bonilha 2008](#); [Sparrow et al., 2010](#); [Steinberg 1985](#); [Strauss 2005](#); [Jonas et al., 2017](#); [Berman et al., 1974](#)). El proceso de síntesis de melanina en el EPR se produce a lo largo de la vida, sin embargo, la cantidad de síntesis de melanina en el EPR se reduce considerablemente con la edad ([Istrate et al., 2020](#)). La melanina retiniana tiene varias funciones clave como la absorción de la luz ([Sparrow et al., 2010](#)), regulación de la homeostasis del hierro en la retina ([Kaczara et al. 2012](#); [Rozanowski et al. 2008](#); [Hong y Simon. 2007](#); [Nordlund. 2006](#)) y una importante función fotoprotectora al neutralizar las especies reactivas de oxígeno (ROS, del inglés, *reactive oxygen species*) y reducir el daño causado por los radicales libres ([Fletcher et al., 2020](#); [Rozanowski et al. 2008](#)).

1.1.1.2.2.2. GRÁNULOS DE LIPOFUSCINA

Los gránulos de lipofusina son autofluorescentes de color amarillo-marrón y son acumulaciones de material lipídico y proteico de la digestión lisosomal celular que se desarrollan y acumulan en el EPR con la edad ([Bonilha 2008](#); [Sparrow et al., 2010a](#); [Steinberg 1985](#); [Strauss 2005](#); [Jonas et al., 2017](#); [Berman et al., 1974](#)). La lipofusina se origina principalmente por la degradación de fagosomas que, procedentes de la ingestión de SE de los fotorreceptores ([Sparrow y Boulton.](#)

2005). Se ha demostrado que la lipofusina del EPR tiene una fluorescencia máxima cuando emite en un máximo de longitud de onda de aproximadamente 590-600 nm (amarillo-naranja) cuando es excitada por la luz en la región “azul” del espectro visible (Boulton et al., 1990; Feeney-Burns y Eldred, 1962). La acumulación excesiva de gránulos de lipofusina puede afectar la eficiencia de la fagocitosis de los SE de los fotorreceptores, la regulación del pH intracelular y la homeostasis de los iones, conllevando disfunciones en la retina (Sparrow y Boulton, 2005).

1.1.1.2.2.3. FAGOSOMAS

Un fagosoma o vesícula endocítica es una vacuola intracelular derivada de la membrana plasmática, formando una invaginación de esta en torno al corpúsculo, que termina por cerrarse y formar una vesícula independiente en el proceso. La formación del fagosoma es sólo el primer paso para alcanzar el objetivo principal de la fagocitosis, que es la inactivación y degradación del material ingerido (Levin et al., 2016). Para ello, la membrana y el contenido luminal del fagosoma recién formado deben sufrir una drástica transformación (Levin et al., 2016), modificando la composición de su membrana limitante y de su contenido (Tjelle et al., 2000; Beron et al., 1995). Los fagosomas son orgánulos clave en la respuesta inmunitaria innata y adaptativa (Cruz et al., 2017; Mantegazza et al., 2013), por lo que un defecto en la fagocitosis o en las vías de maduración fagosomal puedan estar asociadas a enfermedades inmunitarias (Flannagan et al., 2012; Andrews y Sullivan, 2003).

1.1.1.2.2.4. FUNCIONES DEL EPITELIO PIGMENTARIO DE LA RETINA

El EPR desempeña varias funciones esenciales para la retina:

- I. **Absorción de la luz:** Gracias a los melanosomas, mencionados anteriormente, el EPR es capaz de absorber el exceso de luz que llega a la retina, reduciendo así la dispersión de la luz y mejorando la calidad de la imagen (Sparrow et al., 2010).
- II. **Transporte de nutrientes e iones:** El EPR facilita el transporte de iones, como sodio, potasio y cloruro, a través de canales y transportadores iónicos localizados en la membrana apical y basolateral de las células epiteliales, como la ATPasa de Na⁺/K⁺ y los cotransportadores de Na⁺/K⁺/2Cl⁻. Este transporte iónico es esencial para mantener el equilibrio de iones y el pH intracelular, así como para regular la concentración de sodio en el espacio subretiniano, siendo esencial para la despolarización de los bastones en oscuridad (Strauss 2005). Además del transporte de iones, el EPR también facilita el transporte de agua y nutrientes hacia el espacio subretiniano. Esto incluye transportadores de lactato y glucosa expresados en la membrana basal y apical del EPR (Ban & Rizzolo, 2000), de gran importancia para proporcionar energía y sustratos

metabólicos a las células fotorreceptoras. Por otro lado, también se encarga del transporte de todo-trans-retinol al interior celular por medio de la proteína de unión de retinol (CRBP, del inglés, *Celular Retinol Binding Protein*), fundamental para la síntesis y regeneración del pigmento visual en los fotorreceptores.

- III. Ciclo de los retinoides:** El EPR es el encargado de transformar todo-trans retinal en 11-cis retinal, siendo crucial para la regeneración de los pigmentos visuales. Cuando la luz entra en el globo ocular, es captada por los fotorreceptores en la retina. Estos fotorreceptores contienen unos pigmentos llamados rodopsina, en el caso de los bastones, y opsinas, en el caso de los conos. Estos pigmentos están formados por opsina y una molécula llamada retinal (derivada de la vitamina A). El retinal en su forma activa es el 11-cis retina y, tras absorber la luz, cambia su conformación a todo-trans retinal. Este cambio conformacional activa la opsina y desencadena una cascada de señalización que culmina en la generación de señales eléctricas, provocando su disociación de la opsina. Tras la absorción de la luz el todo-trans retinal se convierte nuevamente en 11-cis retinal a través de una serie de reacciones enzimáticas y bioquímicas, volviendo a comenzar el ciclo ([Lamb & Pugh, 2004](#)). Esta regeneración es esencial para restablecer la sensibilidad de los fotorreceptores a la luz, permitiéndoles responder a estímulos visuales repetidos y adaptarse a diferentes niveles de iluminación.
- IV. Fagocitosis de los SE de los fotorreceptores:** La visión es posible gracias a la íntima relación entre la retina neural y el EPR. Los fotorreceptores necesitan renovar los SE para su supervivencia, manteniendo así su función como células sensibles a la luz ([Young 1967](#); [Young y Bok 1969](#); [Kenvay y Palczewski, 2010](#); [Vargas y Finnemann 2022](#)). Este proceso implica la renovación diaria de fragmentos de los SE de los fotorreceptores del extremo distal y la fagocitosis por parte del EPR ([Vargas y Finnemann 2022](#); [Young 1967](#); [Young y Bok 1969](#)). La fagocitosis de los fotorreceptores por el EPR es un proceso circadiano, con un pico máximo diario de actividad poco después del inicio de la luz ([Vargas y Finnemann 2022](#)). Estudios previos muestran que la falta de fagocitosis por parte de EPR conduce a la acumulación de los SE de los fotorreceptores en el espacio subretiniano, provocando así su degeneración ([LaVail 2001](#)).

En la retina de los mamíferos, se han identificado tres receptores involucrados en la regulación de la fagocitosis de los SE de los fotorreceptores por parte del EPR: el CD36, necesario para el proceso de internalización de los SE de los fotorreceptores, el receptor Mer tirosina-quinasa (MerTK), que activa la fagocitosis, y la $\alpha V\beta 5$ integrina, que es necesaria para la unión de los SE de los fotorreceptores y para la iniciación de la fagocitosis. El fallo en alguna de estas moléculas desencadena en enfermedades

retinianas como Retinosis Pigmentaria (RP) o pérdida de la regulación circadiana de la fagocitosis, lo que genera una acumulación de lipofusina en el EPR (Finnemann, 2003; Nandrot et al., 2004). La liberación del fosfolípido aniónico fosfatidilserina por parte de los SE de los fotorreceptores deteriorados estimula su reconocimiento por parte del EPR (Ruggiero et al., 2012). El inicio de la renovación de los SE de los fotorreceptores es la unión de los SE de los fotorreceptores con el EPR a través de la integrina $\alpha_v\beta_5$, la cual se activa por la MFG-E8 (*Milk fat globule-EGF factor 8*) que es un ligando de integrina secretado por el EPR localizado en el espacio subretiniano entre los SE de los fotorreceptores y el EPR (Nandrot et al., 2007; Nandrot et al., 2004). La activación de la integrina conlleva a una cascada de señalizaciones intracelulares que requieren además la activación de los receptores MerTK del EPR, que se produce mediante la activación del ligando MerTK y la señalización citosólica a través de la quinasa de adhesión focal (FAK) (Feng et al., 2002; Finnemann 2003; Burstyn-Cohen et al., 2012). El número de SE envueltos en fagosomas dentro del EPR sirve como medida de la actividad combinada de eliminación/absorción de los SE de los fotorreceptores y, por tanto, de la renovación de estos (Vargas y Finnemann 2022).

- V. Secreción de citoquinas y factores del crecimiento:** El EPR produce y secreta factores de crecimiento, como el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF del inglés, *Vascular Endothelial Growth Factor*), el factor derivado del epitelio pigmentario (PEDF de inglés *Pigment Epithelium-Derived Factor*), el factor de crecimiento tumoral beta (TGF β del inglés, *Transforming Growth Factor Beta*), factores del crecimiento fibroblástico (FGF del inglés, *Fibroblast Growth Factor*) (Strauss, 2005), y de citoquinas. Estos están encargados de mantener la integridad estructural y funcional de la retina y las estructuras circundantes, y pueden modificarse en respuesta a lesiones y enfermedades oculares.

Varias patologías retinianas humanas (Datta et al., 2017; Fisher y Ferrington 2018; García-Layana et al., 2017; Osigian et al., 2018; Wang et al., 2018; Zhang et al., 2019), como la RP o la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) muestran cambios estructurales, morfológicos y funcionales del EPR. En edades avanzadas, se cree que el EPR puede ser disfuncional debido a la inflamación y al estrés oxidativo, y esto puede contribuir al desarrollo y avance de la DMAE (Sparrow et al., 2010a; Datta et al., 2017; Marc et al., 2003). Además, en varias enfermedades retinianas, se ha documentado que las células del EPR migran, invaden la retina y participan en el proceso de remodelación retiniana (Marc et al., 2003; García-Ayuso et al., 2010; García-Ayuso et al., 2011; García-Ayuso et al., 2014; Villegas-Pérez et al., 1996; Villegas-Pérez et al., 1998). Se

piensa que el EPR y los fotorreceptores forman una unidad funcional, de tal modo que la disfunción del EPR produce la degeneración de la retina.

1.1.1.2.3. FOTORRECEPTORES

Los fotorreceptores, cuya degeneración investigaremos extensivamente en esta Tesis, son neuronas sensoriales especializadas en la fototransducción: detectar los estímulos luminosos y convertirlos en impulsos eléctricos (Goldberg et al., 2016). En la retina de los vertebrados existen dos tipos de fotorreceptores: los conos y los bastones. Los bastones son más sensibles a la luz, por lo que son los responsables de la visión con luz tenue. Por su parte, los conos son menos sensibles a la luz, por lo que son los responsables de la visión diurna y de la visión cromática (Biarnés et al., 2022; Figura 5). La retina humana contiene aproximadamente 125 millones de fotorreceptores (Hubel, 1999), siendo mucho más numerosos los bastones; 120 millones de bastones frente a los 4-6 millones de conos (Bowling, 2016). En la retina humana, la mayoría de los conos se encuentran en el área macular, mientras que los bastones se distribuyen de forma mayoritaria en la periferia estando prácticamente ausentes en la región foveal (Miller et al., 2021; Hubel, 1999).

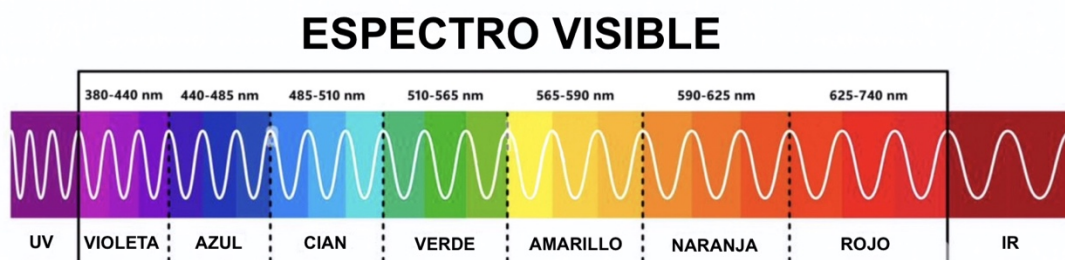


Figura 5. Espectro visible por el ojo humano. Imagen modificada de <https://www.alamy.es>

Los bastones y los conos tienen una estructura muy similar, aunque se pueden distinguir por ciertos aspectos básicos; en función de su forma, de su distribución, del tipo de fotopigmento que poseen y del tipo de contacto sináptico que ejercen. Aunque los bastones están dotados de una mayor sensibilidad a la luz, los conos presentan una mayor resolución temporal y espacial (Arendt, 2003; Figura 5). Por esta razón, solo sería necesario un fotón para poder excitar a los bastones, y por consiguiente a las CGR, mientras que los conos necesitan una gran cantidad de fotones para poder obtener una respuesta con amplitud similar (Mustafi et al., 2009).

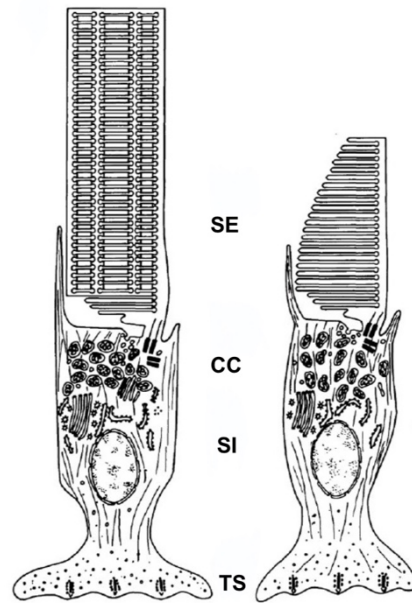


Figura 6. Estructura de los fotorreceptores: Conos y Bastones. *Dónde se pueden observar las diferentes partes que forman la estructura del fotorreceptor: El segmento externo (SE), cuerpo celular (CC), segmento interno (SI) y el terminal sináptico (TS). Imagen modificada de Goldberg et al., 2016.*

Morfológicamente, los fotorreceptores están formados por un SE, un cuerpo celular, que alberga la maquinaria necesaria para la viabilidad celular y el mantenimiento general; un segmento interno (SI) y un terminal axónico o sináptico, con el que establecen sinapsis con las neuronas de segundo orden (Goldberg et al., 2016; Nelson, 1977; Figura 6).

El SE, tanto de los conos como de los bastones, está formado por una acumulación de discos membranosos que contienen los pigmentos visuales. El SE de los bastones es más cilíndrico, alargado y delgado (Samorajski et al., 1965; Figura 6), que el de los conos que es más cónico y corto. Además, los discos de los conos están formados por repliegues de la membrana plasmática, mientras que en los bastones están independizados de la membrana plasmática (Borwein et al., 1980; Molday, 2004; Roof y Heuser, 1982). Estos pliegues membranosos permiten una mayor interacción entre la luz y los pigmentos visuales. Como hemos visto antes, los SE de los fotorreceptores forman una estructura similar a las uniones adherentes con los pies terminales de las células de Müller, formando la MLE.

El SI es el encargado de suministrar la energía y renovar las moléculas que necesita el SE, contiene el núcleo, y posee una región elipsoide cercana a la membrana apical que está repleta de mitocondrias, una región mioide que contiene sistemas de membranas de retículo endoplasmático y Golgi donde se sintetizan las proteínas, se procesan postraduccionalmente y se empaquetan en vesículas de transporte (Malhotra et al., 2021; Figura 6). El SI se une con el

SE por medio de un puente celular que contiene un cilio, que sirve como conducto de paso entre los segmentos (Malhotra et al., 2021).

El terminal sináptico de los fotorreceptores presenta diferencias morfológicas entre conos y bastones, y es más redondeado en los bastones por lo que se denomina esférula y más aplanado en los conos en los que se denomina pedículo (Malhotra et al., 2021: Figura 6). Estos terminales contienen la maquinaria necesaria para la liberación de los neurotransmisores y su recaptación. El potencial de membrana de los fotorreceptores cambia de forma gradual en respuesta a los cambios en la intensidad de la luz que incide sobre los fotorreceptores, lo que produce una modulación gradual de la liberación del neurotransmisor en la sinapsis (Malhotra et al., 2021).

Los fotorreceptores contienen gran cantidad de pigmentos visuales en las pilas de membranas de sus SE. Estos pigmentos son los que absorben los fotones de la luz dando lugar al inicio de la fototransducción (Biarnés et al., 2022). Los fotopigmentos son distintos para bastones y conos. Los bastones contienen el fotopigmento rodopsina, cuyo pico de sensibilidad a la luz está alrededor de los 510 nm (Hubel, 1999; Figura 7), los conos contienen el fotopigmento opsina, del que se distinguen tres tipos en la retina humana y de algunos mamíferos que se diferencian por la longitud de onda a la que responden máximamente. En humanos, dependiendo del tipo de opsina que contienen se distinguen tres tipos de conos con sensibilidades espectrales distintas: los conos-S (azules) sensibles a longitudes de onda corta con pico de sensibilidad a los 450 nm (Figura 7), los conos-M (verdes) sensibles a longitudes de onda media con pico de sensibilidad a los 530 nm (Figura 7), y los conos-L (rojos) sensibles a longitudes de onda larga con pico de sensibilidad a 565 nm (Hubel, 1999; Figura 7). Son estos conos los que nos permiten la visión cromática. Las curvas de sensibilidad de los cuatro fotopigmentos son relativamente amplias y existe cierto solapamiento entre ellas, por lo que una luz de una determinada longitud de onda provocará respuestas en más de un tipo de fotorreceptor (Hubel, 1999).

En roedores encontramos los bastones y dos tipos de conos, por ello su capacidad de discriminar colores es limitada en comparación con los humanos. Los dos tipos de conos son: los conos S, que expresan la opsina S (Szel et al., 1993; Bowmaker et al., 2006) y los conos L, que expresan la opsina L-M (Jacobs et al., 2001). Dado que los roedores no tienen conos sensibles a las longitudes de onda largas no pueden percibir la luz roja.

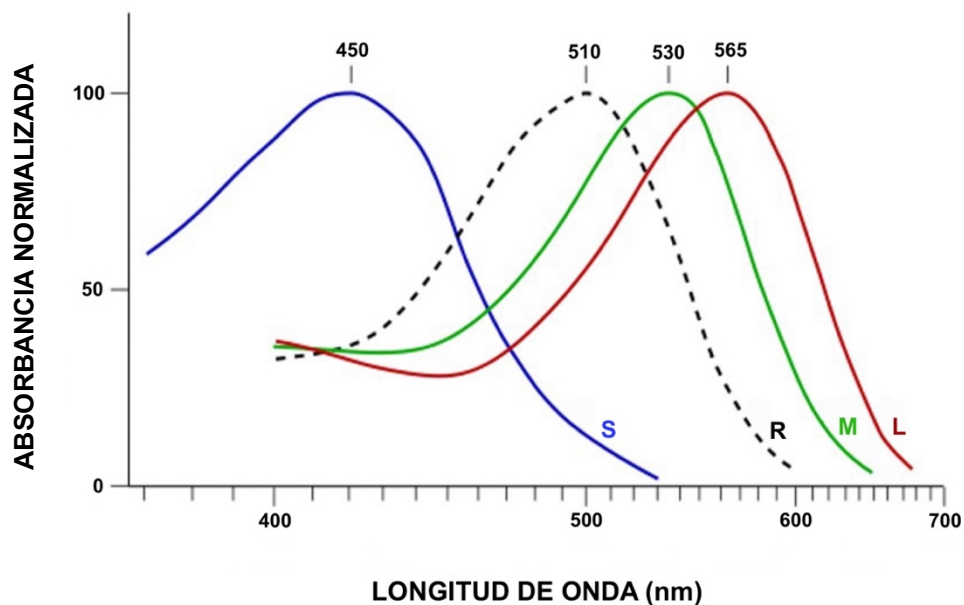


Figura 7. Imagen de los picos de sensibilidad de los diferentes fotopigmentos visuales. Absorbancia espectral de la luz de los diferentes fotopigmentos en la retina humana. En líneas continuas podemos observar los tres tipos diferentes de opsinas en los conos según su pico de sensibilidad, y en línea discontinua observamos la rodopsina en los bastones. Imagen modificada de <http://mitareadelartegriego.blogspot.com/2012/02/el-ojo-humano.html>

La función principal de los fotorreceptores es la transducción visual o fototransducción, en la que la luz desencadena una respuesta eléctrica en los fotorreceptores. La fototransducción se inicia por la estimulación por la luz del cromóforo contenido en los pigmentos visuales. Esta provoca un cambio conformacional en el pigmento visual que a su vez activa una compleja cascada de reacciones enzimáticas y bioquímicas, induciendo el cierre de los canales catiónicos de la membrana del fotorreceptor (Lledó-Riquelme et al., 2010). Esta hiperpolarización celular causa una reducción de la cantidad de neurotransmisor liberado por el terminal del fotorreceptor (Lledó-Riquelme et al., 2010). El cromóforo de los pigmentos visuales de los bastones (rodopsina) y de los conos (opsinas de los conos) es el 11-cis-retinal, derivado de la vitamina A. Cuando este cromóforo es estimulado por la luz se isomeriza a todo-trans-retinal que para volver a actuar necesita volver a convertirse en 11-cis retinal, lo que se realiza en el EPR (Khorana, 1992). La complejidad de la fisiología de los fotorreceptores los hace muy vulnerables (Wright et al., 2010) y cuando se lesionan se producen enfermedades degenerativas de la retina.

1.1.1.2.4. CÉLULAS GANGLIONARES DE LA RETINA

Las CGR son las únicas neuronas aferentes de la retina, por lo que son las que transmiten la información visual procesada en la retina al encéfalo (Aguayo et al., 1990; Badea & Nathans, 2004; Bray et al., 1987; Coombs et al., 2006; Kong et al., 2005; Rockhill et al., 2002; Sun et al., 2002a, 2002b; Völgyi et al., 2009). Sus axones forman el NO, que contiene en humanos entre 770.000-1.000.000 axones (Jonas et al., 1992; Figura 8). La inmensa mayoría de las CGR se encuentran en la CCGR. Sin embargo, existe una subpoblación de CGR minoritaria, denominadas células ganglionares desplazadas o células de Dogiel, que se encuentran en la CNI (Dogiel, 1985; Perry, 1979; Dräger y Olsen 1981; Nadal-Nicolás et al., 2014).

En la retina humana hay aproximadamente 1 millón de CGR. Hay varios tipos morfológicos y funcionales de CGR y pueden dividirse en varios subtipos en función de sus características morfológicas (~35, Bae et al., 2018), fisiológicas (~30, Baden et al., 2016) o de expresión génica (~46, Rheaume et al., 2018; Tran et al., 2019). En humanos se han descrito hasta 10 tipos diferentes de CGR según su morfología, pero las más numerosas pertenecen a 3 tipos (Kim et al., 2021): las CGR enanas, que representan el 80% de las CGR humanas; las CGR parasol, que representan aproximadamente el 10% de las CGR humanas; y las CGR biestratificadas, que representan el 5-10% de las CGR humanas.

En ratones se han descrito hasta 46 tipos diferentes de CGR por su expresión génica (Baden et al., 2016; Bae et al., 2018; Goetz et al., 2022; Rheaume et al., 2018; Tran et al., 2019).

Las CGR también pueden distinguirse por su funcionalidad en CGR formadoras de imagen y CGR no formadoras de imagen. Existe una población de CGR que responden a la luz porque contienen pigmentos visuales que se llaman CGR intrínsecamente fotosensibles (CGRif) (Nadal-Nicolás et al., 2023; Figura 8).

Los axones de las CGR salen de la retina y se mielinizan en el NO (Figura 8). Durante el trayecto, se decusan en parte en el quiasma óptico y realizan sinapsis en varias áreas cerebrales (Gioli y Towns, 1980; Rodieck, 1979; Schiller, 1986). En el roedor, las CGR proyectan principalmente a seis regiones cerebrales, que son: el núcleo supraquiasmático (NSQ), el núcleo óptico accesorio, el núcleo pretectal, en núcleo geniculado lateral ventral (NGLv), el NGLd y el colículo superior (CS) (Rodieck, 1979). La principal región retinorecipiente es en roedores el CS, donde proyectan el 90% de las CGR (Lund, 1965; 1969; Linden y Perry, 1983; Nadal-Nicolás et al., 2014, 2015b; Salinas-Navarro et al., 2009a, 2009b).

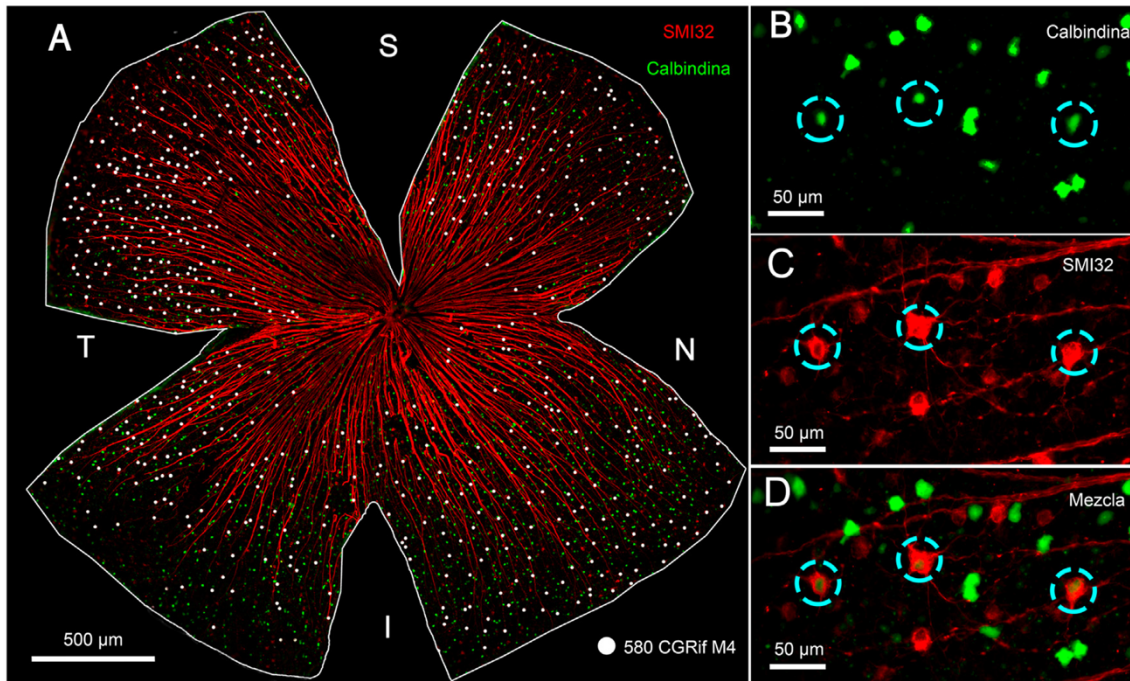


Figura 8. Imagen y distribución de las CGR en una retina de ratón. A) Fotomontaje de una retina de ratón pigmentada que muestra células ganglionares de la retina marcadas con anticuerpos que reconocen neurofilamentos de alto peso molecular no fosforilados (SMI32) y calbindina. Las células marcadas con SMI32 corresponden a las CGR, mientras que las que están marcadas doblemente están indicadas con puntos blancos y corresponden al tipo CGRif M4. B-D) Detalles con mayor aumento que muestran la marcación de las CGRif con SMI32 (B), calbindina (C) y la doble marcación de las CGRif M4 (D). Imagen modificada de Vidal-Villegas et al., 2021.

1.1.1.2.4.1. CÉLULAS GANGLIONARES INTRÍNSECAMENTE FOTOSENSIBLES

Las CGRif representan una proporción muy pequeña de las CGR, habiéndose calculado que representan en humanos alrededor del 1% y en roedores alrededor del 3% de las CGR (Mure, 2021; Dacey et al., 2005; Hannibal et al., 2002; Hattar et al., 2002), aunque pueden llegar a representar el 6% de las CGR en ratones (Berson et al., 2010; Ecker et al., 2010; Valiente-Soriano et al., 2014; Vidal-Villegas et al., 2021).

Las CGRif se caracterizan por la expresión del fotorreceptor melanopsina, codificado por el gen *Opn4*, y que responde a la luz con un pico de absorción máximo en torno a los 480nm (Provencio et al., 1998). Esto permite que estas CGRif puedan ser estimuladas por la luz directamente, sin depender de la recepción de señales por parte de los fotorreceptores. Las CGRif también se denominan células melanopsínicas (CGRm+) y tercer fotorreceptor retiniano (Berson, 2002; Hattar et al., 2002). Las CGRif intervienen en funciones fisiológicas de nuestro organismo como

la regulación de los ritmos circadianos o la regulación de una parte del reflejo fotomotor, entre otras ([Hattar et al., 2006](#); [Gooley et al., 2003](#); [Hannibal et al., 2002](#); [Lewandowski & Usarek, 2002](#); [Miller et al., 2021](#); [Vidal-Villegas et al., 2021](#); [Aranda y Schmidt, 2021](#)).

En humanos se han definido tres subtipos de CGRif (M1, M2 y M4) ([Hannibal et al., 2017](#)), mientras que en la retina de roedor se han identificado hasta seis subtipos (M1, M2, M3, M4, M5 y M6) con propiedades anatómicas y funcionales distintas ([Schmidt et al., 2011](#)). Esta clasificación viene determinada por sus conexiones dendríticas en la capa CPI, el tamaño de su soma y dónde proyectan sus axones en el cerebro ([Berson et al., 2010](#); [Ecker et al., 2010](#); [Schmidt et al., 2011](#); [Jain et al., 2012](#); [Karnas et al., 2013](#)). Las células M1 y M2 representan la mayoría (entre el 74-90%) de las CGRif, siendo las más comunes las células M1 que representan entre el 40-50%.

1.1.1.2.4.2. M1

Las CGRif M1 fueron las primeras en identificarse y se dividen en dos subtipos: las CGRif M1 gigantes (células M1G) con soma redondo u ovalado que se localiza en la CCG y las CGRif M1 desplazadas en la CNI (células M1D). Las células M1 tienen somas pequeños ($\sim 14-16 \mu\text{m}$) y dendritas poco ramificadas estratificadas constituyendo campos dendríticos de $\sim 300 \mu\text{m}$, que se solapan para cubrir toda la retina en lo que se ha denominado una "red fotorreceptora de CGR" ([Hattar et al., 2002](#); [Provencio et al., 2002](#); [Berson et al., 2010](#)).

Las CGRif se distinguen sobre todo por la estratificación de sus dendritas en la CPI. Las células M1 se estratifican en la sublámina más externa de la CPI, en el límite con la CNI, dónde hacen sinapsis las células bipolares OFF. Las CGRif M1 establecen también sinapsis con las células bipolares ON y las amacrinas dopaminérgicas ([Vidal-Villegas et al., 2020](#)). Las CGRif M1 proyectan a aproximadamente 15 regiones cerebrales implicadas en las funciones visuales no formadoras de imagen ([Hattar et al., 2002](#)). Una de sus principales dianas es en NSQ ([Vidal-Villegas et al., 2020](#)).

1.1.1.2.4.3. M2

Las CGRif M2, tienen somas discretamente más grandes que las M1 ($\sim 16-19 \mu\text{m}$) y dendritas con ramificaciones más regulares y extensas ($\sim 400 \mu\text{m}$) ([Ecker et al., 2010](#); [Estevez et al., 2012](#)). Estas CGRif M2 contienen menos melanopsina que las M1 y tienen también una sensibilidad a la luz de un orden de magnitud inferior a las M1. Las células M2 se estratifican en la zona interna de la CPI limitando con la CCGR, dónde realizan sinapsis las células bipolares ON ([Baver et al., 2008](#); [Hattar et al., 2006](#); [Schmucker et al., 2005](#); [Viney et al., 2007](#)). Las células M2 proyectan al NSQ

y la región central del núcleo pretectal olivar (NPO). Sin embargo, también proyectan a regiones formadoras de imágenes como el NGLd (Duda et al., 2020; Ecker et al., 2010).

1.1.1.2.4.4. M3

Las M3 se caracterizan por tener uno de los árboles dendríticos más grandes (~457-497 μ m) y estar biestratificadas, extenderse a las dos subcapas de la CPI. Sus somas tienen un tamaño de ~17-19 μ m y se sitúan en la CCGR (Vidal-Villegas et al., 2020). Este tipo celular es escaso (Berson et al., 2010). Las proyecciones de las M3 no se conocen con exactitud, aunque se ha sugerido que proyectan al CS (Zhao et al., 2014) y al núcleo perihabenuar (NPHb) (Fernández et al., 2018).

1.1.1.2.4.5. M4

Las CGRif M4 son las que mayor tamaño de soma tienen de todas las CGRif (~19-24 μ m) y sus árboles dendríticos son radiales y muy ramificados (~210-420 μ m). Las M4 se corresponden con a las clásicas CGR-ON sostenidas y expresan neurofilamentos de alto peso molecular no fosforilados, como osteopontina y calbindina, así como bajos niveles de melanopsina (Sonoda et al., 2020; Krieger et al., 2017). Además, son muy sensibles al contraste, las células M4 dirigen sus dendritas a la sublámina más interna de la CPI o sublámina ON (Schmidt et al., 2014; Estevez et al., 2012). Las CGRif M4 proyectan sobre todo al sector ventromedial del NGLd e intervienen en la sensibilidad al contraste en ausencia de conos y bastones. En presencia de conos y bastones, también contribuyen a la agudeza visual y al seguimiento de objetos (Brown et al., 2010; Ecker et al., 2010; Estevez et al., 2012; Schmidt et al., 2014; Schroeder et al., 2018).

1.1.1.2.4.6. M5

Las células M5 contienen somas de ~12-16 μ m situados en la CCG, con árboles dendríticos compactos y muy ramificados (~149-274 μ m). Contienen una escasa cantidad de melanopsina que cuando se detecta se observa en el soma, pero no en las dendritas (Vidal-Villegas et al., 2020). Una de sus características distintivas es su oposición cromática ultravioleta-verde. Las M5 estratifican sus dendritas en la sublámina ON de la CPI (Sonoda et al., 2020; Stabio et al., 2018; Estevez et al., 2012). Las M5 proyectan al NGLd y, por lo tanto, pueden intervenir en la transmisión de señales cromáticas a la corteza visual (Stabio et al., 2018), pero se cree que también inervan el NPO y los otros núcleos inervados por las M6.

1.1.1.2.4.7. M6

Las células M6 son células que se asientan en la capa de las CGR. Tanto el soma (~11-15 μ m) como su árbol dendrítico altamente ramificado (~190-250 μ m) son las más pequeños de todas las CGRif. Las M6 expresan niveles muy bajos de melanopsina en la región del soma, pero no en

las dendritas. Las M6 dividen sus dendritas en rama dendrítica externa e interna. La rama dendrítica externa se extiende hasta la sublamina OFF de la CPI, cerca de la CNI, dónde se estratifican las M1 y el árbol externo de las M3 (Vidal-Villegas et al., 2020), y la rama dendrítica interna, representa aproximadamente el 85% del volumen dendrítico, y se extiende hasta la sublamina ON de la CPI (Quattrochi et al., 2019). Las M6 proyectan al NPO, al núcleo pretectal posterior, al intergeniculado y el NGLv, y, por otra parte, también proyectan, al NGLd (Quattrochi et al., 2019).

1.1.1.2.5. CÉLULAS DE LA GLÍA

La función de las neuronas no sería posible sin el respaldo de las células de neuroglía, glía o células gliales. Estas células se dividen en dos grupos: las células de microglía, cuya función principal es la defensa inmunológica y la fagocitosis de desechos celulares (Thanos et al., 1992; 1993), y las células de macroglía, astrocitos y oligodendrocitos, cuya función principal es de sostén y nutrición de las neuronas (Ramírez et al., 2001).

Las células gliales intervienen en el mantenimiento y modulación de la conectividad sináptica de las neuronas, en la homeostasis, nutrición, neuroprotección y defensa del SNC (Vecino et al., 2016; Madeira et al., 2015; Chen et al., 2002), tras una lesión o insulto las células gliales se activan con el objetivo de reparar daños tisulares, normalizar niveles de nutrientes y de neurotransmisores, y fagocitar detritus celulares (Lana, 2021; Orihuela et al., 2016; Madeira et al., 2015; Ramírez et al., 2001; Thanos et al., 1992).

En la retina, objeto de esta Tesis, también se observan dos de los tres tipos de células gliales: microglía y astrocitos. Sin embargo, la retina, a diferencia del resto del SNC, contiene un tipo celular exclusivo de este tejido que se clasifica dentro de las células de macroglía: las células de Müller.

1.1.1.2.5.1. CÉLULAS DE MACROGLÍA

La función principal de estas células es el sostén y nutrición de las neuronas (Ramírez et al., 2001), siendo fundamental para mantener un entorno adecuado para un funcionamiento neuronal óptimo. Sin embargo, existe una dependencia funcional muy importante entre neuronas y células gliales (Kumar y Mallick, 2016). Se ha demostrado su participación en la transmisión sináptica (Taleisnik, 2010). Además de proporcionar soporte físico, las células de macroglía tienen una serie de funciones adicionales, como la formación de vainas de mielina, que aíslan y protegen los axones, la regulación de condiciones homeostáticas y metabólicas (Ramírez et al., 1996; Dossi et al., 2017; Geraku et al., 2017), y la capacidad de reparar y

regenerar el tejido nervioso después de una lesión debido a que siguen conservando su capacidad mitótica (Loov et al., 2015; Davis et al., 2015; Couturier et al., 2016; Kanamori et al., 2005; Tezel, 2009; Young y Elliott, 1989).

En la retina podemos encontrar dos tipos de células de macroglía: los astrocitos y las células de Müller.

1.1.1.2.5.2. ASTROCITOS

Denominados así por su morfología estrellada y sus numerosas prolongaciones citoplasmáticas que irradian desde su cuerpo celular. En la retina, los astrocitos se localizan en la CCGR y CFNR y están en contacto con los vasos sanguíneos de la retina. Se cree que durante el desarrollo embrionario los astrocitos migran desde el NO, y probablemente entren en la retina junto con los vasos sanguíneos (Stone y Dreher, 1987; Turner y Cepko, 1987; Watanabe y Raff, 1988). Aunque inicialmente se creía que los pies terminales de los astrocitos estaban directamente involucrados en la transferencia de sustancias desde los vasos sanguíneos hasta las neuronas, investigaciones más recientes han sugerido la existencia de intercambios de productos metabólicos entre las neuronas y los astrocitos (Ramírez et al., 1996; Dossi et al., 2017; Geraku et al., 2017).

Los astrocitos forman una red en la CCGR por medio de uniones entre ellos. Gracias a estas uniones adherentes y gap que forman los astrocitos participan en funciones para el mantenimiento de la homeostasis de la retina. Además, los astrocitos pueden liberar factores neurotróficos y moduladores de la plasticidad sináptica, como el factor de crecimiento nervioso (NGF del inglés, *Nerve Growth Factor*), factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF del inglés, *Brain Derived Neurotrophic Factor*) el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF del inglés, *Glial Derived Neurotrophic Factor*), el VEGF o el factor básico de crecimiento de los fibroblastos (bFGF del inglés, *Basic Fibroblast Growth Factor*) para favorecer la supervivencia de las neuronas y la diferenciación de otras células gliales (Endo, 2005; Takahashi et al., 2006; Albrecht et al., 2007; Zhang et al., 2011).

Los astrocitos desempeñan un papel crucial en el desarrollo de la vascularización retiniana, siendo los principales productores del VEGF durante la formación de vasos tanto en condiciones normales (Stone et al., 1995) como patológicas (Ozaki et al., 2000). Tras una lesión retiniana, los astrocitos se activan, proliferan, migran y sobreexpresan filamentos intermedios como la proteína ácida fibrilar glial (GFAP del inglés, *Glial Fibrillary Acidic Protein*) (Luna et al., 2010; Reichenbach y Bringmann, 2015). En procesos patológicos graves o crónicos, los astrocitos se hipertrofian, secretan componentes de la matriz extracelular, como colágeno, laminina y

fibronectina, que forman una estructura densa alrededor del sitio de la lesión. Este proceso se denomina astrogliosis reactiva y su resultado final suele ser la formación de una cicatriz glial por las células de Müller (Loov et al., 2015; Davis et al., 2015; Couturier et al., 2016; Reichenbach y Bringmann, 2015). Sin embargo, los astrocitos reactivos pueden tener efectos nocivos sobre las neuronas y contribuir a la muerte neuronal, a la ruptura de la barrera hemato-retiniana y al desarrollo de edema tisular, entre otras (Reichenbach y Bringmann, 2015).

En la retina se han descrito tres subclases de astrocitos: astrocitos bipolares cuyas prolongaciones se extienden entre los haces de las fibras nerviosas de las CGR, los astrocitos perivasculares situados alrededor de los vasos sanguíneos y los estrellados que se sitúan entre las fibras nerviosas y los vasos sanguíneos (Ramírez et al., 1994; Reichenbach & Bringmann, 2020).

1.1.1.2.5.3. CÉLULAS DE MÜLLER

Las células de Müller son el elemento glial predominante en la retina, representando el 90% de las células gliales retinianas (Vecino et al., 2016; Uga y Smelser, 1973). Tienen una forma alargada y se extienden por todo el espesor de la retina desde la MLE hasta la MLI, contribuyendo a la formación y mantenimiento de estas membranas (Vecino et al., 2016). Las células de Müller establecen un contacto íntimo con todas las neuronas de la retina (Reichenbach y Bringmann, 2013; Vecino et al., 2016).

La retina humana contiene entre 4 y 5 millones de células de Müller que proporcionan a las neuronas apoyo homeostático, metabólico y funcional (Reichenbach y Bringmann, 2010). Se cree que las células de Müller desempeñan un papel fundamental en la regulación del volumen del espacio extracelular, la homeostasis iónica e hídrica y el mantenimiento de la barrera hemato-retiniana interna. Además, liberan neurotransmisores y otras moléculas neuroactivas e influyen en la actividad sináptica mediante el reciclaje de neurotransmisores (Bringmann et al., 2013), pudiendo de esta forma modificar directa o indirectamente la actividad neuronal. Se piensa también que participan activamente en la transmisión de la señal lumínica a través de la retina (Reichenbach y Bringmann, 2013).

Las células de Müller son un importante indicador de inflamación o lesión en la retina, ya que se activan ante prácticamente cualquier estímulo patógeno. La expresión de GFAP por parte de las células de Müller es un marcador importante de su activación en respuesta a lesiones, patologías o inflamación en la retina. En condiciones normales, las células de Müller expresan niveles bajos de GFAP (Xue et al., 2006), mientras que, en respuesta a una lesión, patología o inflamación, estas células sobreexpresan esta proteína en su citoesqueleto como parte de su respuesta

adaptativa (Xue et al., 2006; Ramírez et al., 2010). Además, ante determinadas condiciones patológicas, las células de Müller son capaces de secretar diferentes factores neurotróficos como PEDF (Eichler et al., 2004) o el VEGF promoviendo la supervivencia de las neuronas (Bringmann et al., 2006). Sin embargo, aunque las células de Müller se consideran células neuroprotectoras debido a su capacidad para secretar factores neurotróficos y mantener el microambiente retiniano en condiciones óptimas para la función neuronal, se piensa que también pueden contribuir a la degeneración neuronal (Reichenbach y Bringmann, 2015) como la formación del sello o cicatriz glial, cuando experimentan cambios en su estado funcional o fisiológico como resultado de lesiones o estrés crónico en el tejido retiniano.

1.1.1.2.6. CÉLULAS DE MICROGLÍA

Células de microglía son células inmunitarias residentes en el SNC, que también participan en otras funciones del tejido nervioso (Fernandes et al., 2014; Gertig y Hanisch, 2014; Ransohoff y Brown, 2012). Estas células se originan en el saco vitelino, una estructura extraembrionaria que proporciona nutrientes al embrión, migrando después al parénquima cerebral, y alcanzando finalmente la retina a través de los vasos sanguíneos (Vecino et al., 2016). Su principal función en la retina es la vigilancia inmunitaria (Holloway et al., 2019), y responden rápidamente a estímulos nocivos mediante la fagocitosis, la secreción de mediadores inflamatorios locales y la comunicación con otras posibles células efectoras del sistema inmunitario (Hanisch y Kettenmann, 2007).

En condiciones normales la microglía se encuentra distribuida en cuatro capas de la retina: la CFN, la CCG, la CPI y la CPE (Nadal-Nicolás et al., 2017; Chen et al., 2014; Cuenca et al., 2014; García-Valenzuela et al., 2005; Noailles et al., 2014; Santiago et al., 2014; Sobrado-Calvo et al., 2007). Se ha demostrado que las células microgliales se activan en respuesta a lesiones o degeneración en la retina (Martínez-Vacas et al., 2021; Di Pierdomenico et al., 2019, 2020a, 2020b). Esta activación conlleva cambios morfológicos que difieren de una microglía en reposo (Barron et al., 1986; Schnitzer y Scherer, 1990; Thanos et al., 1994; Humphrey y Moore, 1996; Raibon et al., 2002; Panagis et al., 2005; Zhang et al., 2005a, b). La activación de las células de microglía puede variar dependiendo del tipo de lesión de la retina, lo que sugiere una plasticidad en la activación microglial que se adapta a las necesidades específicas (Kettenmann et al., 2013).

Del Río-Hortega fue quien distinguió las células microgliales activas e inactivas (Del Río-Hortega, 1939). Ahora sabemos que existen varios morfotipos de microglía y cada uno asociado con funciones específicas necesarias para mantener el ambiente neuronal (Holloway et al. 2019). Además, según la clasificación de Jonas et al. 2012 se ha descrito la existencia de cinco

morfotipos de células microgliales en función de su estado de activación (Jonas et al., 2012): ramificada, activada, himperramificacada, ameboide, y en bastón, además con estadio de activación 1, 2, 3, 4, 5, y 6, añadiendo la designación "A" de avance y "R" de retroceso (Figura 9).

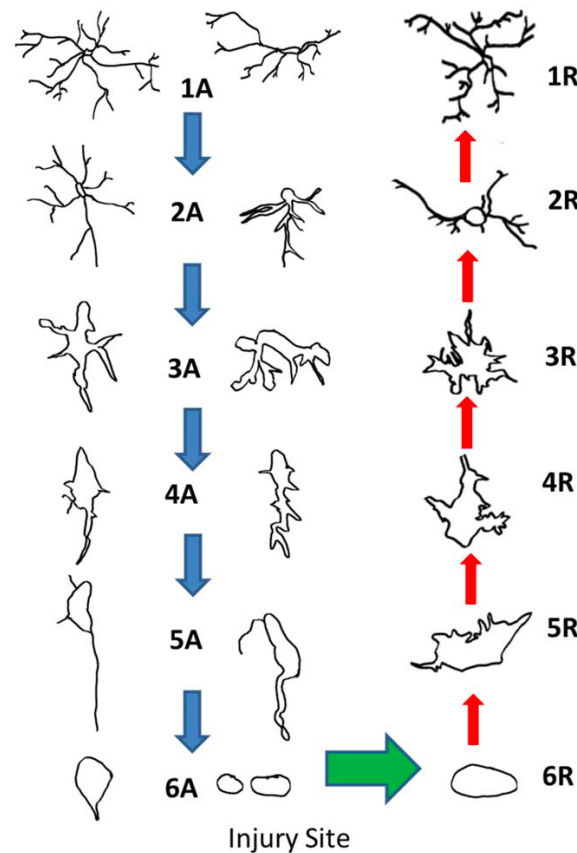


Figura 9. Dibujo esquemático representativo de los diferentes estadios de activación microglial según la clasificación de Jonas et al. 2012. Imágenes representativas de una célula de microglía en reposo que comienza en el estadio de reposo 1A, y continúa hasta un estadio activado 6A (estadio de macrófago), se transforma en estadio 6R (multinucleocélulas) y, a continuación, vuelve al estadio de reposo 1R. Las flechas azules indican el aumento de la activación y la flecha verde indica la transición de activado a retorno. Esta demarcación parece ser el punto en el que los macrófagos fagocitan otras células o restos y los digieren. Modificada de Jonas et al., 2012.

I. Microglía ramificada

Morfológicamente este tipo celular se caracteriza por presentar un soma redondeado del que emergen numerosas prolongaciones. Este fenotipo representa un estado inactivo de la microglía. La principal función de estas células es la vigilancia de lesiones de su entorno. Además, estas células ocupan un amplio territorio por sus prolongaciones y se encargan de fagocitar los detritus celulares y productos de desecho del espacio extracelular generados por la actividad celular normal en la retina. La alta expresión de P2RY12, un quimiorreceptor muy importante

para la coagulación plaquetaria es una característica distintiva de la microglía ramificada (Dubbelaar et al., 2018; Waller et al., 2019). Este fenotipo se identifica como un estadio 1A en la clasificación de Jonas et al. 2012.

II. Microglía activada

Cuando las células microgliales se activan en respuesta a una lesión o infección experimentan cambios morfológicos: retracción de sus procesos y una forma más redondeada (Jonas et al., 2012; Cai et al., 2020; Li et al., 2019). Estas células son capaces de migrar hacia zonas de lesión y fagocitar los restos celulares, las partículas extrañas y los microorganismos invasores. Esta capacidad fagocítica es fundamental para mantener la integridad del tejido cerebral y promover la reparación tisular (Chen et al., 2002; Madeira et al., 2015).

En respuesta a diferentes estímulos, la microglía activada puede tomar dos formas: M1 y M2 (Chlor et al., 2013; Ransohoff, 2016; Tang y Le., 2016).

Las células M1 realizan una respuesta proinflamatoria. Estas células se activan en respuesta a una lesión y liberan moléculas proinflamatorias: citoquinas como la interleucina-1 β (IL-1 β) y la interleucina 6 (IL6), quimiocinas, el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α del inglés, *Tumor Necrosis Factor- α*), la sintetasa de óxido nítrico inducible (iNOS) (Tang y Le, 2016; Ramírez et al., 2017) y/o ROS (Chlor et al., 2013) contribuyendo a la neuroinflamación y el daño neuronal.

Las células M2 realizan una respuesta antiinflamatoria y reparadora. Se activan en presencia de factores antiinflamatorios a través de la fosforilación de factores de transcripción como STAT1 (del inglés, *Signal Transducer and Activator of Transcription 1*) y proteínas tirosina-quinasa como JAK1 (del inglés, *Janus kinase 1*) (Akhmetzyanova et al., 2019). Estas células expresan factores neurotróficos, como el factor de crecimiento similar a la insulina-1 (IGF1) y citoquinas antiinflamatorias, como el TGF- β , las interleucinas IL-13, IL-10 e IL-4a, que facilitan la reparación tisular y la reconstrucción de la matriz extracelular (Li et al., 2021; Horie et al., 2013; Crain et al., 2013). Recientemente, se han descrito tres subtipos de células M2 que se han nombrado a, b y c.

- I. Las células M2a tienen funciones neuroprotectoras y están involucradas en la eliminación de detritus celulares. Son estimuladas por citoquinas antiinflamatorias como la interleucina 10 (IL-10) y el IGF-1. Su función principal es la promoción de la resolución de la inflamación y la reparación de tejidos.

- II. Las células M2b tienen funciones fagocíticas y están estimuladas por la interleucina 1 beta (IL-1 β) y lipopolisacáridos (LPS), que son componentes de las membranas de bacterias gramnegativas. Se sabe que realizan fagocitosis y secretan citoquinas.
- III. Las células M2c se estimulan por la interleucina 10 (IL-10) y los glucocorticoides y producen factores como el TGF- β . Se piensa que estas células están relacionadas con la supresión de la inflamación y la promoción de la inmunosupresión.

Estos subtipos no implican una activación exclusiva de la microglía; más bien, la estimulación de estos subtipos debe ser proporcional para evitar una respuesta microglial excesiva y prevenir procesos patológicos (Gao y Hong, 2008; Walker y Lue, 2015). La clasificación propuesta por Jonas et al. 2012 incluye a este tipo celular en un estadio 3A de activación.

III. Microglía hiperramificada

La microglía hiperramificada puede ocurrir en ciertas condiciones. Estas células tienen un soma más grande de aspecto lobular, del que emergen procesos citoplasmáticos más largos, gruesos y abundantes que los que presenta la microglía ramificada normal (Torres-Platas et al., 2014). Se cree que estas células pueden tener un papel en la función y la respuesta inmunológica del SNC, ya que estas células pueden estar más involucradas en procesos de fagocitosis, liberación de mediadores inflamatorios y remodelación del tejido en respuesta a la lesión o enfermedad. Según la clasificación propuesta por Jonas et al. 2012, este tipo celular estaría clasificado en un estadio 4A de activación microglial (Jonas et al., 2012).

IV. Microglía ameboide

Este morfotipo celular se caracteriza por presentar un soma celular grande y redondeado y pocos o ausencia de procesos citoplasmáticos. Este tipo de microglía se observa generalmente en procesos inflamatorios crónicos y daño tisular prolongado en el entorno neuronal (Torres-Platas et al., 2014), lo que subraya su importancia en la patogénesis de enfermedades neurodegenerativas y otros trastornos relacionados con la neuroinflamación. Según la clasificación de Jonas et al. 2012, este morfotipo celular se clasificaría como el estadio máximo de activación microglial, o estadio 6A (Jonas et al., 2012).

V. Microglía en bastón

Este morfotipo se caracteriza por un cuerpo celular redondeado y dos procesos en direcciones opuestas y se observan solo en la CFNR. Aunque su función específica no se conoce en detalle, es posible que desempeñen un papel en la modulación de la comunicación neuronal, la regulación del flujo sanguíneo cerebral o la respuesta inmune local.

1.1.1.2.7. NEUROINFLAMACIÓN

La retina se considera un tejido de privilegio inmune porque está protegida de la inflamación por varios mecanismos (Vecino et al., 2016). Se cree que las células de microglía desempeñan un papel fundamental en el reconocimiento y posterior eliminación de patógenos durante la infección, y que representan la primera línea de defensa en la retina. Aunque las células microgliales son las principales responsables de estos efectos, los astrocitos y las células de Müller también colaboran en esta actividad (Vecino et al., 2016). Cuando se altera la homeostasis del SNC, la microglía es la encargada de detectar y responder a patrones moleculares asociados a patógenos, daños o neurodegeneración (Paolicelli et al., 2022). En respuesta, estas células pueden iniciar un proceso de neuroinflamación modificando su actividad y tener efectos protectores o perjudiciales para el tejido neural (Paolicelli et al., 2022). La activación glial tras la lesión se conoce como gliosis reactiva y en ella se observa hipertrofia de las células de Müller y los astrocitos, y la activación y migración de las células de microglía (Vecino et al., 2016).

Existen tres niveles de gliosis reactiva: gliosis reactiva leve, moderada y grave. En las formas leves y moderadas de gliosis, las células pueden sufrir hipertrofia y mostrar algunos cambios en su funcionalidad, pero si se elimina la causa desencadenante, se produce la restitución *ad integrum* del tejido (Vecino et al., 2016). En las formas graves de gliosis reactiva, las células se hipertrofian, pierden su funcionalidad, forman cicatrices gliales que inhiben la regeneración axonal y afectan a la supervivencia neuronal (Vecino et al., 2016). En este estado, la pérdida de la integridad de la barrera hematorretiniana permite la filtración de componentes del suero en el espacio perivascular, lo que induce a las células de Müller a reingresar en el ciclo celular y proliferar (Bringmann et al., 2009a; Coorey et al., 2012). Esto provoca una activación desregulada y prolongada de la microglía, generando daño secundario que conduce a la muerte neuronal y a la neurodegeneración (Simon et al., 2017).

1.1.1.2.8. ESTRÉS OXIDATIVO Y ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO

El estrés oxidativo desempeña un papel fundamental en el proceso neurodegenerativo del SNC (Rekatsina et al., 2020; Castelli et al., 2019). La supervivencia neuronal requiere un equilibrio entre los procesos de oxidación y reducción celular, es decir, entre las ROS causadas por el estrés oxidativo y los eliminadores antioxidantes (Nita y Grzybowski, 2016; Jones, 2006; Wu et al., 2020).

Las ROS proceden del metabolismo del O₂ y se observan en todos los sistemas biológicos (Xu y Touyz, 2006). Funcionan como segundos mensajeros intracelulares e intercelulares que

modulan muchas moléculas de señalización, como las proteínas tirosina fosfatasas (PTP), las proteínas tirosina quinasas, los factores de transcripción, las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK) y los canales iónicos (Xu y Touyz, 2006). La retina es susceptible al estrés oxidativo debido a su elevado consumo de oxígeno y a la exposición a la luz visible, que puede potenciar el daño celular causado por las ROS (Masuda et al., 2017).

La retina está dotada de un eficaz sistema inmunitario que activa tres vías esenciales: la migración de la microglía, la estimulación del sistema del complemento y el ensamblaje de los inflamomas en el EPR (Akhtar-Schäfer et al., 2018). Para esta respuesta, las células de la retina están dotadas de una variedad de receptores y mediadores inmunitarios, que se encargan de ayudar a las células a eliminar el insulto (Detrick y Hooks, 2010). La activación de esta vía inmunitaria tiene como objetivo reparar la homeostasis tisular. Sin embargo, en situaciones de estrés continuo, la hiperactividad crónica del sistema inflamatorio puede provocar cambios y daños tisulares drásticos, como la alteración del potencial de membrana mitocondrial, la condensación nuclear, la melladura del ADN y la contracción celular, siendo eventos bien caracterizados de la muerte apoptótica de los fotorreceptores (Carmody et al., 1999), provocando patologías retinianas irreversibles (Birch y Liang, 2007; Rashid et al., 2019). Así la producción ROS en respuesta al estrés oxidativo se ha implicado como una etapa en la vía final común que conduce a la neurotoxicidad en una variedad de enfermedades oculares neurológicas agudas y crónicas, incluyendo el glaucoma (Tezel, 2006), la DMAE (Kindzelskii et al., 2004) y la RP (Doonan et al., 2003).

1.2. DEGENERACIONES HEREDITARIAS DE RETINA

Las distrofias hereditarias de retina son enfermedades hereditarias, crónicas e incapacitantes que provocan una degeneración de la retina externa pudiendo conducir a la ceguera (Inglehearn 1998; Brito-García et al., 2017). Comprenden un grupo de enfermedades clínicas y genéticamente heterogéneas, que suelen estar causadas por la mutación de un solo gen, por lo que se transmiten de forma mendeliana. Los defectos genéticos de estas enfermedades suelen afectar a moléculas del complejo fotorreceptores-EPR (Ruether y Kellner, 1998; Brito-García et al., 2017). Estas enfermedades afectan a 1:2.000 personas en todo el mundo, y son la primera causa de ceguera legal en edad laboral, y la segunda causa de ceguera legal en niños en Inglaterra y Gales (Liew et al., 2014). Actualmente, se conocen más de 300 genes que pueden ser causantes en estas degeneraciones. Como se produce la misma afectación en los dos ojos, estas enfermedades se caracterizan por ser bilaterales, simétricas y progresivas. Algunas distrofias se manifiestan en la infancia, otras en jóvenes y otras en la edad adulta. Las distrofias aisladas

cursan con manifestaciones limitadas al ojo, mientras que las distrofias sindrómicas son parte de un proceso patológico sistémico (Bowling, 2016).

1.2.1. DISTROFIAS DE FOTORRECEPTORES

Las degeneraciones hereditarias de los fotorreceptores abarcan un grupo heterogéneo de más de 80 enfermedades (Tatour y Ben-Yosef, 2020) con más de 200 genes diferentes implicados (RetNet; <https://sph.uth.edu/retnet/>) (Tatour y Ben-Yosef, 2020), y se encuentran entre las enfermedades genéticas más comunes en humanos. Estas enfermedades suelen distinguirse según su modo de herencia (Pfeiffer et al., 2020; Tatour y Ben-Yosef, 2020) y según su fenotipo clínico. Entre ellas se encuentra la RP, que es la más distrofia hereditaria de fotorreceptores más común.

1.2.1.1. RETINOSIS PIGMENTARIA

La RP es la degeneración hereditaria de los fotorreceptores más común. Su prevalencia es de aproximadamente 1 de cada 4.000 personas en todo el mundo (Wright et al., 2010; Na et al., 2017; Dias et al., 2018; Liu et al., 2021). La mayoría de las mutaciones genéticas que causan RP se producen por defectos genéticos de proteínas y/o enzimas que se expresan en los bastones, y solo una pequeña fracción de estos se expresan en otros tipos celulares de la retina como los conos y/o las células del EPR (Di Pierdomenico et al., 2017; Dias et al., 2018; Daiger et al., 2013; Swaroop y Sieving, 2013; Koch et al., 2012). La RP se caracteriza por una pérdida progresiva de fotorreceptores, y afecta primariamente a los bastones, lo que provoca una afectación de la visión nocturna (nictalopía), para posteriormente producir la muerte secundaria de los conos, produciéndose una pérdida de la visión. La degeneración de los fotorreceptores provoca la reubicación y migración de las células del EPR hacia la retina interna, causando depósitos pigmentarios en la retina ecuatorial que progresan lentamente hacia la retina central y a esto se debe su nombre (Narasimhan et al., 2021).

La RP puede heredarse de forma autosómica dominante, autosómica recesiva, ligada al cromosoma X y mitocondrial y puede ser sindrómica cuando acompaña a otras enfermedades como ocurre en el Síndrome de Usher y el Síndrome de Bardet-Biedl, o no sindrómica (Sahel et al., 2014; Megaw et al., 2015; Jordan et al., 1993; Banerjee et al., 1998; Maw et al., 1997; Vervoort et al., 2000). La RP autosómica dominante representa aproximadamente el 15-25% de los casos; la autosómica recesiva, el 5-20%; la ligada al cromosoma X, el 5-15%; mientras que los casos esporádicos representan el 40-50% (Tsang y Sharma, 2018). Se han identificado más de 150 genes, entre ellos genes implicados en la fototransducción, el seguimiento celular, las vías de reciclaje de la rodopsina y la fagocitosis del EPR (Megaw et al., 2015; E McLaughlin et al.,

1993; Hollingsworth y Gross, 2012; Michalakos et al., 2014), llegando a conocerse actualmente más de 3.000 mutaciones que causan RP (Gaudagni et al., 2015).

Aunque se conocen las mutaciones que alteran la función de los fotorreceptores en las enfermedades degenerativas, todavía no se conocen los mecanismos exactos que conducen a su muerte (Newton y Megaw, 2020). Además, algunos genes que causan RP también han sido identificados en otras distrofias hereditarias de retina como el gen *ABCA4*, *BEST1*, entre otros (Tsang y Sharma, 2018). Este solapamiento genético entre la RP y otros tipos de distrofias hereditarias de retina sugiere similitudes fundamentales de los mecanismos subyacentes y las vías genéticas comunes (Dias et al., 2018). Por ello, identificar y comprender dichos mecanismos comunes de muerte celular es vital para el desarrollo de tratamientos aplicables a todos los genes causantes de la enfermedad (Newton y Megaw, 2020).

Se ha postulado que el proceso de degeneración retiniana comprende cuatro fases diferentes: i) estrés y pérdida de fotorreceptores primarios; ii) degeneración de fotorreceptores secundarios con implicación de la microglía, células de Müller y EPR; iii) remodelación tisular, incluyendo recableado neuronal, muerte neuronal y desorganización de la retina (Marc et al., 2003); y iv) neurodegeneración progresiva (Pfeiffer et al., 2019). Desde un punto de vista terapéutico, es crucial determinar si las CGR han sido afectadas (Villegas-Pérez et al., 1998; Marco-Gomariz et al., 2006; García-Ayuso et al., 2010; García-Ayuso et al., 2011; García-Ayuso et al., 2018), ya que la presencia de CGR funcionales es fundamental para la transmisión de la información visual a los centros cerebrales superiores.

Durante muchos años se pensó que las enfermedades que causaban la pérdida de fotorreceptores afectaban sólo a la retina externa, dejando la retina interna relativamente intacta. No ha sido hasta hace muy poco que se ha demostrado que la pérdida de fotorreceptores inicia una cadena de acontecimientos, conocida como remodelación retiniana, que provoca alteraciones de la retina interna (Jones et al., 2016; Villegas-Pérez et al., 1996; Villegas-Pérez et al., 1998; Marco-Gomariz et al., 2006; García-Ayuso et al., 2010; García-Ayuso et al., 2011; García-Ayuso et al., 2018; Jones et al., 2005; Jones et al., 2012), que, puede llegar a causar la pérdida de CGR. De hecho, a día de hoy, está ampliamente aceptado que la RP puede culminar con una remodelación completa de la retina en la que se producen cambios en la expresión génica de células de la retina, neuritogénesis y muerte neuronal, migración de células retinianas y desplazamiento de vasos, entre otros acontecimientos (Kalloniatis et al., 2016; Strettoi, 2015; Marc et al., 2008; Marc et al., 2007; Marc et al., 2003; Wang et al., 2003; Villegas-Pérez et al., 1998).

1.2.2. MODELOS ANIMALES DE DEGENERACIÓN DE FOTORRECEPTORES

En esta tesis nos centraremos en dos modelos animales que sufren defectos genéticos que producen la degeneración hereditaria de los fotorreceptores y que también han sido descritos en humanos: la rata del Royal College of Surgeons (RCS) y la rata P23H.

1.2.2.1. RATAS ROYAL COLLEGE OF SURGEONS

Las ratas RCS fueron descritas por primera vez por Bourne et al, en 1938 (Bourne et al., 1938) y se han adoptado ampliamente como modelo animal para estudiar la distrofia hereditaria de retina. Las RCS se originaron de forma espontánea y sufren una alteración de la capacidad fagocítica del EPR (Audo et al., 2018; Edwards y Szamier, 1977; Li y Turner, 1988; Valiente-Soriano et al., 2020b) debido a una mutación autosómica recesiva en el gen *MERTK* (D'Cruz, 2000). Esta mutación provoca una delección de 409 pares de bases en el gen que codifica MerTK (D'Cruz et al., 2000; Nandrot et al., 2012). Esta mutación también se presenta en un tipo de RP humana que se hereda de forma autosómica recesiva y es de inicio temprano (Gal et al., 2000; Jespersgaard et al., 2020; Sakti et al., 2021). Hasta la fecha se han descrito más de 70 mutaciones diferentes en el gen *MERTK*. La degeneración retiniana en las ratas RCS tiene una progresión muy rápida, provocando una degeneración progresiva de los fotorreceptores (Di Pierdomenico et al., 2020a, 2019, 2018, 2017; Dowling y Sidman, 1962; García-Ayuso et al., 2019b), un aumento de la gliosis retiniana (Di Pierdomenico et al., 2017), una alteración del transporte axonal retrógrado en las CGR y pérdida de CGR (García-Ayuso et al., 2019b, 2018a, 2014; Villegas-Pérez et al., 1998). Además, se ha demostrado que la degeneración retiniana de las ratas RCS se desarrolla de forma no homogénea viéndose significativamente más afectada la zona ventral que la zona dorsal (Villegas-Pérez et al., 1998; Greferath et al., 2021).

Debido a la anomalía en la fagocitosis de los SE de los fotorreceptores, se produce una acumulación gradual de los SE a partir del día 18 postnatal (P18) (Dowling y Sidman, 1962; Fletcher y Kalloniatis, 1996, 1997). Se cree que la acumulación de residuos en el espacio subretiniano es nociva e influye en la posterior pérdida de fotorreceptores. De hecho, aproximadamente a los 2 meses de edad, la función retiniana y el número de fotorreceptores se reducen sustancialmente (Adachi et al., 2016; Ryals et al., 2017), de manera que a P21 la respuesta electroretinográfica tanto fotópica como escotópica comienza a disminuir (Bush et al., 1995), reduciéndose a la mitad a P50 y desapareciendo casi por completo a P100 (Pinilla et al., 2005a).

Un trabajo previo ha documentado que el primer signo de degeneración de la retina en la rata RCS podría ser la disminución de los niveles de taurina (Okada et al., 2000). Dado que la taurina

es suministrada a la retina por las células del EPR y por las células de Müller (Castelli et al., 2021; Rascher et al., 2004), se piensa que la deficiencia de taurina puede ser una de las causas del deterioro del EPR y que la administración de suplementos de taurina puede servir para detenerlas.

1.2.2.2. RATAS P23H

La rata P23H es un modelo experimental de degeneración retiniana que presenta una pérdida gradual y rápida de fotorreceptores (Berson et al., 1991; Lewin et al., 1998). Estas ratas sufren una degeneración hereditaria de los fotorreceptores secundaria a una mutación en la molécula de rodopsina que consiste en una sustitución de un aminoácido, una prolina por una histidina, en el codón 23 (Dryja et al., 1990; Steinberg et al., 1996; LaVail et al., 2000; Aleman et al., 2001). Esta mutación también se presenta en un tipo de RP humana que se hereda de forma autosómica dominante, siendo una de las mutaciones más comunes en humanos (Berson et al., 1991; Lewin et al., 1998). Las mutaciones en el gen *RHO* que codifica la rodopsina (RHO; MIM# 180380) fueron los primeros defectos moleculares identificados en la RP (Dryja et al., 1990a; Dryja et al., 1990b; Inglehearn et al., 1991; Sung et al., 1991a). Hasta la fecha se han descrito más de 150 mutaciones diferentes en el gen *RHO*. Estudios previos han sugerido que la proteína mutante P23H está mal plegada, retenida en el retículo endoplásmico y es incapaz de unirse al 11-cis-retinal (Sung et al., 1991b; Sung et al., 1993; Kaushal y Khorana, 1994). Esto provoca una situación continua de estrés en el retículo endoplasmático (Dryja et al., 1990; Olsson et al., 1992; Hartong et al., 2006; Gorbatyuk et al., 2010), conllevando al desarrollo de una distrofia de fotorreceptores autosómica dominante (Chrysostomou et al., 2009).

La degeneración retiniana en las ratas P23H tiene una progresión muy rápida, sufriendo una pérdida progresiva de los fotorreceptores (Berson et al., 1991; Lewin et al., 1998), en primer lugar, de los bastones y posteriormente de los conos (García-Ayuso et al., 2013). Además, esta pérdida es más rápida en los animales homocigóticos que en los heterocigóticos.

Para comprender mejor la enfermedad y sus mecanismos patogénicos, se generaron ratas albinas transgénicas P23H mediante ingeniería genética incorporando un transgén mutado P23H de ratón C57BL/6J en una rata Sprague-Dawley Wild Type (Orhan et al., 2015). El transgén utilizado se clonó a partir de ratones C57BL/6J, y se hizo a partir de la totalidad del fragmento genómico de la rodopsina de ratón, siendo utilizado un fragmento mutado para generar los modelos de rata (Orhan et al., 2015).

Se han producido tres líneas de ratas P23H que presentan diferentes niveles de expresión de la proteína mutada, y por ello tienen diferentes tasas de degeneración de los fotorreceptores

(Pennesi et al., 2008). Las ratas P23H de Línea 1 (P23H-1) presentan una degeneración rápida, las ratas P23H de Línea 2 (P23H-2) presentan una degeneración muy lenta, y las ratas P23H de Línea 3 (P23H-3) presentan una degeneración más lenta que las de línea 1 (Orhan et al., 2015). Las tres líneas sufren una degeneración progresiva de los bastones asociada inicialmente a una función normal de los conos (Steinberg et al., 1996).

En esta tesis utilizamos las ratas P23H-1 homocigóticas, que presentan una degeneración muy rápida y severa, provocando afectaciones a edades muy tempranas. De hecho, aproximadamente entre P21 y P28, se produce una pérdida del 45-50% de los bastones y reducción del 40% de la longitud de los mismos (Machida et al., 2000), además de una alteración en la respuesta electrorretinográfica escotópica (Machida et al., 2000; Pinilla et al., 2005b; Chrysostomou et al., 2009b). Sin embargo, la respuesta electrorretinográfica fotópica comienza a disminuir a P60 (Machida et al., 2000), de tal forma que, a P270 sólo quedan fotorreceptores esporádicos en la retina (Cuenca et al., 2004). Además de la degeneración de los fotorreceptores, se producen cambios sinápticos y morfológicos en la CPE, CNI y CPI (Jones et al., 2003; Cuenca et al., 2004), migración de las células de la CNI hacia a la CCG (Jones et al., 2003), y nuevas conexiones sinápticas entre los conos y las células bipolares de cono y de bastón (Peng et al., 2003).

En nuestro laboratorio, se ha demostrado que en las ratas P23H-1 las CGR también se ven afectadas. De hecho, a P30 la población de CGR es inferior a la de un animal sano (García-Ayuso et al., 2010). Sin embargo, es a P180 cuando las CGR muestran sus primeros síntomas de degeneración, no produciéndose una pérdida significativa de CGR hasta el año de vida. Además, se ha demostrado que la muerte de las CGR se debe a un estrangulamiento de los axones de las CGR producido por el desplazamiento de los vasos retinianos internos (García-Ayuso et al., 2010; García-Ayuso et al., 2013; García-Ayuso et al., 2015; Di Pierdomenico et al., 2018; Di Pierdomenico et al., 2019).

1.3. DEGENERACIÓN FOTOTÓXICA DE LA RETINA

La luz visible es una radiación electromagnética que el ojo humano es capaz de percibir y tiene una longitud de onda (λ) comprendida entre los 380 y los 750 nm. Los fotorreceptores, que son las células de la retina que realizan la fototransducción, están especialmente adaptados para funcionar en una amplia gama de condiciones de luz ambiental. Sin embargo, una exposición prolongada e intensa a la luz visible puede provocar cambios en los fotorreceptores y en las células del EPR, que, en última instancia, desencadenan en la muerte celular (Organisciak y Vaughan, 2010). El daño retiniano inducido por la luz se conoce como fototoxicidad y fue

descrita por primera vez por Noell en 1966 en animales de laboratorio (Noell et al., 1966). Noell, originalmente propuso 3 hipótesis sobre la causa de la fototoxicidad: (Noell et al., 1966) un producto tóxico que surge de la vitamina A debido a una exposición continua e intensa, una anomalía metabólica debida a la fotoexposición o por reacciones de oxidación inducidas por la luz (Organisciak y Vaughan, 2010). Aunque alguna de estas hipótesis siguen siendo vigentes, en la actualidad se ha demostrado que la fototoxicidad es un proceso multifactorial que implica tanto factores genéticos como ambientales (Wenzel et al., 2005).

Las estrechas relaciones metabólicas, morfológicas y anatómicas entre la neurorretina y el EPR vinculan el daño en un tejido a la degeneración del otro (Organisciak y Vaughan, 2010). Actualmente, sabemos que la luz causa en la retina apoptosis de los fotorreceptores y de las células del EPR (García-Ayuso et al., 2011; Wenzel et al., 2005; Hafezi et al., 1997).

El estudio de la apoptosis de los fotorreceptores inducida por fototoxicidad puede ofrecer ciertas ventajas sobre los modelos animales genéticamente modificados. La exposición a la luz desencadena la apoptosis de los fotorreceptores, haciendo que la mayoría de ellos atraviesen las diferentes etapas de la vía apoptótica casi simultáneamente, lo cual facilita su detección. En cambio, en los modelos genéticos de degeneración retiniana, los fotorreceptores se encuentran en distintas fases de apoptosis, dificultando así encontrar células afectadas simultáneamente, lo que complica su detección. Se ha documentado que el daño fototóxico afecta de forma primaria a los bastones, generando cambios patológicos, y secundariamente a los conos (Organisciak y Vaughan, 2010). Además, se ha documentado que los bastones secretan un factor de supervivencia esencial para los conos (Leveillard et al., 2004), por lo que la pérdida de éstos causa la muerte de los conos (Stone et al., 1999).

Se considera que el daño fototóxico esta mediado por la rodopsina, ya que el espectro de acción del daño lumínico retiniano es idéntico al espectro de absorción de la rodopsina (Williams y Howell, 1983). Un factor unificador en el daño de los fotorreceptores y el EPR parecen ser las ROS inducidas por la luz, generadas por el blanqueamiento de la rodopsina o a partir de compuestos del EPR, como el A2E (bis-retinaldehído-fosfatidiletanolamina) que es el componente mayoritario de la lipofuscina, altamente tóxica para el EPR (McBee et al., 2001; Sparrow et al., 2003). Las células del EPR con altas concentraciones de A2E presentan grandes problemas para digerir los fosfolípidos (Finnemann et al., 2002), originando el depósito de material no digerido en el interior de la célula del EPR, lo que podría contribuir a su degeneración.

1.3.1. MODELOS ANIMALES DE FOTOTOXICIDAD

Los modelos animales de fototoxicidad se utilizan a menudo para estudiar los factores que conducen a la muerte de los fotorreceptores, estudiar la degeneración retiniana y probar el efecto de terapias neuroprotectoras (García-Ayuso et al., 2010).

Se han desarrollado modelos de fototoxicidad retiniana tanto “in vitro” como “in vivo” (Lin et al., 2019; Krigel et al., 2016; Jaadane et al., 2015; Shang et al., 2014; Behar-Cohen et al., 2011; Wielgus et al., 2010; Roberts et al., 2002; Grimm et al., 2000). En estos modelos hay tres variables clave, que son: la calidad de la luz, la intensidad y la duración de la exposición.

La mayoría de los autores han utilizado fuentes de luz blanca (Jaadane et al., 2015; Shang et al., 2014; Behar-Cohen et al., 2011), debido a su semejanza con la luz solar, y al creciente uso de los diodos emisores de luz (LEDs) (Jaadane et al., 2015; Behar-Cohen et al., 2011). Sin embargo, desde hace muchos años, ha surgido un importante estudio de la luz azul (450 ± 50 nm), ya que tiene mayor poder fototóxico (Xia et al., 2019; Vicente-Tejedor et al., 2018; Moon et al., 2017; Kim et al., 2016; O'Hagan et al., 2016; Ortín-Martínez et al., 2014b; Tanito et al., 2006).

Los modelos de fototoxicidad abarcan desde modelos focales y de corto intervalo de exposición (Valiente-Soriano et al., 2019; Ortín-Martínez et al., 2014b), a otros modelos de exposición difusa con intervalos amplios de exposición (Vicente-Tejedor et al., 2018; Jaadane et al., 2015; García-Ayuso et al., 2011).

En nuestro grupo de investigación se han desarrollado varios modelos de degeneración de fotorreceptores por fototoxicidad:

El primero, es un modelo de degeneración de fotorreceptores por fototoxicidad difusa tanto en ratas pigmentadas (Marco-Gomariz et al., 2006) como en ratas albinas (García-Ayuso et al., 2011). El daño retiniano en este modelo se llevó a cabo tras la exposición de los roedores a una luz blanca fría fluorescente durante 48-72 horas a una intensidad de 3000 luxes. Se ha documentado que las ratas pigmentadas son más resistentes a la fototoxicidad (Noell et al., 1966; Wasowicz et al., 2002) debido a la presencia de melanina (Rapp y William, 1980; LaVail y Gorrin, 1987; Wasowicz et al., 2002).

El segundo modelo utiliza un LED de luz azul para producir fototoxicidad focal en ratas (Ortín-Martínez, et al., 2014b) y ratones albinos (Valiente-Soriano et al., 2019). Para ello se coloca el LED a 1 milímetro de la córnea y perpendicular al ápex corneal y se aplica la luz durante 10 segundos a una intensidad de 200 luxes.

Se ha demostrado que la degeneración difusa de fotorreceptores por fototoxicidad provoca en la retina fenómenos de remodelación retiniana similares a los que se observan en las degeneraciones hereditarias de retina. Así, se produce una pérdida de fotorreceptores, en primera instancia de bastones y posteriormente de los conos, y una pérdida de CGR a largo plazo por la remodelación de la retina (García-Ayuso et al., 2011; Marco-Gomariz et al., 2006). En concreto, tras la degeneración de fotorreceptores, las células del EPR migran por toda la retina, llegando a retina interna y arrastrando los capilares internos hacia la retina externa, provocando una tracción y compresión de los axones de las CGR, lo que desemboca en la muerte de éstas (Marco-Gomariz et al., 2006; Wang et al., 2003; Villegas-Pérez et al., 1998).

1.4. TERAPIA EN ENFERMEDADES RETINIANAS

1.4.1. INYECCIONES INTRAVÍTREAS

Las inyecciones intravítreas (IIV) son, en la actualidad, una estrategia terapéutica importante de una amplia gama de enfermedades de la retina y el vítreo como la DMAE, la retinopatía diabética (RD), la neovascularización coroidea miópica, la uveítis posterior, la endoftalmitis, el edema macular, los tumores intraoculares y muchas más patologías (Peyman et al., 2009; Fischer et al., 2011; Williams et al., 2015; Novack y Robin, 2015). Las IIV permiten que los oftalmólogos administren medicamentos directamente en la cavidad vítrea, lo que garantiza una concentración terapéutica máxima y minimiza o evita por completo los efectos secundarios sistémicos asociados (Bakri et al., 2007; Peyman et al., 2009; Fischer et al., 2011; William et al., 2015).

Las IIV comenzaron a utilizarse a principios de la década de 1970 para introducir sustancias en el espacio vítreo con el fin de colocar de nuevo la retina tras un desprendimiento de retina (Ohm, 2011) y para tratar las hemorragias vítreas (Takamura et al., 2018). Posteriormente, se inició el uso de IIV de antibióticos para el tratamiento de endoftalmitis y esteroides para el tratamiento de uveítis (Peyman et al., 1974; Peyman y Herbst, 1974). El uso de las inyecciones se restringió durante un largo periodo de tiempo, debido a que su seguridad fue puesta en duda por los riesgos asociados (Jager et al., 2004; Falavarjani y Nguyen, 2013; Moja et al., 2014; Morrison y Khutoryankiy, 2014; VanderBeek et al., 2015). Actualmente, las ventajas de las IIV han superado a los riesgos, por lo que su uso se ha generalizado (Peyman et al., 2009). En esta Tesis hemos estudiado el efecto de las IIV de los factores anti-VEGF y de las células mononucleares derivadas de médula ósea.

1.4.1.1. TERAPIA ANTI-VEGF

Los VEGF son factores proangiogénicos que desempeñan un papel fundamental en la homeostasis vascular y retiniana (Tolentino, 2011). Al actuar sobre sus receptores, los VEGF aumentan la supervivencia de las células endoteliales de los vasos, la permeabilidad vascular y promueven la proliferación y migración de las células endoteliales (Bernatchez et al., 1999). Sin embargo, estos factores también pueden actuar como mediadores en diversas enfermedades que promueven la angiogénesis, la ruptura de la barrera hematorretiniana (Pozarowska y Pozarowski, 2016), el crecimiento tumoral (Liu et al., 2023), y la activación de la inflamación (Barleon et al., 1996).

En los seres humanos se han identificado varias proteínas que actúan como ligandos de los receptores del VEGF, entre ellas el VEGF-A, el VEGF-B, el VEGF-C, el VEGF-D y el factor de crecimiento placentario (Pozarowska y Pozarowski, 2016, Uemura et al., 2021). El VEGF-A es considerado el principal factor de la angiogénesis fisiológica y patológica (Shibuya et al., 2011). Se cree que el aumento de producción intraocular de VEGF que promueve la formación de nuevos vasos sanguíneos y la permeabilidad vascular excesiva. Y es importante en la patogénesis de varias enfermedades oculares, como la DMAE neovascular, la uveítis posterior, la endoftalmitis, la neovascularización coroidea miópica, el edema macular y la RD, que son las principales causas de ceguera irreversible en todo el mundo (Uemura et al., 2021).

Para contrarrestar los efectos nocivos del VEGF en diversas enfermedades se han sintetizado factores que bloquean el VEGF uniéndose a los receptores de la proteína VEGF o atrapándolos en la superficie de las células endoteliales, también conocidos como factores anti-VEGF. El primero en desarrollarse fue el bevacizumab (Avastin, Roche, Basilea, Suiza), un anticuerpo monoclonal que se une directamente al VEGF, y fue aprobado por primera vez para el tratamiento del cáncer (Ferrara, 2004). Posteriormente, el pegaptanib (Macugen, Bausch & Lomb, Laval, Canadá) se convirtió en el primer fármaco anti-VEGF diseñado específicamente para uso oftálmico y aprobado para el tratamiento de la DMAE (Gragoudas et al., 2004). Este agente anti-VEGF se une selectivamente a la isoforma extracelular VEGF-A165 y bloquea su actividad, la isoforma más potente y abundante de VEGFA (Pozarowska y Pozarowski, 2016). Sin embargo, posteriormente fue sustituido por fármacos anti-VEGF más eficaces, como ranibizumab y aflibercept (Sivaprasad, 2008), que inhiben todas las isoformas de VEGF-A. El ranibizumab (Lucentis, Novartis, Camberley, Reino Unido) es un anticuerpo monoclonal humanizado derivado del bevacizumab que fue aprobado inicialmente en 2006 (Brown et al., 2009; Rosenfeld et al., 2006) que se une y neutraliza todas las isoformas de VEGF-A, lo que lo

hace más potente y efectivo en la inhibición de la angiogénesis y la reducción del edema macular. El aflibercept es un VEGF-trap recombinante (Eylea, Bayer, SA, Barcelona, España) que tiene una gran afinidad para unirse a todas las formas de VEGF-A, y además a las isoformas del factor de crecimiento placentario P1GF-1 (del inglés, *Placental Growth Factor-1*) y P1GF2 (del inglés, *Placental Growth Factor-2*). Todos estos anti-VEGF modernos están humanizados para mitigar la respuesta antiglobulina que podría surgir del uso entre especies (Miller et al., 1983; Schroff et al., 1985), mejorando así sus efectos beneficiosos contra las enfermedades humanas (Schroff et al., 1985; Presta et al., 1997).

La administración intravítrea de estos factores permite su administración directa a la retina evitando parcialmente su absorción sistémica, minimizando así los posibles efectos secundarios sistémicos (Bakri et al., 2007). Aunque se ha documentado que el tratamiento intravítreo con anti-VEGF tiene pocos efectos adversos (Pozarowska y Pozarowski, 2016; Thulliez et al., 2018), tanto sistémicos como locales, no está exento de riesgos (Spini et al., 2022; Zehden et al., 2022; Fugara et al., 2022; Iyer y Albini 2021; Maloney et al., 2021). Además, dada la duración limitada de los efectos de los fármacos anti-VEGF, el tratamiento ocular suele requerir la administración intravítrea repetida (ElSheikh et al., 2022; Chin-Yee et al., 2016; Agarwal et al., 2015; Garcia-Layana et al., 2015), lo que aumenta la probabilidad de efectos adversos (Fugara et al., 2022; Di Pierdomenico et al., 2016; Filek et al., 2019). Sin embargo, se sabe poco sobre los posibles efectos secundarios locales de la IIV de diferentes fármacos anti-VEGF inyectados a diferentes dosis (Bhisitkul et al., 2015). Aunque la IIV de factores anti-VEGF humanizados en humanos es generalmente segura y no tóxica a dosis terapéuticas estándar (Uludag et al., 2022; SooHoo et al., 2013), los estudios preclínicos han indicado que la IIV de fármacos anti-VEGF humanizados en sujetos no humanos puede producir efectos adversos en la retina de una manera relacionada con la dosis (Filek et al., 2019).

Los fármacos anti-VEGF humanizados pueden contribuir a cambios metabólicos y moleculares en las células de Müller humanas in vitro (Caceres-Del-Carpio et al., 2020; Matsuda et al., 2017), la sobreexpresión del GFAP en conejos (Ramon et al., 2018), ojos de ratas (Di Pierdomenico et al., 2016) y cultivos primarios de retina de rata (Gaddini et al., 2016). Esta reacción puede variar dependiendo del fármaco específico utilizado (Di Pierdomenico et al., 2016; da Silva et al., 2023). Sin embargo, sigue sin estar claro si estos posibles efectos secundarios afectan a la supervivencia de las neuronas de la retina (Cheng et al., 2009; Iriyama et al., 2007; Seitz y Tamm, 2014; Thaler et al., 2010). Este punto plantea la cuestión de si las diferencias en la reactividad de las células gliales de la retina son atribuibles al uso de anti-VEGF humanizado en otras especies animales o a la concentración utilizada.

1.4.1.2. TERAPIA CELULAR

El trasplante de células madre (Grant et al., 2002), parece ser, en la actualidad, uno de los tratamientos más prometedores para las degeneraciones de la retina. Las células madre tienen la capacidad única de diferenciarse en diversos tipos celulares, lo que las convierte en candidatas ideales para regenerar tejidos o células específicas (Ortín-Martínez et al., 2021; Ortín-Martínez et al., 2017). Cuando se trasplantan a la retina o cerca de ella, las células madre podrían dividirse y diferenciarse en células retinianas normales y ofrecer así la posibilidad de frenar la pérdida celular (Dias et al., 2018; Gagliardi et al., 2019; Singh et al., 2020; Holan et al., 2021; Jones et al., 2017; Shen, 2020) y, al mismo tiempo, reemplazar las células perdidas.

Las células madre pueden obtenerse de diversos tejidos, como la médula ósea, la sangre, el cordón umbilical, y el tejido adiposo (Jones et al., 2017; Shen, 2020; Singh et al., 2020), aunque la mayor cantidad de células madre adultas se encuentra en la médula ósea (Shen, 2020).

En esta tesis utilizamos células mononucleares derivadas de médula ósea (CMN-MO). Éstas constituyen un grupo heterogéneo de células que incluye: células madre hematopoyéticas (CMH), células progenitoras endoteliales, linfocitos, monocitos y células madre mesenquimales (CMS). La fracción completa CMN-MO se suele obtener de la cresta ilíaca mediante aspiración por punción con aguja y se aísla mediante un proceso de separación en gradiente de densidad (Di Pierdomenico et al., 2020a). Esta suspensión de células contiene CMS y CMH (Singh et al., 2020), en diferentes proporciones. Las CMS generalmente oscilan entre el 0,01-0,001%, mientras que, las CMH (identificadas comúnmente por la expresión del marcador CD34+), oscilan entre el 0,5-5% del total de CMN-MO.

Las CMH son células multipotentes que se localizan cerca de la superficie ósea del endostio y alrededor de los vasos sanguíneos, tienen capacidad de autorrenovación y son responsables de la producción de todas las células sanguíneas maduras (es decir, eritrocitos, plaquetas, granulocitos, linfocitos y monocitos) (García-Ayuso et al., 2022). Por otro lado, las CMS son células multipotentes que tienen la capacidad de diferenciarse en células del linaje mesodérmico, como osteoblastos, adipocitos y condrocitos, pero también en diferentes tipos celulares del linaje ectodérmico, como células epiteliales y neuronas (García-Ayuso et al., 2022). La fuente más comúnmente empleada para obtener CMS es también la médula ósea, pero también son abundantes en otros tejidos adultos como el tejido adiposo, los tejidos dentales y la sangre del cordón umbilical, así como en tejidos perinatales y fetales (es decir, membrana amniótica, líquido amniótico y gelatina de Wharton's dentro del estroma del cordón umbilical) (Lim, 2017).

Las CMN-MO se han utilizado en muchos estudios clínicos para el tratamiento de diversas enfermedades (Sharma et al., 2020b, f; Thanh et al., 2019; Costa-Ferro et al., 2020; Nguyen et al., 2023; Nguyen Thanh et al., 2021; Taguchi et al., 2015b), lo que se conoce como terapia celular o medicina regenerativa. En particular, estas células han atraído interés como terapia para las degeneraciones retinianas, porque en estudios previos con modelos animales de degeneración retiniana se ha documentado que estas células aumentan la supervivencia y regeneración neuronal (Li et al., 2009; Zaverucha-do-Valle et al., 2014; Park et al., 2017; Yazdanyar et al., 2020), incluyendo las degeneraciones de fotorreceptores (Otani et al., 2004; Lu et al., 2010; Tzameret et al., 2014; Moisseiev et al., 2016; Park et al., 2017; Di Pierdomenico et al., 2020b). Debido a que hasta ahora la supervivencia de las células ha sido limitada, se ha propuesto que estos efectos beneficiosos se deben a un efecto trófico paracrino logrado a través de la liberación sostenida de factores neurotróficos, antiangiogénicos e inmunomoduladores (Park et al., 2017; Puertas-Neyra et al., 2020; Garcia-Ayuso et al., 2022). Además, se ha documentado que estos trasplantes aumentan la supervivencia de fotorreceptores (Otani et al., 2004; Lu et al., 2010; Tzameret et al., 2014; Moisseiev et al., 2016; Park et al., 2017; Di Pierdomenico et al., 2020b) y disminuyen la inflamación retiniana (Di Pierdomenico et al., 2020b), y que este efecto inmunosupresor también puede ser beneficioso, ya que la inflamación juega un papel muy importante en enfermedades degenerativas de la retina como la RP y la DMAE (Tzameret et al., 2014; Tzameret et al., 2015; Moisseiev et al., 2016; Park et al., 2017; Di Pierdomenico et al., 2020b). Por lo tanto, su efecto inmunosupresor puede ser clave para el tratamiento de estas enfermedades (Di Pierdomenico et al., 2020b; Garcia-Ayuso et al., 2022).

1.5. TAURINA

La taurina (ácido 2-amino-etano sulfónico; Figura 10), es un aminoácido sulfónico libre no esencial que está presente de forma ubicua en la mayoría de las células y tejidos de los mamíferos, incluidos el corazón, la placenta, los leucocitos, los músculos y la retina (Jakaria et al., 2019). Además, es uno de los aminoácidos más abundantes en el SNC (Brosnan y Brosnan 2006). La taurina es considerada un neurotransmisor putativo (Kilb, 2017), cuya estructura molecular es similar a la del ácido gamma-aminobutírico (GABA del inglés, *Gamma-Aminobutyric Acid*; Figura 11), el principal neurotransmisor inhibitorio del SNC (Froger et al., 2014).

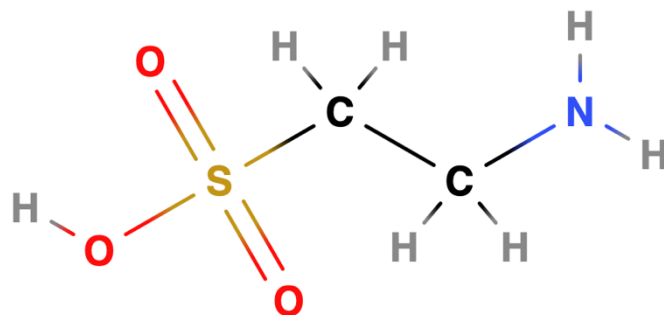


Figura 10. Estructura química de la molécula de Taurina. Imagen creada con <https://molview.org>

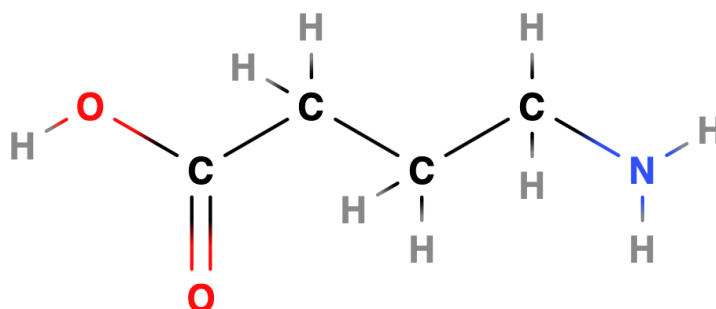


Figura 11. Estructura química de la molécula de GABA. Imagen creada con <https://molview.org>

Aunque la taurina puede sintetizarse de manera endógena en la mayoría de los mamíferos (Huxtable 1989), la principal fuente de suministro de taurina es a través de la ingesta de nutrientes, en particular de marisco, pescado y carne (Jakaria et al., 2019; Froger et al., 2014).

El suministro exógeno de taurina depende de la función del transportador principal de taurina (Tau-T) dependiente de iones Na^+/Cl^- (Liu et al. 1992), que transporta específicamente a la taurina desde los compartimentos extracelulares a los intracelulares.

En el SNC, la taurina muestra varias acciones protectoras, como la de antioxidante, la restauración de la expresión de proteínas antiapoptóticas, la atenuación del estrés del retículo endoplásmico o la neuromodulación sináptica, entre otras (Martínez-Vacas et al., 2022, 2021; Castelli et al., 2021; Ansar et al., 2020; Schaffer y Kim, 2018; Trouillet et al., 2018). Cuando la taurina es captada en el compartimento intracelular, ejerce poderosas propiedades antioxidantes, reduciendo el estrés oxidativo a través de la neutralización de la producción de ROS (Qu et al., 2023; Castelli et al., 2021; Froger et al. 2014), incluidas la xantina oxidasa (XO) y la NADPH oxidasa (Surai et al., 2021). La taurina también tiene otros efectos beneficiosos como propiedades reguladoras de la homeostasis y promotoras del plegamiento de proteínas que

pueden mitigar los efectos del envejecimiento en diversos tejidos, como el corazón, el músculo esquelético, el hígado y la piel, según varios estudios preclínicos y clínicos (Bhat et al., 2020).

La taurina juega un papel esencial en la regulación de la homeostasis del calcio (Ca^{+2}), un proceso fisiológico crucial para las células. Tanto en condiciones normales como patológicas, esta regulación puede aliviar el estrés del retículo endoplasmático (Jakaria et al., 2019). En el SNC, la taurina protege a las neuronas de la apoptosis inducida por el glutamato mediante la modulación de la homeostasis del Ca^{+2} (Leon et al., 2009). Además, regula el estrés del retículo endoplasmático, asegura el funcionamiento normal de las mitocondrias (Jong et al., 2021) y disminuye la expresión de la proteína proapoptótica asociada a Bcl-2 (Bax) y de la caspasa-3 en modelos de roedores (Jeong et al., 2009). Por lo tanto, la taurina puede reducir el riesgo de apoptosis y muerte celular prematura en enfermedades neuronales (Ma et al., 2021).

La función intracelular a nivel mitocondrial de la taurina puede respaldar el papel neuroprotector de la taurina, sin embargo, a su vez, se ve implicada su capacidad para modular tanto las neurotransmisiones glicinérgicas, como las GABAérgicas, es decir neurotransmisiones inhibitorias del SNC. De hecho, la taurina se describe como un estimulador de los canales de los receptores GABA y de glicina, así como un agonista de los receptores metabotrópicos de GABAB (Albrecht y Schousboe 2005). De este modo, la taurina aumenta los niveles del neurotransmisor GABA, el glutamato y la expresión de ácido glutámico descarboxilasa (GAD del inglés, *Glutamate decarboxylase*; enzima involucrada en la síntesis de GABA catalizando la descarboxilación del glutamato en GABA y dióxido de carbono) en ratones envejecidos (El Idrissi et al., 2013).

La taurina también presenta propiedades antiinflamatorias en humanos. Reduce los niveles de diferentes citoquinas (interleucina (IL)-1 α , IL-1 β , IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-13 e IL-17) y el TNF- α durante enfermedades o lesiones (Su et al., 2014; Jakaria et al., 2019; Ma et al., 2021). Los efectos antiinflamatorios de la taurina también pueden estar relacionados con la actividad glial (Schaffer et al., 2016; Che et al., 2018), al disminuir la respuesta inflamatoria de la microglía en el SNC (Che et al., 2018) y aumentar el metabolismo energético celular macroglial mediante la activación de enzimas sensibles al complejo I y al hidrato de nicotinamida adenina dinucleótido (NADH), reduciendo la relación NADH/NAD⁺ durante la glucólisis macroglial (Schaffer et al., 2016).

En algunas enfermedades neurológicas se ha documentado una relación entre inflamación y disfunción mitocondrial. Los mediadores inflamatorios producidos por la activación de las células microgliales y los monocitos provocan la permeabilización de la membrana mitocondrial y dañan el metabolismo mitocondrial, lo que puede conducir a la muerte celular (van Horssen

et al., 2019). Las mitocondrias dañadas pueden liberar su contenido al medio extracelular, amplificando la respuesta inflamatoria. Se ha sugerido que la taurina podría prevenir la amplificación del proceso inflamatorio reduciendo el estrés oxidativo en la mitocondria, regulando la homeostasis intracelular del Ca^{+2} e inhibiendo la apoptosis mediada por mitocondrias, todas ellas propiedades de la taurina (Jong et al., 2021).

Se ha documentado que los niveles de taurina en la retina disminuyen con la edad (Militante y Lombardini, 2004) y que la deficiencia de taurina en personas mayores está asociada a desordenes en el SNC, como las enfermedades de Alzheimer y Parkinson (Zhang et al. 2016; Kim et al. 2014). Sin embargo, se desconoce el mecanismo por el que la taurina es capaz de aumentar las capacidades procognitivas en humanos (Neog et al., 2019).

1.5.1. LA TAURINA EN LA RETINA

La taurina se encuentra en altas concentraciones en la retina de los mamíferos, siendo incluso el aminoácido más abundante (Castelli et al., 2021; Froger et al., 2014), tanto durante el desarrollo como en la edad adulta (Schaffer y Kim, 2018). La retina externa, donde se encuentran los fotorreceptores y más concretamente, la CNE, contiene más del 60% de la taurina presente en la retina (Froger et al., 2014; Huxtable, 1989). Las células del EPR y las células de Müller son responsables de la captación de la taurina retiniana y de su suministro a los fotorreceptores y otras neuronas de la retina (Castelli et al., 2021; Rascher et al., 2004; García-Ayuso et al., 2018; Hadj-Saïd et al., 2016; Froger et al., 2014; Neuringer y Sturman, 1987; Ament et al., 1986). Se ha documentado que la taurina es esencial para el transporte axonal en las CGR (García-Ayuso et al., 2019; Lake y Malik, 1987), para la supervivencia de los fotorreceptores (García-Ayuso et al., 2019a, 2018b; Hadj-Saïd et al., 2016), de las CGR (García-Ayuso et al., 2019a, 2018b; Hadj-Saïd et al., 2016), para el desarrollo normal de la retina (Ansar et al., 2020; Preising et al., 2019), el mantenimiento de las conexiones sinápticas o para la protección antioxidante (Martínez-Vacas et al., 2021, 2022). También se sabe que la taurina participa en la regulación de la fagocitosis del EPR (Ogino et al., 1983; Martínez-Vacas et al., 2021, 2022). La disminución de los niveles de taurina en la retina también se ha relacionado con la degeneración de los fotorreceptores en modelos animales de degeneración retiniana (Okada et al., 2000).

1.5.2. DEPLECIÓN DE TAURINA

La importancia de la taurina para el funcionamiento normal de la retina se ha estudiado utilizando modelos animales de depleción inducida de taurina (Di Pierdomenico et al., 2023).

La depleción de taurina puede ser inducida por varios métodos. Uno de los más utilizados es la depleción farmacológica de taurina mediante sustancias que bloquean la actividad del transportador de la taurina Tau-T, como la β -alanina y el sulfanato de guanidoetano (GES). Ambos fármacos son análogos estructurales de la taurina (Froger et al., 2014), y la β -alanina, es uno de los suplementos dietéticos más utilizados por los deportistas de competición para mejorar el rendimiento deportivo en la actualidad (Dolan et al., 2019; Saunders et al., 2017; Blancquaert et al., 2017; Maughan et al., 2011). Sin embargo, altas dosis de β -alanina pueden inducir depleción de la taurina y tener efectos perjudiciales (Dolan et al., 2019), especialmente en la retina (Martínez-Vacas et al., 2021). En 1983, se sugirió que la depleción farmacológica de taurina inducida tanto por β -alanina como por GES provocaba degeneración retiniana (Pasantes-Morales et al., 1983).

La β -alanina es un aminoácido no esencial, cuya estructura es intermedia entre los alfaaminoácidos y el GABA (Figura 12). Se sintetiza de forma endógena en el hígado (Matthew and Traut, 1987), aunque se puede adquirir por la dieta a través de alimentos como la ternera, el pollo o el pavo. Es cierto que, administrada en pequeñas dosis puede tener efectos beneficiosos, sin embargo, a partir de dosis del 3% tiene efectos deletéreos (Di Pierdomenico et al., 2023; Martínez-Vacas et al., 2021; Dolan et al., 2019; García-Ayuso et al., 2018b, 2019b), provocando una disminución de los niveles plasmáticos de taurina y, como consecuencia, desencadenando una degeneración retiniana (Martínez-Vacas et al., 2021; García-Ayuso et al., 2019b, 2018b). Nuestro grupo ha demostrado que después de 2 meses de tratamiento con β -alanina (3%) en el agua de ratas sanas, se observa una disminución del 22% en la población de conos S, del 17% en la población de conos L/M, del 15% en la población general de CGR y del 41% en las CGR intrínsecamente fotosensibles (Di Pierdomenico et al., 2023; García-Ayuso et al., 2018b). Esto sugiere que, las CGR intrínsecamente fotosensibles y los conos S son las poblaciones más vulnerables a la deficiencia de taurina inducida por β -alanina (García-Ayuso et al., 2018b). Además, se ha documentado que la depleción de taurina inducida por suplementación de β -alanina aumenta el daño retiniano inducido por la luz (García-Ayuso et al., 2018a). Se ha evidenciado que la depleción de taurina provoca también una pérdida de axones del NO (Lake et al., 1988), y una alteración de del transporte axonal en la CFN (García-Ayuso et al., 2019a). Recientemente, se ha evidenciado también que la deficiencia de taurina aumenta la gliosis de la retina, el estrés oxidativo y deteriora la capacidad fagocítica del EPR (Martínez-Vacas et al., 2021). Existe poca información sobre los efectos diferenciales de la depleción de taurina en bastones y conos. Sin embargo, algunos estudios han sugerido que la depleción de taurina

causa una pérdida más temprana de conos y una pérdida mínima de bastones (Hadj-Saïd et al., 2016; García-Ayuso et al., 2018b).

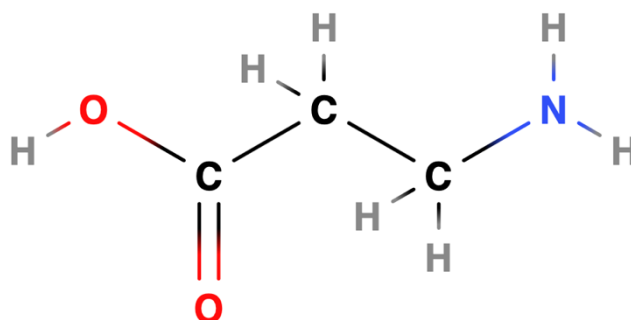


Figura 12. Estructura química de la molécula de β -alanina. Imagen creada con <https://molview.org>

Otro de los métodos que se ha asociado con la depleción de taurina es la administración de vigabatrina (Jammoul et al., 2009), un fármaco antiepiléptico análogo del GABA con una fórmula química similar a la taurina (Froger et al., 2014). La vigabatrina actúa inhibiendo la captación de taurina (Rasmunssen et al., 2015) provocando defectos irreversibles en la electrorretinografía y del campo visual (Kjellström et al., 2014; Pellock et al., 2010; Mackay et al., 2004).

Por otro lado, la depleción permanente de taurina se estudió gracias a un modelo de ratón knockout con una mutación en el gen que codifica el transportador de taurina (ratones Tau-T/-), (Heller-Stilb et al., 2002; Froger et al., 2014), lo que conduce a una hipotaurinemia plasmática, niveles de taurina retiniana disminuidos y una degeneración retiniana temprana y progresiva (Heller-Stilb et al., 2002; Froger et al., 2014).

Estudios recientes han demostrado que los individuos portadores de una mutación homocigota en el gen humano *SLC6A6*, que codifica la proteína que contiene el transportador de taurina dependiente de sodio y cloruro, desactiva el transmisor Tau-Transmembrana, mostrando una disminución de los niveles plasmáticos de taurina y una pérdida temprana y progresiva de fotorreceptores, así como tritanopía, lo que sugiere un daño preferente en los conos S (Preisling et al., 2019). También se ha observado una disminución de los niveles plasmáticos de taurina en algunos tipos de degeneración retiniana humana, como la neuropatía óptica hereditaria de Leber (Bocca et al., 2021) y la coriorretinopatía central serosa (Xu et al., 2021). Por lo tanto, los niveles plasmáticos de taurina se han propuesto como biomarcadores para estas enfermedades, y la detección de los niveles de taurina en sangre en neonatos se ha propuesto para identificar

a los niños con deficiencia de taurina debido a una mutación en el gen *SLC6A6* y, por tanto, en riesgo de degeneración de la retina, entre otras enfermedades (Antonarakis, 2020).

1.5.3. EL PAPEL DE LA TAURINA COMO POSIBLE AGENTE NEUROPROTECTOR

Tanto la inflamación (Di Pierdomenico et al., 2020a; Martínez-Vacas et al., 2021) como el estrés oxidativo (Nita y Grzybowski, 2016; Pinilla et al., 2022) desempeñan un papel muy importante en la degeneración de la retina, puesto que muchas enfermedades degenerativas de la retina tienen fuertes componentes inflamatorios, principalmente debido a respuestas inmunológicas (Xu y Rao, 2022). Además, las enfermedades degenerativas de los fotorreceptores implican la activación, migración y proliferación de las células microgliales (Di Pierdomenico et al., 2017, 2020), así como la hipertrofia de las células de Müller y el aumento de la expresión de GFAP en las células de Müller (Di Pierdomenico et al., 2020a). Estos eventos pueden contribuir al aumento de la neurodegeneración (García-Ayuso et al., 2018a, 2019b; Di Pierdomenico et al., 2019, 2020a; Pfeiffer et al., 2020). Así pues, la suplementación con taurina se ha propuesto como terapia para la degeneración retiniana debido a sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antiapoptóticas (Martínez-Vacas et al., 2022; Castelli et al., 2021; Froger et al., 2014).

Un estudio documentó que la suplementación con taurina mejoraba la supervivencia de las CGR en dos modelos de glaucoma en roedores y en un modelo de degeneración hereditaria de los fotorreceptores en ratas (Froger et al., 2012). La taurina también protege a las CGR de la excitotoxicidad mediada por N-metil-D-aspartato (NMDA), tanto *in vivo* (Jafri et al., 2019; Lambuk et al., 2019) como *ex vivo* (Froger et al., 2012). Se ha postulado que el papel protector de la taurina en enfermedades que afectan a las CGR está presumiblemente mediado por la estimulación de los receptores GABAB (Hadj-Saïd et al., 2017). Además, se ha documentado una relación entre niveles plasmáticos bajos de taurina y el desarrollo de complicaciones retinianas en pacientes diabéticos (Inam-u-llah et al., 2018; Güngel et al., 2021). De hecho, el aumento de los niveles plasmáticos de taurina puede prevenir la pérdida de visión en pacientes diabéticos (Güngel et al., 2021). Los estudios realizados con modelos de roedores han demostrado que la taurina ejerce diversos efectos beneficiosos en la retina de ratas diabéticas, como la actividad antigliótica (Zeng et al., 2009; Fan et al., 2020), la mejora de las conexiones sinápticas, la reducción de la apoptosis de las células retinianas (Fan et al., 2020) y la contrarrestación de las alteraciones bioquímicas de la retina (Di Leo et al., 2003).

Recientemente, en uno de los artículos incluidos en esta tesis en un modelo animal de degeneración hereditaria de fotorreceptores, la rata RCS (García-Ayuso et al., 2014), demostró

un aumento de la supervivencia de los fotorreceptores funcionales, una disminución de la activación de las células gliales reduciendo la inflamación, una reducción de estrés oxidativo y una mejora de la función fagocítica del EPR ([Martínez-Vacas et al., 2022](#)).

Por otro lado, la taurina ha mostrado efectos beneficiosos en varios modelos animales de degeneración de la retina, como los modelos animales del síndrome de Usher, dónde provocó un aumento de la respuesta electrorretinográfica, un aumento de la supervivencia de los fotorreceptores y redujo la respuesta inflamatoria ([Trouillet et al., 2018](#)) en modelos animales de RD ([Fan et al., 2020](#); [Zeng et al., 2009](#)), modelos animales de degeneración experimental de los fotorreceptores ([Lambuk et al., 2019](#); [Tao et al., 2019](#)) y modelos de daño de la retina y el NO ([Froger et al., 2012](#); [Nor Arfuzir et al., 2018](#)).

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVOS GENERALES

- I. Estudiar en la retina de ratas albinas los efectos adversos de las inyecciones intravítreas de dos de los anti-VEGF humanizados más utilizados en la actualidad ranibizumab y aflibercept, a dos concentraciones diferentes, y de un anti-VEGF específico para rata.
- II. Caracterizar en ratas albinas con degeneración fototóxica de la retina el papel de la glía en la formación de anillos de degeneración de fotorreceptores.
- III. Estudiar el efecto del déficit de taurina en la retina de la rata albina.
- IV. Estudiar el efecto de la suplementación de la dieta con taurina en la supervivencia de fotorreceptores, la reacción glial y el estado del EPR en un modelo de degeneración hereditaria de fotorreceptores en ratas RCS
- V. Estudiar el efecto de la terapia celular singénica con CMN-MO en la supervivencia de fotorreceptores y la reacción glial en dos modelos de generación hereditaria de fotorreceptores: en RCS y P23H.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para llevar a cabo cada uno de los objetivos generales se realizaron los siguientes objetivos específicos:

- I. **Estudiar en la retina de ratas albinas los efectos adversos de las inyecciones intravítreas de dos de los anti-VEGF humanizados más utilizados en la actualidad ranibizumab y aflibercept, a dos concentraciones diferentes, y de un anti-VEGF específico para rata.**
 - Analizar la reactividad glial en la retina de la rata albina tras las inyecciones intravítreas de los anti-VEGF humanizados con dos concentraciones diferentes: la utilizada habitualmente en clínica y la calculada para el ojo de la rata, y del anti-VEGF de rata y del vehículo.
 - Analizar la supervivencia de las poblaciones de CGR y de CGRif tras las inyecciones intravítreas de los anti-VEGF humanizados a dos concentraciones diferentes: la utilizada habitualmente en clínica y la calculada para el ojo de la rata y del anti-VEGF de rata y del vehículo.
- II. **Caracterizar en ratas albinas con degeneración fototóxica de la retina el papel de la glía en la formación de anillos de degeneración de fotorreceptores.**

- Analizar el patrón de muerte de los dos tipos de fotorreceptores: conos y bastones.
- Analizar la reactividad glial secundaria a la muerte de fotorreceptores.
- Analizar la relación entre la degeneración de los fotorreceptores y la reacción micro y macroglial.

II. Estudiar el efecto del déficit de taurina en la retina de la rata albina.

- Evaluar la supervivencia de los fotorreceptores tras la depleción de taurina y la fototoxicidad.
- Determinar la activación de las células gliales en respuesta a la depleción de taurina y la fototoxicidad.
- Analizar el estrés oxidativo inducido por la depleción de taurina y la fototoxicidad.
- Analizar las conexiones sinápticas en la retina afectada por la depleción de taurina y la fototoxicidad.
- Examinar los cambios en el EPR tras la depleción de taurina y la fototoxicidad.

III. Estudiar el efecto de la suplementación de la dieta con taurina en la supervivencia de fotorreceptores, la reacción glial y el estado del EPR en un modelo de degeneración hereditaria de fotorreceptores en ratas RCS.

- Estudiar el efecto de la suplementación de la dieta con taurina en la supervivencia y funcionalidad de los fotorreceptores.
- Estudiar el efecto de la suplementación de la dieta con taurina en la activación micro y macroglial.
- Estudiar el efecto de la suplementación de la dieta con taurina en la función y morfología del EPR.
- Estudiar el efecto de la suplementación de la dieta con taurina en el estrés oxidativo en la retina.
- Estudiar el efecto de la suplementación de la dieta con taurina en las conexiones sinápticas.
- Estudiar su posible efecto neuroprotector.

IV. Estudiar el efecto de la terapia celular singénica con CMN-MO en la supervivencia de fotorreceptores y la reacción glial en dos modelos de generación hereditaria de fotorreceptores: en RCS y P23H.

- Analizar la localización y supervivencia de las CMN-MO a en los ojos trasplantados.

- Estudiar la supervivencia y funcionalidad de los fotorreceptores.
- Estudiar los efectos en las conexiones sinápticas en la CPE.
- Analizar los efectos de la activación glial.
- Comparar la seguridad y eficacia de dos métodos de administración intraocular de la terapia celular: subretiniana o intravítrea.

CONCLUSIONES

3. CONCLUSIONES

Con respecto a los efectos adversos en ratas albinas adultas de las inyecciones intravítreas de diferentes sustancias, entre estas, tampón fosfato salino, dos de los anti-VEGF humanizados más utilizados en la actualidad ranibizumab y aflibercept, a dos concentraciones diferentes, y un anti-VEGF específico para rata, concluimos que:

- I) Todas las sustancias producen una activación de las células microgliales y una hipertrofia de las células macrogliales de la retina.
- II) Esta reactividad glial es mayor cuando se realizan IIV de los dos agentes anti-VEGF humanizados ranibizumab y aflibercept a concentraciones más altas.
- III) Las IIV de los dos agentes anti-VEGF humanizados ranibizumab y aflibercept a concentraciones más altas produce muerte de la población general de las CGR, pero no de las CGRif. La muerte de las CGR puede ser secundaria a la reacción inflamatoria causada a la que podrían ser más resistentes las CGRif.

Con respecto a la caracterización en ratas albinas con degeneración fototóxica de los fotorreceptores de la retina el papel de las células gliales en la formación de anillos de degeneración de fotorreceptores, concluimos que:

- I) La exposición a la luz causa la degeneración de los conos en zonas circulares (anillos) de la retina, que aparecen secundariamente a la degeneración de los bastones y que pueden estar influidos también por la respuesta de las células gliales de la retina.
- II) Las células microgliales activadas se sitúan en el centro de los anillos realizando la fagocitosis de conos muertos, y las células de Müller cubren la totalidad de los anillos formando un sello glial e influyendo en los fenómenos de remodelación retiniana.

Con respecto al efecto de la depleción de taurina inducida por la administración de β -alanina en la retina de la rata adulta albina, concluimos que:

- I) Produce una disminución de la capacidad fagocítica del EPR, un adelgazamiento de la retina y una disminución de las conexiones sinápticas en las dos capas plexiformes, un acortamiento de los SE y muerte de los fotorreceptores y de las CGR y una activación de las células gliales de la retina (macro y microglía)
- II) La degeneración de las CGR podría ser debida a estrés oxidativo, ya que es independiente de la pérdida de fotorreceptores.

- III) La depleción de taurina aumenta la susceptibilidad de la retina al daño fototóxico produciendo una mayor activación de células gliales, aumento del estrés oxidativo, y aumento de la muerte de fotorreceptores y de CGR.

Con respecto al efecto de la suplementación de la dieta con taurina en la supervivencia de fotorreceptores, la reacción glial y el estado del EPR en un modelo de degeneración hereditaria de fotorreceptores (ratas RCS pigmentadas), concluimos que:

- I) El tratamiento sistémico con taurina incrementa la supervivencia de fotorreceptores, mejora la función retiniana, disminuye la activación de las células microgliales y macrogliales, mejora la capacidad fagocítica del EPR, reduce el estrés oxidativo en las capas nucleares interna y externa y disminuye la degeneración de las conexiones sinápticas en las dos capas plexiformes de la retina.

Con respecto al efecto de la terapia celular singénica con CMN-MO en la supervivencia de fotorreceptores y la reacción glial en dos modelos de generación hereditaria de fotorreceptores (ratas pigmentadas RCS y ratas albinas P23H-1), concluimos que:

- I) Las células trasplantadas sobreviven tanto en el espacio vítreo como en el subretiniano durante 15 días en los dos modelos animales, pero no se integran en la retina.
- II) El trasplante de CMN-MO, tanto en el vítreo como en el espacio subretiniano, mejora la supervivencia de fotorreceptores, la morfología de los segmentos externos de los fotorreceptores, protege de la degeneración las conexiones sinápticas de los fotorreceptores y disminuye la reactividad de las células gliales, pero no mejora la función retiniana en los dos modelos animales.
- III) El efecto rescate de fotorreceptores es mayor cuando se realiza un trasplante intravítreo que cuando se realiza subretiniano, y esta diferencia se manifiesta sobre todo en las ratas RCS.

CONCLUSIONS

4. CONCLUSIONS

Regarding the adverse effects in adult albino rats of intravitreal injections of different substances, including this phosphate-buffered saline, two of the most widely used humanized anti-VEGF agents, ranibizumab and aflibercept, at two different concentrations, and a rat-specific anti-VEGF, we conclude that:

- I) All substances cause activation of microglial cells and hypertrophy of macroglial cells in the retina.
- II) This glial reactivity is greater when intravitreal injections of the two humanized anti-VEGF agents, ranibizumab and aflibercept, are administered at higher concentrations.
- III) Intravitreal injections of the two humanized anti-VEGF agents, ranibizumab and aflibercept, at higher concentrations cause death of the general population of RGCs, but not ipRGCs. RGC death may be secondary to the inflammatory reaction caused to which ipRGCs might be more resistant.

Regarding the characterization of albino rats with phototoxic degeneration of retinal photoreceptors and the role of glial cells in the formation of photoreceptor degeneration rings, we conclude that:

- I) Light exposure causes degeneration of cones in circular zones (rings) of the retina, which occur secondary to rod degeneration and may also be influenced by the response of retinal glial cells.
- II) Activated microglial cells are located in the center of the rings, performing phagocytosis of dead cones, while Müller cells cover the entire rings, forming a glial seal and influencing retinal remodeling processes.

Regarding the effect of taurine depletion induced by β -alanine administration in the retina of adult albino rats, we conclude that:

- I) It causes a decrease in the phagocytic capacity of the RPE, retinal thinning, and a reduction in synaptic connections in the two plexiform layers, shortening of the OS, and death of photoreceptors and RGCs, along with activation of retinal glial cells (macro- and microglia).
- II) RGC degeneration may be due to oxidative stress and is independent of photoreceptor loss.

- III) Taurine depletion increases the retina's susceptibility to phototoxic damage, leading to greater activation of glial cells, increased oxidative stress, and increased death of photoreceptors and RGCs.

Regarding the effect of taurine dietary supplementation on photoreceptor survival, glial reaction, and the state of the RPE in a model of hereditary photoreceptor degeneration (pigmented RCS rats), we conclude that:

- I) Systemic treatment with taurine increases photoreceptor survival, improves retinal function, decreases activation of microglial and macroglial cells, improves the phagocytic capacity of the RPE, reduces oxidative stress in the inner and outer nuclear layers, and decreases the degeneration of synaptic connections in the two plexiform layers of the retina.

Regarding the effect of syngeneic cell therapy with BM-MSCs on the survival of photoreceptors and the glial response in two models of hereditary photoreceptor degeneration (RCS pigmented rats and P23H-1 albino rats), we conclude that:

- I) The transplanted cells survive in both the vitreous and subretinal space for 15 days in the two animal models but do not integrate into the retina.
- II) The transplantation of BM-MSCs, both in the vitreous and in the subretinal space, improves photoreceptor survival, the morphology of photoreceptor outer segments, protects photoreceptor synaptic connections from degeneration, and reduces glial cell reactivity, but does not improve retinal function in the two animal models.
- III) The photoreceptor rescue effect is greater when intravitreal transplantation is performed compared to subretinal transplantation, and this difference is especially evident in RCS rats.

BIBLIOGRAFÍA

5. BIBLIOGRAFÍA

A

Adachi K, Takahashi S, Yamauchi K, Mounai N, Tanabu R, Nakazawa M. Optical Coherence Tomography of Retinal Degeneration in Royal College of Surgeons Rats and Its Correlation with Morphology and Electroretinography. *PLoS One*. 2016 Sep 19;11(9):e0162835. doi: 10.1371/journal.pone.0162835.

Agarwal A, Rhoades WR, Hanout M, Soliman MK, Sarwar S, Sadiq MA, Sepah YJ, Do DV, Nguyen QD. Management of neovascular age-related macular degeneration: current state-of-the-art care for optimizing visual outcomes and therapies in development. *Clin Ophthalmol*. 2015 Jun 5;9:1001-15. doi: 10.2147/OPTH.S74959.

Aguayo AJ, Bray GM, Rasminsky M, Zwimpfer T, Carter D, Vidal-Sanz M. Synaptic connections made by axons regenerating in the central nervous system of adult mammals. *J Exp Biol*. 1990 Oct;153:199-224. doi: 10.1242/jeb.153.1.199.

Akhmetzyanova E, Kletenkov K, Mukhamedshina Y, Rizvanov A. Different Approaches to Modulation of Microglia Phenotypes After Spinal Cord Injury. *Front Syst Neurosci*. 2019 Aug 27;13:37. doi: 10.3389/fnsys.2019.00037.

Akhtar-Schäfer I, Wang L, Krohne TU, Xu H, Langmann T. Modulation of three key innate immune pathways for the most common retinal degenerative diseases. *EMBO Mol Med*. 2018 Oct;10(10):e8259. doi: 10.15252/emmm.201708259.

Albrecht J, Schousboe A. Taurine interaction with neurotransmitter receptors in the CNS: an update. *Neurochem Res*. 2005 Dec;30(12):1615-21. doi: 10.1007/s11064-005-8986-6.

Albrecht PJ, Enterline JC, Cromer J, Levison SW. CNTF-activated astrocytes release a soluble trophic activity for oligodendrocyte progenitors. *Neurochem Res*. 2007 Feb;32(2):263-71. doi: 10.1007/s11064-006-9151-6.

Aleman TS, LaVail MM, Montemayor R, Ying G, Maguire MM, Laties AM, Jacobson SG, Cideciyan AV. Augmented rod bipolar cell function in partial receptor loss: an ERG study in P23H rhodopsin transgenic and aging normal rats. *Vision Res*. 2001 Sep;41(21):2779-97. doi: 10.1016/s0042-6989(01)00157-2.

Ament ME, Geggel HS, Heckenlively JR, Martin DA, Kopple J. Taurine supplementation in infants receiving long-term total parenteral nutrition. *J Am Coll Nutr.* 1986;5(2):127-35. doi: 10.1080/07315724.1986.10720120.

Andrews T, Sullivan KE. Infections in patients with inherited defects in phagocytic function. *Clin Microbiol Rev.* 2003 Oct;16(4):597-621. doi: 10.1128/CMR.16.4.597-621.2003.

Ansar M, Ranza E, Shetty M, Paracha SA, Azam M, Kern I, Iwaszkiewicz J, Farooq O, Pournaras CJ, Malcles A, Kecik M, Rivolta C, Muzaffar W, Qurban A, Ali L, Aggoun Y, Santoni FA, Makrythanasis P, Ahmed J, Qamar R, Sarwar MT, Henry LK, Antonarakis SE. Taurine treatment of retinal degeneration and cardiomyopathy in a consanguineous family with SLC6A6 taurine transporter deficiency. *Hum Mol Genet.* 2020 Mar 13;29(4):618-623. doi: 10.1093/hmg/ddz303.

Antonarakis SE. Taurine newborn screening to prevent one form of retinal degeneration and cardiomyopathy. *Eur J Hum Genet.* 2020 Nov;28(11):1479-1480. doi: 10.1038/s41431-020-0671-3.

Aranda ML, Schmidt TM. Diversity of intrinsically photosensitive retinal ganglion cells: circuits and functions. *Cell Mol Life Sci.* 2021 Feb;78(3):889-907. doi: 10.1007/s00018-020-03641-5.

Arendt D. Evolution of eyes and photoreceptor cell types. *Int J Dev Biol.* 2003;47(7-8):563-71.

Audo I, Mohand-Said S, Boulanger-Scemama E, Zanlonghi X, Condroyer C, Démontant V, Boyard F, Antonio A, Méjécase C, El Shamieh S, Sahel JA, Zeitze C. MERTK mutation update in inherited retinal diseases. *Hum Mutat.* 2018 Jul;39(7):887-913. doi: 10.1002/humu.23431.

B

Badea TC, Nathans J. Morphologies of mouse retinal ganglion cells expressing transcription factors Brn3a, Brn3b, and Brn3c: analysis of wild type and mutant cells using genetically-directed sparse labeling. *Vision Res.* 2011 Jan 28;51(2):269-79. doi: 10.1016/j.visres.2010.08.039.

Baden T, Berens P, Franke K, Román Rosón M, Bethge M, Euler T. The functional diversity of retinal ganglion cells in the mouse. *Nature.* 2016 Jan 21;529(7586):345-50. doi: 10.1038/nature16468.

Bae JA, Mu S, Kim JS, Turner NL, Tartavull I, Kemnitz N, Jordan CS, Norton AD, Silversmith WM, Prentki R, Sorek M, David C, Jones DL, Bland D, Sterling ALR, Park J, Briggman KL, Seung HS; Eyewirers. Digital Museum of Retinal Ganglion Cells with Dense Anatomy and Physiology. *Cell.* 2018 May 17;173(5):1293-1306.e19. doi: 10.1016/j.cell.2018.04.040.

- Bakri SJ, Snyder MR, Reid JM, Pulido JS, Singh RJ. Pharmacokinetics of intravitreal bevacizumab (Avastin). *Ophthalmology*. 2007 May;114(5):855-9. doi: 10.1016/j.opthta.2007.01.017.
- Ban Y, Rizzolo LJ. Differential regulation of tight junction permeability during development of the retinal pigment epithelium. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2000 Sep;279(3):C744-50. doi: 10.1152/ajpcell.2000.279.3.C744.
- Banerjee P, Kleyn PW, Knowles JA, Lewis CA, Ross BM, Parano E, Kovats SG, Lee JJ, Penchaszadeh GK, Ott J, Jacobson SG, Gilliam TC. TULP1 mutation in two extended Dominican kindreds with autosomal recessive retinitis pigmentosa. *Nat Genet*. 1998 Feb;18(2):177-9. doi: 10.1038/ng0298-177.
- Barleon B, Sozzani S, Zhou D, Weich HA, Mantovani A, Marmé D. Migration of human monocytes in response to vascular endothelial growth factor (VEGF) is mediated via the VEGF receptor flt-1. *Blood*. 1996 Apr 15;87(8):3336-43.
- Barron KD, Dentinger MP, Krohel G, Easton SK, Mankes R. Qualitative and quantitative ultrastructural observations on retinal ganglion cell layer of rat after intraorbital optic nerve crush. *J Neurocytol*. 1986 Jun;15(3):345-62. doi: 10.1007/BF01611437.
- Baver SB, Pickard GE, Sollars PJ, Pickard GE. Two types of melanopsin retinal ganglion cell differentially innervate the hypothalamic suprachiasmatic nucleus and the olivary pretectal nucleus. *Eur J Neurosci*. 2008 Apr;27(7):1763-70. doi: 10.1111/j.1460-9568.2008.06149.x.
- Behar-Cohen F, Martinsons C, Viénot F, Zissis G, Barlier-Salsi A, Cesarini JP, Enouf O, Garcia M, Picaud S, Attia D. Light-emitting diodes (LED) for domestic lighting: any risks for the eye? *Prog Retin Eye Res*. 2011 Jul;30(4):239-57. doi: 10.1016/j.preteyeres.2011.04.002..
- Berman ER, Schwell H, Feeney L. The retinal pigment epithelium. Chemical composition and structure. *Invest Ophthalmol*. 1974 Sep;13(9):675-87. PMID: 4855060.
- Bernatchez PN, Soker S, Sirois MG. Vascular endothelial growth factor effect on endothelial cell proliferation, migration, and platelet-activating factor synthesis is Flk-1-dependent. *J Biol Chem*. 1999 Oct 22;274(43):31047-54. doi: 10.1074/jbc.274.43.31047.
- Berón W, Alvarez-Dominguez C, Mayorga L, Stahl PD. Membrane trafficking along the phagocytic pathway. *Trends Cell Biol*. 1995 Mar;5(3):100-4. doi: 10.1016/s0962-8924(00)88958-8.

Berson DM, Castrucci AM, Provencio I. Morphology and mosaics of melanopsin-expressing retinal ganglion cell types in mice. *J Comp Neurol*. 2010 Jul 1;518(13):2405-22. doi: 10.1002/cne.22381.

Berson DM, Dunn FA, Takao M. Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock. *Science*. 2002 Feb 8;295(5557):1070-3. doi: 10.1126/science.1067262.

Berson EL, Rosner B, Sandberg MA, Dryja TP. Ocular findings in patients with autosomal dominant retinitis pigmentosa and a rhodopsin gene defect (Pro-23-His). *Arch Ophthalmol*. 1991 Jan;109(1):92-101. doi: 10.1001/archopht.1991.01080010094039.

Bhat MA, Ahmad K, Khan MSA, Bhat MA, Almatroudi A, Rahman S, Jan AT. Expedition into Taurine Biology: Structural Insights and Therapeutic Perspective of Taurine in Neurodegenerative Diseases. *Biomolecules*. 2020 Jun 5;10(6):863. doi: 10.3390/biom10060863.

Bhisitkul RB, Mendes TS, Rofagha S, Enanoria W, Boyer DS, Sadda SR, Zhang K. Macular atrophy progression and 7-year vision outcomes in subjects from the ANCHOR, MARINA, and HORIZON studies: the SEVEN-UP study. *Am J Ophthalmol*. 2015 May;159(5):915-24.e2. doi: 10.1016/j.ajo.2015.01.032.

Biarnés M, Cardona G, García Ayuso D, García Planas M, Güemes N, de Juan V, Marín J, Peña C, Salobarra-García E, Senau M, Valero T. (2022). *Retina y nervio óptico para optometristas y otros profesionales sanitarios*. Grupo ICM, S.L.

Birch DG, Liang FQ. Age-related macular degeneration: a target for nanotechnology derived medicines. *Int J Nanomedicine*. 2007;2(1):65-77. doi: 10.2147/nano.2007.2.1.65.

Blancquaert L, Everaert I, Missinne M, Baguet A, Stegen S, Volkaert A, Petrovic M, Vervaeke C, Achten E, DE Maeyer M, DE Henauw S, Derave W. Effects of Histidine and β -alanine Supplementation on Human Muscle Carnosine Storage. *Med Sci Sports Exerc*. 2017 Mar;49(3):602-609. doi: 10.1249/MSS.0000000000001213.

Bocca C, Le Paih V, Chao de la Barca JM, Kouassy Nzoughe J, Amati-Bonneau P, Blanchet O, Védie B, Géromin D, Simard G, Procaccio V, Bonneau D, Lenaers G, Orssaud C, Reynier P. A plasma metabolomic signature of Leber hereditary optic neuropathy showing taurine and nicotinamide deficiencies. *Hum Mol Genet*. 2021 Mar 25;30(1):21-29. doi: 10.1093/hmg/ddab013.

Bonilha VL. Age and disease-related structural changes in the retinal pigment epithelium. *Clin Ophthalmol*. 2008 Jun;2(2):413-24. doi: 10.2147/opth.s2151.

Borwein B, Borwein D, Medeiros J, McGowan JW. The ultrastructure of monkey foveal photoreceptors, with special reference to the structure, shape, size, and spacing of the foveal cones. *Am J Anat.* 1980 Oct;159(2):125-46. doi: 10.1002/aja.1001590202.

Boulton M. Cell culture. *Eye (Lond).* 1990;4 (Pt 4):622-31. doi: 10.1038/eye.1990.87.

Bourne MC, Campbell DA, Tansley K. Hereditary degeneration of the rat retina. *Br J Ophthalmol.* 1938 Oct;22(10):613-23. doi: 10.1136/bjo.22.10.613.

Bowling B. (2016). Kanski. *Oftalmología Clínica: Un enfoque sistemático.* (8ª Edición). ELSEVIER.

Bowmaker JK. Evolution of vertebrate visual pigments. *Vision Res.* 2008 Sep;48(20):2022-41. doi: 10.1016/j.visres.2008.03.025.

Bray GM, Villegas-Pérez MP, Vidal-Sanz M, Aguayo AJ. The use of peripheral nerve grafts to enhance neuronal survival, promote growth and permit terminal reconnections in the central nervous system of adult rats. *J Exp Biol.* 1987 Sep;132:5-19. doi: 10.1242/jeb.132.1.5.

Bringmann A, Pannicke T, Biedermann B, Francke M, Iandiev I, Grosche J, Wiedemann P, Albrecht J, Reichenbach A. Role of retinal glial cells in neurotransmitter uptake and metabolism. *Neurochem Int.* 2009 Mar-Apr;54(3-4):143-60. doi: 10.1016/j.neuint.2008.10.014.

Bringmann A, Pannicke T, Grosche J, Francke M, Wiedemann P, Skatchkov SN, Osborne NN, Reichenbach A. Müller cells in the healthy and diseased retina. *Prog Retin Eye Res.* 2006 Jul;25(4):397-424. doi: 10.1016/j.preteyeres.2006.05.003.

Brito-García N, Del Pino-Sedeño T, Trujillo-Martín MM, Coco RM, Rodríguez de la Rúa E, Del Cura-González I, Serrano-Aguilar P. Effectiveness and safety of nutritional supplements in the treatment of hereditary retinal dystrophies: a systematic review. *Eye (Lond).* 2017 Feb;31(2):273-285. doi: 10.1038/eye.2016.286.

Brosnan JT, Brosnan ME. The sulfur-containing amino acids: an overview. *J Nutr.* 2006 Jun;136(6 Suppl):1636S-1640S. doi: 10.1093/jn/136.6.1636S.

Brown DM, Michels M, Kaiser PK, Heier JS, Sy JP, Ianchulev T; ANCHOR Study Group. Ranibizumab versus verteporfin photodynamic therapy for neovascular age-related macular degeneration: Two-year results of the ANCHOR study. *Ophthalmology.* 2009 Jan;116(1):57-65.e5. doi: 10.1016/j.opthta.2008.10.018. PMID: 19118696.

Brown TM, Gias C, Hatori M, Keding SR, Semo M, Coffey PJ, Gigg J, Piggins HD, Panda S, Lucas RJ. Melanopsin contributions to irradiance coding in the thalamo-cortical visual system. *PLoS Biol.* 2010 Dec 7;8(12):e1000558. doi: 10.1371/journal.pbio.1000558.

Burstyn-Cohen T, Lew ED, Través PG, Burrola PG, Hash JC, Lemke G. Genetic dissection of TAM receptor-ligand interaction in retinal pigment epithelial cell phagocytosis. *Neuron.* 2012 Dec 20;76(6):1123-32. doi: 10.1016/j.neuron.2012.10.015.

Bush RA, Hawks KW, Sieving PA. Preservation of inner retinal responses in the aged Royal College of Surgeons rat. Evidence against glutamate excitotoxicity in photoreceptor degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1995 Sep;36(10):2054-62.

C

Cáceres-Del-Carpio J, Moustafa MT, Toledo-Corral J, Hamid MA, Atilano SR, Schneider K, Fukuhara PS, Costa RD, Norman JL, Malik D, Chwa M, Boyer DS, Limb GA, Kenney MC, Kuppermann BD. In vitro response and gene expression of human retinal Müller cells treated with different anti-VEGF drugs. *Exp Eye Res.* 2020 Feb;191:107903. doi: 10.1016/j.exer.2019.107903.

Cai XF, Lin S, Geng Z, Luo LL, Liu YJ, Zhang Z, Liu WY, Chen X, Li X, Yan J, Ye J. Integrin CD11b Deficiency Aggravates Retinal Microglial Activation and RGCs Degeneration After Acute Optic Nerve Injury. *Neurochem Res.* 2020 May;45(5):1072-1085. doi: 10.1007/s11064-020-02984-6.

Carmody RJ, McGowan AJ, Cotter TG. Reactive oxygen species as mediators of photoreceptor apoptosis in vitro. *Exp Cell Res.* 1999 May 1;248(2):520-30. doi: 10.1006/excr.1998.4421.

Castelli V, Benedetti E, Antonosante A, Catanesi M, Pitari G, Ippoliti R, Cimini A, d'Angelo M. Neuronal Cells Rearrangement During Aging and Neurodegenerative Disease: Metabolism, Oxidative Stress and Organelles Dynamic. *Front Mol Neurosci.* 2019 May 28;12:132. doi: 10.3389/fnmol.2019.00132.

Castelli V, Paladini A, d'Angelo M, Allegretti M, Mantelli F, Brandolini L, Cocchiari P, Cimini A, Varrassi G. Taurine and oxidative stress in retinal health and disease. *CNS Neurosci Ther.* 2021 Apr;27(4):403-412. doi: 10.1111/cns.13610.

Che Y, Hou L, Sun F, Zhang C, Liu X, Piao F, Zhang D, Li H, Wang Q. Taurine protects dopaminergic neurons in a mouse Parkinson's disease model through inhibition of microglial M1 polarization. *Cell Death Dis.* 2018 Apr 1;9(4):435. doi: 10.1038/s41419-018-0468-2.

Chen L, Yang P, Kijlstra A. Distribution, markers, and functions of retinal microglia. *Ocul Immunol Inflamm*. 2002 Mar;10(1):27-39. doi: 10.1076/ocii.10.1.27.10328.

Chen X, Zhou H, Gong Y, Wei S, Zhang M. Early spatiotemporal characterization of microglial activation in the retinas of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2015 Apr;253(4):519-25. doi: 10.1007/s00417-014-2727-y.

Cheng CK, Peng PH, Tien LT, Cai YJ, Chen CF, Lee YJ. Bevacizumab is not toxic to retinal ganglion cells after repeated intravitreal injection. *Retina*. 2009 Mar;29(3):306-12. doi: 10.1097/IAE.0b013e3181909404.

Chhor V, Le Charpentier T, Lebon S, Oré MV, Celador IL, Josserand J, Degos V, Jacotot E, Hagberg H, Sävman K, Mallard C, Gressens P, Fleiss B. Characterization of phenotype markers and neuronotoxic potential of polarised primary microglia in vitro. *Brain Behav Immun*. 2013 Aug;32:70-85. doi: 10.1016/j.bbi.2013.02.005.

Chin-Yee D, Eck T, Fowler S, Hardi A, Apte RS. A systematic review of as needed versus treat and extend ranibizumab or bevacizumab treatment regimens for neovascular age-related macular degeneration. *Br J Ophthalmol*. 2016 Jul;100(7):914-917. doi: 10.1136/bjophthalmol-2015-306987.

Chrysostomou V, Valter K, Stone J. Cone-rod dependence in the rat retina: variation with the rate of rod damage. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009 Jun;50(6):3017-23. doi: 10.1167/iovs.08-3004.

Coombs J, van der List D, Wang GY, Chalupa LM. Morphological properties of mouse retinal ganglion cells. *Neuroscience*. 2006 Jun 19;140(1):123-36. doi: 10.1016/j.neuroscience.2006.02.079.

Coorey NJ, Shen W, Chung SH, Zhu L, Gillies MC. The role of glia in retinal vascular disease. *Clin Exp Optom*. 2012 May;95(3):266-81. doi: 10.1111/j.1444-0938.2012.00741.x.

Costa-Ferro ZSM, de Oliveira GN, da Silva DV, Marinowic DR, Machado DC, Longo BM, da Costa JC. Intravenous infusion of bone marrow mononuclear cells promotes functional recovery and improves impaired cognitive function via inhibition of Rho guanine nucleotide triphosphatases and inflammatory signals in a model of chronic epilepsy. *Brain Struct Funct*. 2020 Dec;225(9):2799-2813. doi: 10.1007/s00429-020-02159-7.

Couturier J, Stancu IC, Schakman O, Pierrot N, Huaux F, Kienlen-Campard P, Dewachter I, Octave JN. Activation of phagocytic activity in astrocytes by reduced expression of the inflammasome

component ASC and its implication in a mouse model of Alzheimer disease. *J Neuroinflammation*. 2016 Jan 27;13:20. doi: 10.1186/s12974-016-0477-y.

Crain JM, Nikodemova M, Watters JJ. Microglia express distinct M1 and M2 phenotypic markers in the postnatal and adult central nervous system in male and female mice. *J Neurosci Res*. 2013 Sep;91(9):1143-51. doi: 10.1002/jnr.23242.

Cuenca N, Fernández-Sánchez L, Campello L, Maneu V, De la Villa P, Lax P, Pinilla I. Cellular responses following retinal injuries and therapeutic approaches for neurodegenerative diseases. *Prog Retin Eye Res*. 2014 Nov;43:17-75. doi: 10.1016/j.preteyeres.2014.07.001.

Cuenca N, Fernández-Sánchez L, Sauvé Y, Segura FJ, Martínez-Navarrete G, Tamarit JM, Fuentes-Broto L, Sanchez-Cano A, Pinilla I. Correlation between SD-OCT, immunocytochemistry and functional findings in an animal model of retinal degeneration. *Front Neuroanat*. 2014 Dec 22;8:151. doi: 10.3389/fnana.2014.00151.

D

D'Cruz PM, Yasumura D, Weir J, Matthes MT, Abderrahim H, LaVail MM, Vollrath D. Mutation of the receptor tyrosine kinase gene *Mertk* in the retinal dystrophic RCS rat. *Hum Mol Genet*. 2000 Mar 1;9(4):645-51. doi: 10.1093/hmg/9.4.645.

da Silva RA, Ferreira LPS, Roda VMP, Soares Junior JM, Simões MJ, Regatieri CVS. Do anti-VEGFs used in the ophthalmic clinic cause Müller glial cell stress? *Clinics (Sao Paulo)*. 2023 Jan 24;78:100161. doi: 10.1016/j.clinsp.2022.100161.

Dacey DM, Liao HW, Peterson BB, Robinson FR, Smith VC, Pokorny J, Yau KW, Gamlin PD. Melanopsin-expressing ganglion cells in primate retina signal colour and irradiance and project to the LGN. *Nature*. 2005 Feb 17;433(7027):749-54. doi: 10.1038/nature03387.

Daiger SP, Sullivan LS, Bowne SJ. Genes and mutations causing retinitis pigmentosa. *Clin Genet*. 2013 Aug;84(2):132-41. doi: 10.1111/cge.12203.

Datta S, Cano M, Ebrahimi K, Wang L, Handa JT. The impact of oxidative stress and inflammation on RPE degeneration in non-neovascular AMD. *Prog Retin Eye Res*. 2017 Sep;60:201-218. doi: 10.1016/j.preteyeres.2017.03.002.

Davis RL, Das S, Thomas Curtis J, Stevens CW. The opioid antagonist, β -funaltrexamine, inhibits NF- κ B signaling and chemokine expression in human astrocytes and in mice. *Eur J Pharmacol*. 2015 Sep 5;762:193-201. doi: 10.1016/j.ejphar.2015.05.040.

Del Rio-Hortega, P, 1939. The microglia. *Lancet* 233, 1023e1926.

Detrick B, Hooks JJ. Immune regulation in the retina. *Immunol Res*. 2010 Jul;47(1-3):153-61. doi: 10.1007/s12026-009-8146-1.

Di Leo MA, Ghirlanda G, Gentiloni Silveri N, Giardina B, Franconi F, Santini SA. Potential therapeutic effect of antioxidants in experimental diabetic retina: a comparison between chronic taurine and vitamin E plus selenium supplementations. *Free Radic Res*. 2003 Mar;37(3):323-30. doi: 10.1080/1071576021000055271.

Di Pierdomenico J, García-Ayuso D, Agudo-Barriuso M, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP. Role of microglial cells in photoreceptor degeneration. *Neural Regen Res*. 2019 Jul;14(7):1186-1190. doi: 10.4103/1673-5374.251204.

Di Pierdomenico J, García-Ayuso D, Jiménez-López M, Agudo-Barriuso M, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP. Different Ipsi- and Contralateral Glial Responses to Anti-VEGF and Triamcinolone Intravitreal Injections in Rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016 Jul 1;57(8):3533-44. doi: 10.1167/iovs.16-19618.

Di Pierdomenico J, García-Ayuso D, Pinilla I, Cuenca N, Vidal-Sanz M, Agudo-Barriuso M, Villegas-Pérez MP. Early Events in Retinal Degeneration Caused by Rhodopsin Mutation or Pigment Epithelium Malfunction: Differences and Similarities. *Front Neuroanat*. 2017 Mar 6;11:14. doi: 10.3389/fnana.2017.00014.

Di Pierdomenico J, García-Ayuso D, Rodríguez González-Herrero ME, García-Bernal D, Blanquer M, Bernal-Garro JM, García-Hernández AM, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP. Bone Marrow-Derived Mononuclear Cell Transplants Decrease Retinal Gliosis in Two Animal Models of Inherited Photoreceptor Degeneration. *Int J Mol Sci*. 2020b Sep 30;21(19):7252. doi: 10.3390/ijms21197252.

Di Pierdomenico J, Martínez-Vacas A, Hernández-Muñoz D, Gómez-Ramírez AM, Valiente-Soriano FJ, Agudo-Barriuso M, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Coordinated Intervention of Microglial and Müller Cells in Light-Induced Retinal Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2020a Mar 9;61(3):47. doi: 10.1167/iovs.61.3.47.

Di Pierdomenico J, Martínez-Vacas A, Picaud S, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Taurine: an essential amino sulfonic acid for retinal health. *Neural Regen Res*. 2023 Apr;18(4):807-808. doi: 10.4103/1673-5374.353491.

Di Pierdomenico J, Scholz R, Valiente-Soriano FJ, Sánchez-Migallón MC, Vidal-Sanz M, Langmann T, Agudo-Barriuso M, García-Ayuso D, Villegas-Pérez MP. Neuroprotective Effects of FGF2 and Minocycline in Two Animal Models of Inherited Retinal Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018 Sep 4;59(11):4392-4403. doi: 10.1167/iovs.18-24621.

Dias MF, Joo K, Kemp JA, Fialho SL, da Silva Cunha A Jr, Woo SJ, Kwon YJ. Molecular genetics and emerging therapies for retinitis pigmentosa: Basic research and clinical perspectives. *Prog Retin Eye Res*. 2018 Mar;63:107-131. doi: 10.1016/j.preteyeres.2017.10.004. Epub 2017 Oct 31. Erratum in: *Prog Retin Eye Res*. 2018 Sep;66:220-221. doi: 10.1016/j.preteyeres.2018.08.001.

Dogiel AS (1895). Die Retina der Vögel. *Anat Entwicklungsgeschichte*. 44:622–648.

Dolan E, Swinton PA, Painelli VS, Stephens Hemingway B, Mazzolani B, Infante Smaira F, Saunders B, Artioli GG, Gualano B. A Systematic Risk Assessment and Meta-Analysis on the Use of Oral β -Alanine Supplementation. *Adv Nutr*. 2019 May 1;10(3):452-463. doi: 10.1093/advances/nmy115.

Doonan F, Donovan M, Cotter TG. Caspase-independent photoreceptor apoptosis in mouse models of retinal degeneration. *J Neurosci*. 2003 Jul 2;23(13):5723-31. doi: 10.1523/JNEUROSCI.23-13-05723.2003.

Dossi E, Vasile F, Rouach N. Human astrocytes in the diseased brain. *Brain Res Bull*. 2018 Jan;136:139-156. doi: 10.1016/j.brainresbull.2017.02.001.

Dowling JE (1987). The retina: an approachable part of the brain. Cambridge, MA: Belknap.

Dowling JE, Sidman RL. Inherited retinal dystrophy in the rat. *J Cell Biol*. 1962 Jul;14(1):73-109. doi: 10.1083/jcb.14.1.73.

Dräger UC, Olsen JF. Ganglion cell distribution in the retina of the mouse. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1981 Mar;20(3):285-93.

Dryja TP, McGee TL, Hahn LB, Cowley GS, Olsson JE, Reichel E, Sandberg MA, Berson EL. Mutations within the rhodopsin gene in patients with autosomal dominant retinitis pigmentosa. *N Engl J Med*. 1990 Nov 8;323(19):1302-7. doi: 10.1056/NEJM199011083231903.

Dryja TP, McGee TL, Reichel E, Hahn LB, Cowley GS, Yandell DW, Sandberg MA, Berson EL. A point mutation of the rhodopsin gene in one form of retinitis pigmentosa. *Nature*. 1990 Jan 25;343(6256):364-6. doi: 10.1038/343364a0.

Dubbelaar ML, Kracht L, Eggen BJL, Boddeke EWGM. The Kaleidoscope of Microglial Phenotypes. *Front Immunol*. 2018 Jul 31;9:1753. doi: 10.3389/fimmu.2018.01753.

Duda M, Domagalik A, Orlowska-Feuer P, Krzysztynska-Kuleta O, Beldzik E, Smyk MK, Stachurska A, Oginska H, Jeczmiern-Lazur JS, Fafrowicz M, Marek T, Lewandowski MH, Sarna T. Melanopsin: From a small molecule to brain functions. *Neurosci Biobehav Rev*. 2020 Jun;113:190-203. doi: 10.1016/j.neubiorev.2020.03.012.

E

Ecker JL, Dumitrescu ON, Wong KY, Alam NM, Chen SK, LeGates T, Renna JM, Prusky GT, Berson DM, Hattar S. Melanopsin-expressing retinal ganglion-cell photoreceptors: cellular diversity and role in pattern vision. *Neuron*. 2010 Jul 15;67(1):49-60. doi: 10.1016/j.neuron.2010.05.023.

Edwards RB, Szamier RB. Defective phagocytosis of isolated rod outer segments by RCS rat retinal pigment epithelium in culture. *Science*. 1977 Sep 2;197(4307):1001-3. doi: 10.1126/science.560718.

Eichler W, Yafai Y, Keller T, Wiedemann P, Reichenbach A. PEDF derived from glial Müller cells: a possible regulator of retinal angiogenesis. *Exp Cell Res*. 2004 Sep 10;299(1):68-78. doi: 10.1016/j.yexcr.2004.05.020.

El Idrissi A, Shen CH, L'Amoreaux WJ. Neuroprotective role of taurine during aging. *Amino Acids*. 2013 Oct;45(4):735-50. doi: 10.1007/s00726-013-1544-7. Epub 2013 Aug 21. Erratum in: *Amino Acids*. 2014 Jan;46(1):123.

ElSheikh RH, Chauhan MZ, Sallam AB. Current and Novel Therapeutic Approaches for Treatment of Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Biomolecules*. 2022 Nov 3;12(11):1629. doi: 10.3390/biom12111629.

Endo T. Glycans and glycan-binding proteins in brain: galectin-1-induced expression of neurotrophic factors in astrocytes. *Curr Drug Targets*. 2005 Jun;6(4):427-36. doi: 10.2174/1389450054021909.

Estevez ME, Fogerson PM, Ilardi MC, Borghuis BG, Chan E, Weng S, Auferkorte ON, Demb JB, Berson DM. Form and function of the M4 cell, an intrinsically photosensitive retinal ganglion cell type contributing to geniculocortical vision. *J Neurosci*. 2012 Sep 26;32(39):13608-20. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1422-12.2012.

F

Falavarjani KG, Nguyen QD. Adverse events and complications associated with intravitreal injection of anti-VEGF agents: a review of literature. *Eye (Lond)*. 2013 Jul;27(7):787-94. doi: 10.1038/eye.2013.107.

Fan Y, Lai J, Yuan Y, Wang L, Wang Q, Yuan F. Taurine Protects Retinal Cells and Improves Synaptic Connections in Early Diabetic Rats. *Curr Eye Res*. 2020 Jan;45(1):52-63. doi: 10.1080/02713683.2019.1653927.

Feeney-Burns L, Eldred GE. The fate of the phagosome: conversion to 'age pigment' and impact in human retinal pigment epithelium. *Trans Ophthalmol Soc U K*. 1962. 1983;103 (Pt 4):416-21.

Feng W, Yasumura D, Matthes MT, LaVail MM, Vollrath D. Mertk triggers uptake of photoreceptor outer segments during phagocytosis by cultured retinal pigment epithelial cells. *J Biol Chem*. 2002 May 10;277(19):17016-22. doi: 10.1074/jbc.M107876200.

Fernandes A, Miller-Fleming L, Pais TF. Microglia and inflammation: conspiracy, controversy or control? *Cell Mol Life Sci*. 2014 Oct;71(20):3969-85. doi: 10.1007/s00018-014-1670-8. Epub 2014 Jul 10.

Fernandez DC, Fogerson PM, Lazzerini Osprey L, Thomsen MB, Layne RM, Severin D, Zhan J, Singer JH, Kirkwood A, Zhao H, Berson DM, Hattar S. Light Affects Mood and Learning through Distinct Retina-Brain Pathways. *Cell*. 2018 Sep 20;175(1):71-84.e18. doi: 10.1016/j.cell.2018.08.004.

Ferrara N. Vascular endothelial growth factor as a target for anticancer therapy. *Oncologist*. 2004;9 Suppl 1:2-10. doi: 10.1634/theoncologist.9-suppl_1-2.

Filek R, Hooper P, Sheidow TG, Liu H, Chakrabarti S, Hutnik CM. Safety of anti-VEGF treatments in a diabetic rat model and retinal cell culture. *Clin Ophthalmol*. 2019 Jul 1;13:1097-1114. doi: 10.2147/OPHTH.S199771.

- Finnemann SC, Leung LW, Rodriguez-Boulan E. The lipofuscin component A2E selectively inhibits phagolysosomal degradation of photoreceptor phospholipid by the retinal pigment epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Mar 19;99(6):3842-7. doi: 10.1073/pnas.052025899..
- Finnemann SC. Focal adhesion kinase signaling promotes phagocytosis of integrin-bound photoreceptors. *EMBO J*. 2003 Aug 15;22(16):4143-54. doi: 10.1093/emboj/cdg416.
- Fischer N, Narayanan R, Loewenstein A, Kuppersmann BD. Drug delivery to the posterior segment of the eye. *Eur J Ophthalmol*. 2011;21 Suppl 6:S20-6. doi: 10.5301/EJO.2010.6051.
- Fisher CR, Ferrington DA. Perspective on AMD Pathobiology: A Bioenergetic Crisis in the RPE. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018 Mar 20;59(4):AMD41-AMD47. doi: 10.1167/iovs.18-24289.
- Flannagan RS, Jaumouillé V, Grinstein S. The cell biology of phagocytosis. *Annu Rev Pathol*. 2012;7:61-98. doi: 10.1146/annurev-pathol-011811-132445.
- Fletcher EL, Greferath U, Guennel P, Huynh M, Findlay QD, Jobling AI, Phipps JA, Brandli AA, Wang YM, Mills SA, Kakavand K, Delongh RU, Vessey KA. 2020. Animal Models of Diseases of the Retinal Pigment Epithelium. In *Retinal Pigment Epithelium in Health and Disease* (pp. 325–347). Springer International Publishing. doi: 10.1007/978-3-030-28384-1_19.
- Fletcher EL, Kalloniatis M. Neurochemical architecture of the normal and degenerating rat retina. *J Comp Neurol*. 1996 Dec 16;376(3):343-60. doi: 10.1002/(SICI)1096-9861(19961216)376:3<343::AID-CNE1>3.0.CO;2-2.
- Fletcher EL, Kalloniatis M. Neurochemical development of the degenerating rat retina. *J Comp Neurol*. 1997 Nov 10;388(1):1-22.
- Froger N, Cadetti L, Lorach H, Martins J, Bemelmans AP, Dubus E, Degardin J, Pain D, Forster V, Chicaud L, Ivkovic I, Simonutti M, Fouquet S, Jammoul F, Léveillard T, Benosman R, Sahel JA, Picaud S. Taurine provides neuroprotection against retinal ganglion cell degeneration. *PLoS One*. 2012;7(10):e42017. doi: 10.1371/journal.pone.0042017.
- Froger N, Moutsimilli L, Cadetti L, Jammoul F, Wang QP, Fan Y, Gaucher D, Rosolen SG, Neveux N, Cynober L, Sahel JA, Picaud S. Taurine: the comeback of a nutraceutical in the prevention of retinal degenerations. *Prog Retin Eye Res*. 2014 Jul;41:44-63. doi: 10.1016/j.preteyeres.2014.03.001.

Fugara NA, Shawareb ZA, Rakkad NK, Barhoum ML, Shawareb BA, Al-Madani MM, Al-Madani MV. The Risk of Non-arteritic Ischemic Optic Neuropathy Post-intravitreal Bevacizumab Injection. *Cureus*. 2022 Oct 11;14(10):e30185. doi: 10.7759/cureus.30185.

Fuhrmann S, Zou C, Levine EM. Retinal pigment epithelium development, plasticity, and tissue homeostasis. *Exp Eye Res*. 2014 Jun;123:141-50. doi: 10.1016/j.exer.2013.09.003.

G

Gaddini L, Varano M, Matteucci A, Mallozzi C, Villa M, Pricci F, Malchiodi-Albedi F. Müller glia activation by VEGF-antagonizing drugs: An in vitro study on rat primary retinal cultures. *Exp Eye Res*. 2016 Apr;145:158-163. doi: 10.1016/j.exer.2015.11.010.

Gagliardi G, Ben M'Barek K, Goureau O. Photoreceptor cell replacement in macular degeneration and retinitis pigmentosa: A pluripotent stem cell-based approach. *Prog Retin Eye Res*. 2019 Jul;71:1-25. doi: 10.1016/j.preteyeres.2019.03.001.

Gal A, Li Y, Thompson DA, Weir J, Orth U, Jacobson SG, Apfelstedt-Sylla E, Vollrath D. Mutations in MERTK, the human orthologue of the RCS rat retinal dystrophy gene, cause retinitis pigmentosa. *Nat Genet*. 2000 Nov;26(3):270-1. doi: 10.1038/81555.

Gao HM, Hong JS. Why neurodegenerative diseases are progressive: uncontrolled inflammation drives disease progression. *Trends Immunol*. 2008 Aug;29(8):357-65. doi: 10.1016/j.it.2008.05.002.

García-Ayuso D, Di Pierdomenico J, Esquiva G, Nadal-Nicolás FM, Pinilla I, Cuenca N, Vidal-Sanz M, Agudo-Barriuso M, Villegas-Pérez MP. Inherited Photoreceptor Degeneration Causes the Death of Melanopsin-Positive Retinal Ganglion Cells and Increases Their Coexpression of Brn3a. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015 Jul;56(8):4592-604. doi: 10.1167/iovs.15-16808.

Garcia-Ayuso D, Di Pierdomenico J, García-Bernal D, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP. Bone marrow-derived mononuclear stem cells in the treatment of retinal degenerations. *Neural Regen Res*. 2022 Sep;17(9):1937-1944. doi: 10.4103/1673-5374.335692.

García-Ayuso D, Di Pierdomenico J, Hadj-Said W, Marie M, Agudo-Barriuso M, Vidal-Sanz M, Picaud S, Villegas-Pérez MP. Taurine Depletion Causes ipRGC Loss and Increases Light-Induced Photoreceptor Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018 Mar 1;59(3):1396-1409. doi: 10.1167/iovs.17-23258.

García-Ayuso D, Di Pierdomenico J, Valiente-Soriano FJ, Martínez-Vacas A, Agudo-Barriuso M, Vidal-Sanz M, Picaud S, Villegas-Pérez MP. β -alanine supplementation induces taurine depletion and causes alterations of the retinal nerve fiber layer and axonal transport by retinal ganglion cells. *Exp Eye Res.* 2019 Nov;188:107781. doi: 10.1016/j.exer.2019.107781.

García-Ayuso D, Ortín-Martínez A, Jiménez-López M, Galindo-Romero C, Cuenca N, Pinilla I, Vidal-Sanz M, Agudo-Barriuso M, Villegas-Pérez MP. Changes in the photoreceptor mosaic of P23H-1 rats during retinal degeneration: implications for rod-cone dependent survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013 Aug 28;54(8):5888-900. doi: 10.1167/iovs.13-12643.

García-Ayuso D, Salinas-Navarro M, Agudo M, Cuenca N, Pinilla I, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP. Retinal ganglion cell numbers and delayed retinal ganglion cell death in the P23H rat retina. *Exp Eye Res.* 2010 Dec;91(6):800-10. doi: 10.1016/j.exer.2010.10.003.

García-Ayuso D, Salinas-Navarro M, Agudo-Barriuso M, Alarcón-Martínez L, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP. Retinal ganglion cell axonal compression by retinal vessels in light-induced retinal degeneration. *Mol Vis.* 2011;17:1716-33.

García-Ayuso D, Salinas-Navarro M, Nadal-Nicolás FM, Ortín-Martínez A, Agudo-Barriuso M, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP. Sectorial loss of retinal ganglion cells in inherited photoreceptor degeneration is due to RGC death. *Br J Ophthalmol.* 2014 Mar;98(3):396-401. doi: 10.1136/bjophthalmol-2013-303958.

García-Layana A, Cabrera-López F, García-Arumí J, Arias-Barquet L, Ruiz-Moreno JM. Early and intermediate age-related macular degeneration: update and clinical review. *Clin Interv Aging.* 2017 Oct 3;12:1579-1587. doi: 10.2147/CIA.S142685.

García-Layana A, Figueroa MS, Arias L, Araiz J, Ruiz-Moreno JM, García-Arumí J, Gómez-Ulla F, López-Gálvez MI, Cabrera-López F, García-Campos JM, Monés J, Cervera E, Armadá F, Gallego-Pinazo R. Individualized Therapy with Ranibizumab in Wet Age-Related Macular Degeneration. *J Ophthalmol.* 2015;2015:412903. doi: 10.1155/2015/412903.

García-Valenzuela E, Sharma SC, Piña AL. Multilayered retinal microglial response to optic nerve transection in rats. *Mol Vis.* 2005 Mar 31;11:225-31.

Gerkau NJ, Rakers C, Petzold GC, Rose CR. Differential effects of energy deprivation on intracellular sodium homeostasis in neurons and astrocytes. *J Neurosci Res.* 2017 Nov;95(11):2275-2285. doi: 10.1002/jnr.23995.

Gertig U, Hanisch UK. Microglial diversity by responses and responders. *Front Cell Neurosci*. 2014 Apr 1;8:101. doi: 10.3389/fncel.2014.00101.

Giolli RA, Towns LC. A review of axon collateralization in the mammalian visual system. *Brain Behav Evol*. 1980;17(5):364-90. doi: 10.1159/000121809.

Goetz J, Jessen ZF, Jacobi A, Mani A, Cooler S, Greer D, Kadri S, Segal J, Shekhar K, Sanes JR, Schwartz GW. Unified classification of mouse retinal ganglion cells using function, morphology, and gene expression. *Cell Rep*. 2022 Jul 12;40(2):111040. doi: 10.1016/j.celrep.2022.111040.

Goldberg AF, Moritz OL, Williams DS. Molecular basis for photoreceptor outer segment architecture. *Prog Retin Eye Res*. 2016 Nov;55:52-81. doi: 10.1016/j.preteyeres.2016.05.003.

Gooley JJ, Lu J, Fischer D, Saper CB. A broad role for melanopsin in nonvisual photoreception. *J Neurosci*. 2003 Aug 6;23(18):7093-106. doi: 10.1523/JNEUROSCI.23-18-07093.2003.

Gorbatyuk MS, Knox T, LaVail MM, Gorbatyuk OS, Noorwez SM, Hauswirth WW, Lin JH, Muzyczka N, Lewin AS. Restoration of visual function in P23H rhodopsin transgenic rats by gene delivery of BiP/Grp78. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Mar 30;107(13):5961-6. doi: 10.1073/pnas.0911991107.

Gragoudas ES, Adamis AP, Cunningham ET Jr, Feinsod M, Guyer DR; VEGF Inhibition Study in Ocular Neovascularization Clinical Trial Group. Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med*. 2004 Dec 30;351(27):2805-16. doi: 10.1056/NEJMoa042760.

Grant MB, May WS, Caballero S, Brown GA, Guthrie SM, Mames RN, Byrne BJ, Vaught T, Spoerri PE, Peck AB, Scott EW. Adult hematopoietic stem cells provide functional hemangioblast activity during retinal neovascularization. *Nat Med*. 2002 Jun;8(6):607-12. doi: 10.1038/nm0602-607.

Greferath U, Huynh M, Jobling AI, Vessey KA, Venables G, Surrao D, O'Neill HC, Limnios IJ, Fletcher EL. Dorsal-Ventral Differences in Retinal Structure in the Pigmented Royal College of Surgeons Model of Retinal Degeneration. *Front Cell Neurosci*. 2021 Jan 18;14:553708. doi: 10.3389/fncel.2020.553708.

Grimm C, Wenzel A, Hafezi F, Yu S, Redmond TM, Remé CE. Protection of Rpe65-deficient mice identifies rhodopsin as a mediator of light-induced retinal degeneration. *Nat Genet*. 2000 May;25(1):63-6. doi: 10.1038/75614.

Guadagni V, Novelli E, Piano I, Gargini C, Strettoi E. Pharmacological approaches to retinitis pigmentosa: A laboratory perspective. *Prog Retin Eye Res*. 2015 Sep;48:62-81. doi: 10.1016/j.preteyeres.2015.06.005.

Güngel H, Erdenen F, Pasaoglu I, Sak D, Ogreden T, Kilic Muftuoglu I. New Insights into Diabetic and Vision-Threatening Retinopathy: Importance of Plasma Long Pentraxin 3 and Taurine Levels. *Curr Eye Res.* 2021 Jun;46(6):818-823. doi: 10.1080/02713683.2020.1836228.

H

Hadj-Saïd W, Fradot V, Ivkovic I, Sahel JA, Picaud S, Froger N. Taurine Promotes Retinal Ganglion Cell Survival Through GABA_B Receptor Activation. *Adv Exp Med Biol.* 2017;975 Pt 2:687-701. doi: 10.1007/978-94-024-1079-2_54.

Hadj-Saïd W, Froger N, Ivkovic I, Jiménez-López M, Dubus É, Dégardin-Chicaud J, Simonutti M, Quénot C, Neveux N, Villegas-Pérez MP, Agudo-Barriuso M, Vidal-Sanz M, Sahel JA, Picaud S, García-Ayuso D. Quantitative and Topographical Analysis of the Losses of Cone Photoreceptors and Retinal Ganglion Cells Under Taurine Depletion. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016 Sep 1;57(11):4692-703. doi: 10.1167/iops.16-19535.

Hafezi F, Marti A, Munz K, Remé CE. Light-induced apoptosis: differential timing in the retina and pigment epithelium. *Exp Eye Res.* 1997 Jun;64(6):963-70. doi: 10.1006/exer.1997.0288.

Hanisch UK, Kettenmann H. Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nat Neurosci.* 2007 Nov;10(11):1387-94. doi: 10.1038/nn1997.

Hannibal J, Christiansen AT, Heegaard S, Fahrenkrug J, Kiilgaard JF. Melanopsin expressing human retinal ganglion cells: Subtypes, distribution, and intraretinal connectivity. *J Comp Neurol.* 2017 Jun 1;525(8):1934-1961. doi: 10.1002/cne.24181.

Hannibal J, Hindersson P, Knudsen SM, Georg B, Fahrenkrug J. The photopigment melanopsin is exclusively present in pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide-containing retinal ganglion cells of the retinohypothalamic tract. *J Neurosci.* 2002 Jan 1;22(1):RC191. doi: 10.1523/JNEUROSCI.22-01-j0002.2002.

Hartong DT, Berson EL, Dryja TP. Retinitis pigmentosa. *Lancet.* 2006 Nov 18;368(9549):1795-809. doi: 10.1016/S0140-6736(06)69740-7.

Hattar S, Kumar M, Park A, Tong P, Tung J, Yau KW, Berson DM. Central projections of melanopsin-expressing retinal ganglion cells in the mouse. *J Comp Neurol.* 2006 Jul 20;497(3):326-49. doi: 10.1002/cne.20970. PMID: 16736474; PMCID: PMC2885916.

Hattar S, Liao HW, Takao M, Berson DM, Yau KW. Melanopsin-containing retinal ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. *Science*. 2002 Feb 8;295(5557):1065-70. doi: 10.1126/science.1069609.

Heller-Stilb B, van Roeyen C, Rascher K, Hartwig HG, Huth A, Seeliger MW, Warskulat U, Häussinger D. Disruption of the taurine transporter gene (taut) leads to retinal degeneration in mice. *FASEB J*. 2002 Feb;16(2):231-3. doi: 10.1096/fj.01-0691fje.

Holan V, Palacka K, Hermankova B. Mesenchymal Stem Cell-Based Therapy for Retinal Degenerative Diseases: Experimental Models and Clinical Trials. *Cells*. 2021 Mar 7;10(3):588. doi: 10.3390/cells10030588.

Hollingsworth TJ, Gross AK. Defective trafficking of rhodopsin and its role in retinal degenerations. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2012;293:1-44. doi: 10.1016/B978-0-12-394304-0.00006-3.

Holloway OG, Canty AJ, King AE, Ziebell JM. Rod microglia and their role in neurological diseases. *Semin Cell Dev Biol*. 2019 Oct;94:96-103. doi: 10.1016/j.semcdb.2019.02.005.

Hong L, Simon JD. Current understanding of the binding sites, capacity, affinity, and biological significance of metals in melanin. *J Phys Chem B*. 2007 Jul 19;111(28):7938-47. doi: 10.1021/jp071439h.

Horie S, Robbie SJ, Liu J, Wu WK, Ali RR, Bainbridge JW, Nicholson LB, Mochizuki M, Dick AD, Copland DA. CD200R signaling inhibits pro-angiogenic gene expression by macrophages and suppresses choroidal neovascularization. *Sci Rep*. 2013 Oct 30;3:3072. doi: 10.1038/srep03072.

Hubel DH (1999). *Ojo, Cerebro y Visión*. Universidad de Murcia. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Murcia.Murcia (España). ISBN: 84-8371-143-5.

Humphrey MF, Moore SR. Microglial responses to focal lesions of the rabbit retina: correlation with neural and macroglial reactions. *Glia*. 1996 Apr;16(4):325-41. doi: 10.1002/(SICI)1098-1136(199604)16:4<325::AID-GLIA5>3.0.CO;2-Z.

Huxtable RJ. Taurine in the central nervous system and the mammalian actions of taurine. *Prog Neurobiol*. 1989;32(6):471-533. doi: 10.1016/0301-0082(89)90019-1.

I

Inam-U-Allah, Piao F, Aadil RM, Suleman R, Li K, Zhang M, Wu P, Shahbaz M, Ahmed Z. Ameliorative effects of taurine against diabetes: a review. *Amino Acids*. 2018 May;50(5):487-502. doi: 10.1007/s00726-018-2544-4.

Inglehearn CF, Bashir R, Lester DH, Jay M, Bird AC, Bhattacharya SS. A 3-bp deletion in the rhodopsin gene in a family with autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Am J Hum Genet*. 1991 Jan;48(1):26-30.

Inglehearn CF. Molecular genetics of human retinal dystrophies. *Eye (Lond)*. 1998;12 (Pt 3b):571-9. doi: 10.1038/eye.1998.147.

Iriyama A, Chen YN, Tamaki Y, Yanagi Y. Effect of anti-VEGF antibody on retinal ganglion cells in rats. *Br J Ophthalmol*. 2007 Sep;91(9):1230-3. doi: 10.1136/bjo.2007.117309.

Istrate M, Vlaicu B, Poenaru M, Hasbei-Popa M, Salavat MC, Iliescu DA. Photoprotection role of melanin in the human retinal pigment epithelium. Imaging techniques for retinal melanin. *Rom J Ophthalmol*. 2020 Apr-Jun;64(2):100-104. doi: 10.22336/rjo.2020.20.

Iyer PG, Albin TA. Drug-related adverse effects of antivascular endothelial growth factor agents. *Curr Opin Ophthalmol*. 2021 May 1;32(3):191-197. doi: 10.1097/ICU.0000000000000757.

J

Jaadane I, Boulenguez P, Chahory S, Carré S, Savoldelli M, Jonet L, Behar-Cohen F, Martinsons C, Torriglia A. Retinal damage induced by commercial light emitting diodes (LEDs). *Free Radic Biol Med*. 2015 Jul;84:373-384. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.03.034.

Jacobs GH, Fenwick JA, Williams GA. Cone-based vision of rats for ultraviolet and visible lights. *J Exp Biol*. 2001 Jul;204(Pt 14):2439-46. doi: 10.1242/jeb.204.14.2439.

Jafri AJA, Agarwal R, Iezhitsa I, Agarwal P, Ismail NM. Taurine protects against NMDA-induced retinal damage by reducing retinal oxidative stress. *Amino Acids*. 2019 Apr;51(4):641-646. doi: 10.1007/s00726-019-02696-4.

Jager RD, Aiello LP, Patel SC, Cunningham ET Jr. Risks of intravitreal injection: a comprehensive review. *Retina*. 2004 Oct;24(5):676-98. doi: 10.1097/00006982-200410000-00002.

- Jain V, Ravindran E, Dhingra NK. Differential expression of Brn3 transcription factors in intrinsically photosensitive retinal ganglion cells in mouse. *J Comp Neurol*. 2012 Mar 1;520(4):742-55. doi: 10.1002/cne.22765.
- Jakaria M, Azam S, Haque ME, Jo SH, Uddin MS, Kim IS, Choi DK. Taurine and its analogs in neurological disorders: Focus on therapeutic potential and molecular mechanisms. *Redox Biol*. 2019 Jun;24:101223. doi: 10.1016/j.redox.2019.101223.
- Jammoul F, Wang Q, Nabbout R, Coriat C, Duboc A, Simonutti M, Dubus E, Craft CM, Ye W, Collins SD, Dulac O, Chiron C, Sahel JA, Picaud S. Taurine deficiency is a cause of vigabatrin-induced retinal phototoxicity. *Ann Neurol*. 2009 Jan;65(1):98-107. doi: 10.1002/ana.21526.
- Jeong JE, Kim TY, Park HJ, Lee KH, Lee KH, Choi EJ, Kim JK, Chung HL, Seo ES, Kim WT. Taurine exerts neuroprotective effects via anti-apoptosis in hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Korean J Pediatr*. 2009; 52:1337.
- Jespersgaard C, Bertelsen M, Arif F, Gellert-Kristensen HG, Fang M, Jensen H, Rosenberg T, Tümer Z, Møller LB, Brøndum-Nielsen K, Grønskov K. Bi-Allelic Pathogenic Variations in *MERTK* Including Deletions Are Associated with an Early Onset Progressive Form of Retinitis Pigmentosa. *Genes (Basel)*. 2020 Dec 18;11(12):1517. doi: 10.3390/genes11121517.
- Jonas JB, Schmidt AM, Müller-Bergh JA, Schlötzer-Schrehardt UM, Naumann GO. Human optic nerve fiber count and optic disc size. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1992 May;33(6):2012-8.
- Jonas RA, Yuan TF, Liang YX, Jonas JB, Tay DK, Ellis-Behnke RG. The spider effect: morphological and orienting classification of microglia in response to stimuli in vivo. *PLoS One*. 2012;7(2):e30763. doi: 10.1371/journal.pone.0030763.
- Jones BW, Kondo M, Terasaki H, Lin Y, McCall M, Marc RE. Retinal remodeling. *Jpn J Ophthalmol*. 2012 Jul;56(4):289-306. doi: 10.1007/s10384-012-0147-2.
- Jones BW, Marc RE. Retinal remodeling during retinal degeneration. *Exp Eye Res*. 2005 Aug;81(2):123-37. doi: 10.1016/j.exer.2005.03.006.
- Jones BW, Pfeiffer RL, Ferrell WD, Watt CB, Marmor M, Marc RE. Retinal remodeling in human retinitis pigmentosa. *Exp Eye Res*. 2016 Sep;150:149-65. doi: 10.1016/j.exer.2016.03.018.
- Jones BW, Watt CB, Frederick JM, Baehr W, Chen CK, Levine EM, Milam AH, Lavail MM, Marc RE. Retinal remodeling triggered by photoreceptor degenerations. *J Comp Neurol*. 2003 Sep 8;464(1):1-16. doi: 10.1002/cne.10703.

Jones DP. Redefining oxidative stress. *Antioxid Redox Signal*. 2006 Sep-Oct;8(9-10):1865-79. doi: 10.1089/ars.2006.8.1865.

Jones MK, Lu B, Girman S, Wang S. Cell-based therapeutic strategies for replacement and preservation in retinal degenerative diseases. *Prog Retin Eye Res*. 2017 May;58:1-27. doi: 10.1016/j.preteyeres.2017.01.004.

Jong CJ, Sandal P, Schaffer SW. The Role of Taurine in Mitochondria Health: More Than Just an Antioxidant. *Molecules*. 2021 Aug 13;26(16):4913. doi: 10.3390/molecules26164913.

Jordan SA, Farrar GJ, Kenna P, Humphries MM, Sheils DM, Kumar-Singh R, Sharp EM, Soriano N, Ayuso C, Benitez J, et al. Localization of an autosomal dominant retinitis pigmentosa gene to chromosome 7q. *Nat Genet*. 1993 May;4(1):54-8. doi: 10.1038/ng0593-54.

K

Kaczara P, Zaręba M, Herrnreiter A, Skumatz CM, Ządło A, Sarna T, Burke JM. Melanosome-iron interactions within retinal pigment epithelium-derived cells. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2012 Nov;25(6):804-14. doi: 10.1111/pcmr.12008.

Kalloniatis M, Nivison-Smith L, Chua J, Acosta ML, Fletcher EL. Using the rd1 mouse to understand functional and anatomical retinal remodelling and treatment implications in retinitis pigmentosa: A review. *Exp Eye Res*. 2016 Sep;150:106-21. doi: 10.1016/j.exer.2015.10.019.

Kanamori A, Nakamura M, Nakanishi Y, Yamada Y, Negi A. Long-term glial reactivity in rat retinas ipsilateral and contralateral to experimental glaucoma. *Exp Eye Res*. 2005 Jul;81(1):48-56. doi: 10.1016/j.exer.2005.01.012.

Karnas D, Mordel J, Bonnet D, Pévet P, Hicks D, Meissl H. Heterogeneity of intrinsically photosensitive retinal ganglion cells in the mouse revealed by molecular phenotyping. *J Comp Neurol*. 2013 Mar 1;521(4):912-32. doi: 10.1002/cne.23210.

Kaushal S, Khorana HG. Structure and function in rhodopsin. 7. Point mutations associated with autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Biochemistry*. 1994 May 24;33(20):6121-8. doi: 10.1021/bi00186a011.

Kettenmann H, Kirchhoff F, Verkhratsky A. Microglia: new roles for the synaptic stripper. *Neuron*. 2013 Jan 9;77(1):10-8. doi: 10.1016/j.neuron.2012.12.023.

- Kevany BM, Palczewski K. Phagocytosis of retinal rod and cone photoreceptors. *Physiology* (Bethesda). 2010 Feb;25(1):8-15. doi: 10.1152/physiol.00038.2009.
- Khorana HG. Rhodopsin, photoreceptor of the rod cell. An emerging pattern for structure and function. *J Biol Chem*. 1992 Jan 5;267(1):1-4. PMID: 1730574.
- Kilb W. Putative Role of Taurine as Neurotransmitter During Perinatal Cortical Development. *Adv Exp Med Biol*. 2017;975 Pt 1:281-292. doi: 10.1007/978-94-024-1079-2_25.
- Kim GH, Kim HI, Paik SS, Jung SW, Kang S, Kim IB. Functional and morphological evaluation of blue light-emitting diode-induced retinal degeneration in mice. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2016 Apr;254(4):705-16. doi: 10.1007/s00417-015-3258-x.
- Kim US, Mahroo OA, Mollon JD, Yu-Wai-Man P. Retinal Ganglion Cells-Diversity of Cell Types and Clinical Relevance. *Front Neurol*. 2021 May 21;12:661938. doi: 10.3389/fneur.2021.661938.
- Kindzelskii AL, Elner VM, Elner SG, Yang D, Hughes BA, Petty HR. Human, but not bovine, photoreceptor outer segments prime human retinal pigment epithelial cells for metabolic activation and massive oxidant release in response to lipopolysaccharide and interferon-gamma. *Exp Eye Res*. 2004 Sep;79(3):431-5. doi: 10.1016/j.exer.2004.06.005.
- Kjellström U, Andréasson S, Ponjavic V. Attenuation of the retinal nerve fibre layer and reduced retinal function assessed by optical coherence tomography and full-field electroretinography in patients exposed to vigabatrin medication. *Acta Ophthalmol*. 2014 Mar;92(2):149-57. doi: 10.1111/aos.12030.
- Koch S, Sothilingam V, Garcia Garrido M, Tanimoto N, Becirovic E, Koch F, Seide C, Beck SC, Seeliger MW, Biel M, Mühlfriedel R, Michalakis S. Gene therapy restores vision and delays degeneration in the CNGB1(-/-) mouse model of retinitis pigmentosa. *Hum Mol Genet*. 2012 Oct 15;21(20):4486-96. doi: 10.1093/hmg/dds290.
- Kong JH, Fish DR, Rockhill RL, Masland RH. Diversity of ganglion cells in the mouse retina: unsupervised morphological classification and its limits. *J Comp Neurol*. 2005 Aug 29;489(3):293-310. doi: 10.1002/cne.20631.
- Krieger B, Qiao M, Rousso DL, Sanes JR, Meister M. Four alpha ganglion cell types in mouse retina: Function, structure, and molecular signatures. *PLoS One*. 2017 Jul 28;12(7):e0180091. doi: 10.1371/journal.pone.0180091.
- Krigel A, Berdugo M, Picard E, Levy-Boukris R, Jaadane I, Jonet L, Dernigoghossian M, Andrieu-Soler C, Torriglia A, Behar-Cohen F. Light-induced retinal damage using different light sources,

protocols and rat strains reveals LED phototoxicity. *Neuroscience*. 2016 Dec 17;339:296-307. doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.10.015.

Kumar A, Mallick BN. Long-term primary culture of neurons taken from chick embryo brain: A model to study neural cell biology, synaptogenesis and its dynamic properties. *J Neurosci Methods*. 2016 Apr 1;263:123-33. doi: 10.1016/j.jneumeth.2016.02.008.

L

Lake N, Malik N, De Marte L. Taurine depletion leads to loss of rat optic nerve axons. *Vision Res*. 1988;28(10):1071-6. doi: 10.1016/0042-6989(88)90133-2.

Lake N, Malik N. Retinal morphology in rats treated with a taurine transport antagonist. *Exp Eye Res*. 1987 Mar;44(3):331-46. doi: 10.1016/s0014-4835(87)80169-0.

Lakkaraju A, Umapathy A, Tan LX, Daniele L, Philp NJ, Boesze-Battaglia K, Williams DS. The cell biology of the retinal pigment epithelium. *Prog Retin Eye Res*. 2020 Feb 24:100846. doi: 10.1016/j.preteyeres.2020.100846.

Lamb TD, Pugh EN Jr. Dark adaptation and the retinoid cycle of vision. *Prog Retin Eye Res*. 2004 May;23(3):307-80. doi: 10.1016/j.preteyeres.2004.03.001.

Lambuk L, Iezhitsa I, Agarwal R, Bakar NS, Agarwal P, Ismail NM. Antiapoptotic effect of taurine against NMDA-induced retinal excitotoxicity in rats. *Neurotoxicology*. 2019 Jan;70:62-71. doi: 10.1016/j.neuro.2018.10.009.

Lana D, Ugolini F, Nosi D, Wenk GL, Giovannini MG. The Emerging Role of the Interplay Among Astrocytes, Microglia, and Neurons in the Hippocampus in Health and Disease. *Front Aging Neurosci*. 2021 Apr 6;13:651973. doi: 10.3389/fnagi.2021.651973.

LaVail MM, Gorrin GM. Protection from light damage by ocular pigmentation: analysis using experimental chimeras and translocation mice. *Exp Eye Res*. 1987 Jun;44(6):877-89. doi: 10.1016/s0014-4835(87)80050-7.

LaVail MM, Yasumura D, Matthes MT, Drenser KA, Flannery JG, Lewin AS, Hauswirth WW. Ribozyme rescue of photoreceptor cells in P23H transgenic rats: long-term survival and late-stage therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 Oct 10;97(21):11488-93. doi: 10.1073/pnas.210319397.

- LaVail MM. Legacy of the RCS rat: impact of a seminal study on retinal cell biology and retinal degenerative diseases. *Prog Brain Res.* 2001;131:617-27. doi: 10.1016/s0079-6123(01)31048-8.
- Leon R, Wu H, Jin Y, Wei J, Buddhala C, Prentice H, Wu JY. Protective function of taurine in glutamate-induced apoptosis in cultured neurons. *J Neurosci Res.* 2009 Apr;87(5):1185-94. doi: 10.1002/jnr.21926.
- Léveillard T, Mohand-Saïd S, Lorentz O, Hicks D, Fintz AC, Clérin E, Simonutti M, Forster V, Cavusoglu N, Chalmel F, Dollé P, Poch O, Lambrou G, Sahel JA. Identification and characterization of rod-derived cone viability factor. *Nat Genet.* 2004 Jul;36(7):755-9. doi: 10.1038/ng1386.
- Levin R, Grinstein S, Canton J. The life cycle of phagosomes: formation, maturation, and resolution. *Immunol Rev.* 2016 Sep;273(1):156-79. doi: 10.1111/imr.12439.
- Lewandowski MH, Usarek A. Effects of intergeniculate leaflet lesions on circadian rhythms in the mouse. *Behav Brain Res.* 2002 Jan 7;128(1):13-7. doi: 10.1016/s0166-4328(01)00264-9.
- Lewin AS, Drenser KA, Hauswirth WW, Nishikawa S, Yasumura D, Flannery JG, LaVail MM. Ribozyme rescue of photoreceptor cells in a transgenic rat model of autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Nat Med.* 1998 Aug;4(8):967-71. doi: 10.1038/nm0898-967. Erratum in: *Nat Med* 1998 Sep;4(9):1081.
- Li F, Jiang D, Samuel MA. Microglia in the developing retina. *Neural Dev.* 2019 Dec 30;14(1):12. doi: 10.1186/s13064-019-0137-x.
- Li J, Yu S, Lu X, Cui K, Tang X, Xu Y, Liang X. The phase changes of M1/M2 phenotype of microglia/macrophage following oxygen-induced retinopathy in mice. *Inflamm Res.* 2021 Feb;70(2):183-192. doi: 10.1007/s00011-020-01427-w.
- Li LX, Turner JE. Inherited retinal dystrophy in the RCS rat: prevention of photoreceptor degeneration by pigment epithelial cell transplantation. *Exp Eye Res.* 1988 Dec;47(6):911-7. doi: 10.1016/0014-4835(88)90073-5.
- Li N, Li XR, Yuan JQ. Effects of bone-marrow mesenchymal stem cells transplanted into vitreous cavity of rat injured by ischemia/reperfusion. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2009 Apr;247(4):503-14. doi: 10.1007/s00417-008-1009-y.
- Liew G, Michaelides M, Bunce C. A comparison of the causes of blindness certifications in England and Wales in working age adults (16-64 years), 1999-2000 with 2009-2010. *BMJ Open.* 2014; 4:e004015.

Lim R. Concise Review: Fetal Membranes in Regenerative Medicine: New Tricks from an Old Dog? *Stem Cells Transl Med.* 2017 Sep;6(9):1767-1776. doi: 10.1002/sctm.16-0447.

Lin CH, Wu MR, Huang WJ, Chow DS, Hsiao G, Cheng YW. Low-Luminance Blue Light-Enhanced Phototoxicity in A2E-Laden RPE Cell Cultures and Rats. *Int J Mol Sci.* 2019 Apr 11;20(7):1799. doi: 10.3390/ijms20071799.

Linden R, Perry VH. Massive retinotectal projection in rats. *Brain Res.* 1983 Aug 1;272(1):145-9. doi: 10.1016/0006-8993(83)90371-2.

Liu F, Liu X, Zhou Y, Yu Y, Wang K, Zhou Z, Gao H, So KF, Vardi N, Xu Y. Wolfberry-derived zeaxanthin dipalmitate delays retinal degeneration in a mouse model of retinitis pigmentosa through modulating STAT3, CCL2 and MAPK pathways. *J Neurochem.* 2021 Sep;158(5):1131-1150. doi: 10.1111/jnc.15472.

Liu QR, López-Corcuera B, Nelson H, Mandiyan S, Nelson N. Cloning and expression of a cDNA encoding the transporter of taurine and beta-alanine in mouse brain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992 Dec 15;89(24):12145-9. doi: 10.1073/pnas.89.24.12145.

Liu ZL, Chen HH, Zheng LL, Sun LP, Shi L. Angiogenic signaling pathways and anti-angiogenic therapy for cancer. *Signal Transduct Target Ther.* 2023 May 11;8(1):198. doi: 10.1038/s41392-023-01460-1.

Lledó-Riquelme M, Campos-Mollo E, Cuenca N. 2010. La transducción visual. 18(3), 130-136.

Lööv C, Mitchell CH, Simonsson M, Erlandsson A. Slow degradation in phagocytic astrocytes can be enhanced by lysosomal acidification. *Glia.* 2015 Nov;63(11):1997-2009. doi: 10.1002/glia.22873.

Lu B, Wang S, Girman S, McGill T, Ragaglia V, Lund R. Human adult bone marrow-derived somatic cells rescue vision in a rodent model of retinal degeneration. *Exp Eye Res.* 2010 Sep;91(3):449-55. doi: 10.1016/j.exer.2010.06.024.

Luna G, Lewis GP, Banna CD, Skalli O, Fisher SK. Expression profiles of nestin and synemin in reactive astrocytes and Müller cells following retinal injury: a comparison with glial fibrillar acidic protein and vimentin. *Mol Vis.* 2010 Nov 27;16:2511-23.

Lund RD. Synaptic patterns of the superficial layers of the superior colliculus of the rat. *J Comp Neurol.* 1969 Feb;135(2):179-208. doi: 10.1002/cne.901350205.

Lund RD. Uncrossed Visual Pathways of Hooded and Albino Rats. *Science*. 1965 Sep 24;149(3691):1506-7. doi: 10.1126/science.149.3691.1506.

M

Ma J, Yang Z, Jia S, Yang R. A systematic review of preclinical studies on the taurine role during diabetic nephropathy: focused on anti-oxidative, anti-inflammation, and anti-apoptotic effects. *Toxicol Mech Methods*. 2022 Jul;32(6):420-430. doi: 10.1080/15376516.2021.2021579.

Machida S, Kondo M, Jamison JA, Khan NW, Kononen LT, Sugawara T, Bush RA, Sieving PA. P23H rhodopsin transgenic rat: correlation of retinal function with histopathology. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000 Sep;41(10):3200-9.

Mackay MT, Weiss SK, Adams-Webber T, Ashwal S, Stephens D, Ballaban-Gill K, Baram TZ, Duchowny M, Hirtz D, Pellock JM, Shields WD, Shinnar S, Wyllie E, Snead OC 3rd; American Academy of Neurology; Child Neurology Society. Practice parameter: medical treatment of infantile spasms: report of the American Academy of Neurology and the Child Neurology Society. *Neurology*. 2004 May 25;62(10):1668-81. doi: 10.1212/01.wnl.0000127773.72699.c8.

Madeira MH, Boia R, Santos PF, Ambrósio AF, Santiago AR. Contribution of microglia-mediated neuroinflammation to retinal degenerative diseases. *Mediators Inflamm*. 2015;2015:673090. doi: 10.1155/2015/673090.

Malhotra H, Barnes CL, Calvert PD. Functional compartmentalization of photoreceptor neurons. *Pflugers Arch*. 2021 Sep;473(9):1493-1516. doi: 10.1007/s00424-021-02558-7.

Maloney MH, Payne SR, Herrin J, Sangaralingham LR, Shah ND, Barkmeier AJ. Risk of Systemic Adverse Events after Intravitreal Bevacizumab, Ranibizumab, and Aflibercept in Routine Clinical Practice. *Ophthalmology*. 2021 Mar;128(3):417-424. doi: 10.1016/j.ophtha.2020.07.062.

Mantegazza AR, Magalhaes JG, Amigorena S, Marks MS. Presentation of phagocytosed antigens by MHC class I and II. *Traffic*. 2013 Feb;14(2):135-52. doi: 10.1111/tra.12026.

Marc RE, Jones BW, Anderson JR, Kinard K, Marshak DW, Wilson JH, Wensel T, Lucas RJ. Neural reprogramming in retinal degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007 Jul;48(7):3364-71. doi: 10.1167/iovs.07-0032.

Marc RE, Jones BW, Watt CB, Strettoi E. Neural remodeling in retinal degeneration. *Prog Retin Eye Res*. 2003 Sep;22(5):607-55. doi: 10.1016/s1350-9462(03)00039-9.

Marc RE, Jones BW, Watt CB, Vazquez-Chona F, Vaughan DK, Organisciak DT. Extreme retinal remodeling triggered by light damage: implications for age related macular degeneration. *Mol Vis*. 2008 Apr 25;14:782-806.

Marco-Gomariz MA, Hurtado-Montalbán N, Vidal-Sanz M, Lund RD, Villegas-Pérez MP. Phototoxic-induced photoreceptor degeneration causes retinal ganglion cell degeneration in pigmented rats. *J Comp Neurol*. 2006 Sep 10;498(2):163-79. doi: 10.1002/cne.21028.

Martínez-Vacas A, Di Pierdomenico J, Gallego-Ortega A, Valiente-Soriano FJ, Vidal-Sanz M, Picaud S, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Systemic taurine treatment affords functional and morphological neuroprotection of photoreceptors and restores retinal pigment epithelium function in RCS rats. *Redox Biol*. 2022 Nov;57:102506. doi: 10.1016/j.redox.2022.102506.

Martínez-Vacas A, Di Pierdomenico J, Valiente-Soriano FJ, Vidal-Sanz M, Picaud S, Villegas-Pérez MP, García-Ayuso D. Glial Cell Activation and Oxidative Stress in Retinal Degeneration Induced by β -Alanine Caused Taurine Depletion and Light Exposure. *Int J Mol Sci*. 2021 Dec 29;23(1):346. doi: 10.3390/ijms23010346.

Matthews MM, Traut TW. Regulation of N-carbamoyl-beta-alanine amidohydrolase, the terminal enzyme in pyrimidine catabolism, by ligand-induced change in polymerization. *J Biol Chem*. 1987 May 25;262(15):7232-7.

Matsuda M, Krempel PG, Marquezini MV, Sholl-Franco A, Lameu A, Monteiro MLR, Miguel NCO. Cellular stress response in human Müller cells (MIO-M1) after bevacizumab treatment. *Exp Eye Res*. 2017 Jul;160:1-10. doi: 10.1016/j.exer.2017.04.005.

Maughan RJ, Greenhaff PL, Hespel P. Dietary supplements for athletes: emerging trends and recurring themes. *J Sports Sci*. 2011;29 Suppl 1:S57-66. doi: 10.1080/02640414.2011.587446.

Maw MA, Kennedy B, Knight A, Bridges R, Roth KE, Mani EJ, Mukkadan JK, Nancarrow D, Crabb JW, Denton MJ. Mutation of the gene encoding cellular retinaldehyde-binding protein in autosomal recessive retinitis pigmentosa. *Nat Genet*. 1997 Oct;17(2):198-200. doi: 10.1038/ng1097-198.

McBee JK, Palczewski K, Baehr W, Pepperberg DR. Confronting complexity: the interlink of phototransduction and retinoid metabolism in the vertebrate retina. *Prog Retin Eye Res*. 2001 Jul;20(4):469-529. doi: 10.1016/s1350-9462(01)00002-7.

McLaughlin ME, Sandberg MA, Berson EL, Dryja TP. Recessive mutations in the gene encoding the beta-subunit of rod phosphodiesterase in patients with retinitis pigmentosa. *Nat Genet.* 1993 Jun;4(2):130-4. doi: 10.1038/ng0693-130.

Megaw RD, Soares DC, Wright AF. RPGR: Its role in photoreceptor physiology, human disease, and future therapies. *Exp Eye Res.* 2015 Sep;138:32-41. doi: 10.1016/j.exer.2015.06.007.

Michalakakis S, Koch S, Sothilingam V, Garcia Garrido M, Tanimoto N, Schulze E, Becirovic E, Koch F, Seide C, Beck SC, Seeliger MW, Mühlfriedel R, Biel M. Gene therapy restores vision and delays degeneration in the CNGB1(-/-) mouse model of retinitis pigmentosa. *Adv Exp Med Biol.* 2014;801:733-9. doi: 10.1007/978-1-4614-3209-8_92.

Militante J, Lombardini JB. Age-related retinal degeneration in animal models of aging: possible involvement of taurine deficiency and oxidative stress. *Neurochem Res.* 2004 Jan;29(1):151-60. doi: 10.1023/b:nere.0000010444.97959.1b.

Miller DA, Grannonico M, Liu M, Kuranov RV, Netland PA, Liu X, Zhang HF. Visible-Light Optical Coherence Tomography Fibergraphy for Quantitative Imaging of Retinal Ganglion Cell Axon Bundles. *Transl Vis Sci Technol.* 2020 Oct 9;9(11):11. doi: 10.1167/tvst.9.11.11.

Miller GD, Abu-Qamar O, Salim S. Evaluation of Retinal Nerve Fiber Layer, Ganglion Cell-Inner Plexiform Layer, and Optic Nerve Head in Glaucoma Suspects With Varying Myopia. *J Glaucoma.* 2021 May 1;30(5):e213-e221. doi: 10.1097/IJG.0000000000001834.

Miller RA, Oseroff AR, Stratte PT, Levy R. Monoclonal antibody therapeutic trials in seven patients with T-cell lymphoma. *Blood.* 1983 Nov;62(5):988-95.

Moisseiev E, Smit-McBride Z, Oltjen S, Zhang P, Zawadzki RJ, Motta M, Murphy CJ, Cary W, Annett G, Nolta JA, Park SS. Intravitreal Administration of Human Bone Marrow CD34+ Stem Cells in a Murine Model of Retinal Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016 Aug 1;57(10):4125-35. doi: 10.1167/iovs.16-19252.

Moja L, Lucenteforte E, Kwag KH, Bertele V, Campomori A, Chakravarthy U, D'Amico R, Dickersin K, Kodjikian L, Lindsley K, Loke Y, Maguire M, Martin DF, Mugelli A, Mühlbauer B, Püntmann I, Reeves B, Rogers C, Schmucker C, Subramanian ML, Virgili G. Systemic safety of bevacizumab versus ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014 Sep 15;9(9):CD011230. doi: 10.1002/14651858.CD011230.pub2.

Molday RS. (2004). Molecular Organization of Rod Outer Segments. In *Photoreceptor Cell. Biology and Inherited Retinal Degenerations* (pp. 259–300). WORLD SCIENTIFIC. doi: 10.1142/9789812561756_0011.

Moon J, Yun J, Yoon YD, Park SI, Seo YJ, Park WS, Chu HY, Park KH, Lee MY, Lee CW, Oh SJ, Kwak YS, Jang YP, Kang JS. Blue light effect on retinal pigment epithelial cells by display devices. *Integr Biol (Camb)*. 2017 May 22;9(5):436-443. doi: 10.1039/c7ib00032d.

Morrison PW, Khutoryanskiy VV. Advances in ophthalmic drug delivery. *Ther Deliv*. 2014 Dec;5(12):1297-315. doi: 10.4155/tde.14.75.

Mure LS. Intrinsically Photosensitive Retinal Ganglion Cells of the Human Retina. *Front Neurol*. 2021 Mar 25;12:636330. doi: 10.3389/fneur.2021.636330.

Mustafi D, Engel AH, Palczewski K. Structure of cone photoreceptors. *Prog Retin Eye Res*. 2009 Jul;28(4):289-302. doi: 10.1016/j.preteyeres.2009.05.003.

N

Na KH, Kim HJ, Kim KH, Han S, Kim P, Hann HJ, Ahn HS. Prevalence, Age at Diagnosis, Mortality, and Cause of Death in Retinitis Pigmentosa in Korea-A Nationwide Population-based Study. *Am J Ophthalmol*. 2017 Apr;176:157-165. doi: 10.1016/j.ajo.2017.01.014.

Nadal-Nicolás FM, Galindo-Romero C, Lucas-Ruiz F, Marsh-Amstrong N, Li W, Vidal-Sanz M, Agudo-Barriuso M. Pan-retinal ganglion cell markers in mice, rats, and rhesus macaques. *Zool Res*. 2023 Jan 18;44(1):226-248. doi: 10.24272/j.issn.2095-8137.2022.308.

Nadal-Nicolás FM, Jiménez-López M, Salinas-Navarro M, Sobrado-Calvo P, Vidal-Sanz M, Agudo-Barriuso M. Microglial dynamics after axotomy-induced retinal ganglion cell death. *J Neuroinflammation*. 2017 Nov 9;14(1):218. doi: 10.1186/s12974-017-0982-7.

Nadal-Nicolás FM, Salinas-Navarro M, Jiménez-López M, Sobrado-Calvo P, Villegas-Pérez MP, Vidal-Sanz M, Agudo-Barriuso M. Displaced retinal ganglion cells in albino and pigmented rats. *Front Neuroanat*. 2014 Oct 6;8:99. doi: 10.3389/fnana.2014.00099.

Nadal-Nicolás FM, Sobrado-Calvo P, Jiménez-López M, Vidal-Sanz M, Agudo-Barriuso M. Long-Term Effect of Optic Nerve Axotomy on the Retinal Ganglion Cell Layer. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015 Sep;56(10):6095-112. doi: 10.1167/iovs.15-17195. Erratum in: *Invest Ophthalmol Vis*

Sci. 2016 Mar;57(3):1270. doi: 10.1167/iovs.15-17195a. Erratum in: Invest Ophthalmol Vis Sci. 2016 Apr 1;57(4):1960. doi: 10.1167/iovs.15-17195b.

Nandrot EF, Anand M, Almeida D, Atabai K, Sheppard D, Finnemann SC. Essential role for MFG-E8 as ligand for α v β 5 integrin in diurnal retinal phagocytosis. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 Jul 17;104(29):12005-10. doi: 10.1073/pnas.0704756104. Epub 2007 Jul 9. PMID: 17620600; PMCID: PMC1924559.

Nandrot EF, Kim Y, Brodie SE, Huang X, Sheppard D, Finnemann SC. Loss of synchronized retinal phagocytosis and age-related blindness in mice lacking α v β 5 integrin. J Exp Med. 2004 Dec 20;200(12):1539-45. doi: 10.1084/jem.20041447. Epub 2004 Dec 13. PMID: 15596525; PMCID: PMC2211990.

Nandrot EF, Silva KE, Scelfo C, Finnemann SC. Retinal pigment epithelial cells use a MerTK-dependent mechanism to limit the phagocytic particle binding activity of α v β 5 integrin. Biol Cell. 2012 Jun;104(6):326-41. doi: 10.1111/boc.201100076.

Narasimhan I, Murali A, Subramanian K, Ramalingam S, Parameswaran S. Autosomal dominant retinitis pigmentosa with toxic gain of function: Mechanisms and therapeutics. Eur J Ophthalmol. 2021 Mar;31(2):304-320. doi: 10.1177/1120672120957605.

Neira-Gómez JP, Marín-Castro MJ, Guerra-Espinosa V, Salazar-Grisales A, Henao-Villada A, Carvajal-Fernández Julián, Suárez-Escudero JC. Functional and clinical anatomy of the visual system: An update with emphasis on the visual pathway and cortex. Rev Mex Oftalmol. 2022;96(2). doi: 10.24875/RMO.M22000218.

Nelson R. Cat cones have rod input: a comparison of the response properties of cones and horizontal cell bodies in the retina of the cat. J Comp Neurol. 1977 Mar 1;172(1):109-35. doi: 10.1002/cne.901720106.

Neog MK, Chung H, Jang MJ, Kim DJ, Lee SH, Kim KS. Effect of Aging on Taurine Transporter (TauT) Expression in the Mouse Brain Cortex. Adv Exp Med Biol. 2019;1155:3-11. doi: 10.1007/978-981-13-8023-5_1.

Neuringer M, Sturman J. Visual acuity loss in rhesus monkey infants fed a taurine-free human infant formula. J Neurosci Res. 1987;18(4):597-601. doi: 10.1002/jnr.490180413.

Newton F, Megaw R. Mechanisms of Photoreceptor Death in Retinitis Pigmentosa. Genes (Basel). 2020 Sep 24;11(10):1120. doi: 10.3390/genes11101120.

Nguyen QT, Thanh LN, Hoang VT, Phan TTK, Heke M, Hoang DM. Bone Marrow-Derived Mononuclear Cells in the Treatment of Neurological Diseases: Knowns and Unknowns. *Cell Mol Neurobiol*. 2023 Oct;43(7):3211-3250. doi: 10.1007/s10571-023-01377-x.

Nguyen Thanh L, Nguyen HP, Ngo MD, Bui VA, Dam PTM, Bui HTP, Ngo DV, Tran KT, Dang TTT, Duong BD, Nguyen PAT, Forsyth N, Heke M. Outcomes of bone marrow mononuclear cell transplantation combined with interventional education for autism spectrum disorder. *Stem Cells Transl Med*. 2021 Jan;10(1):14-26. doi: 10.1002/sctm.20-0102. Epub 2020 Sep 9. Erratum in: *Stem Cells Transl Med*. 2021 Dec;10(12):1721. doi: 10.1002/sct3.13043.

Nita M, Grzybowski A. The Role of the Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in the Pathomechanism of the Age-Related Ocular Diseases and Other Pathologies of the Anterior and Posterior Eye Segments in Adults. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:3164734. doi: 10.1155/2016/3164734.

Noailles A, Fernández-Sánchez L, Lax P, Cuenca N. Microglia activation in a model of retinal degeneration and TUDCA neuroprotective effects. *J Neuroinflammation*. 2014 Oct 29;11:186. doi: 10.1186/s12974-014-0186-3.

Noell, V. (1966). Retinal damage by light in rats. *Invest Ophthalmol.*, 5(5), 450–473.

Nor Arfuzir NN, Agarwal R, Iezhitsa I, Agarwal P, Sidek S, Ismail NM. Taurine protects against retinal and optic nerve damage induced by endothelin-1 in rats *via* antioxidant effects. *Neural Regen Res*. 2018 Nov;13(11):2014-2021. doi: 10.4103/1673-5374.239450.

Novack GD. and Robin AL. (2016). Ocular pharmacology. *J Clin Pharmacol* 56(5): 517-52

O

O'Hagan JB, Khazova M, Price LL. Low-energy light bulbs, computers, tablets and the blue light hazard. *Eye (Lond)*. 2016 Feb;30(2):230-3. doi: 10.1038/eye.2015.261.

Ogino N, Matsumura M, Shirakawa H, Tsukahara I. Phagocytic activity of cultured retinal pigment epithelial cells from chick embryo: inhibition by melatonin and cyclic AMP, and its reversal by taurine and cyclic GMP. *Ophthalmic Res*. 1983;15(2):72-89. doi: 10.1159/000265239.

Ohm J. Über die Behandlung der Netzhautablosung durch operative Entleerung der subretinalen Flüssigkeit und Ein-spritzung von Luft in den Glasskörper. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2011 79:442–450.

Okada M, Okuma Y, Osumi Y, Nishihara M, Yokotani K, Ueno H. Neurotransmitter contents in the retina of RCS rat. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2000 Dec;238(12):998-1001. doi: 10.1007/s004170000215.

Olsson JE, Gordon JW, Pawlyk BS, Roof D, Hayes A, Molday RS, Mukai S, Cowley GS, Berson EL, Dryja TP. Transgenic mice with a rhodopsin mutation (Pro23His): a mouse model of autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Neuron*. 1992 Nov;9(5):815-30. doi: 10.1016/0896-6273(92)90236-7.

Organisciak DT, Vaughan DK. Retinal light damage: mechanisms and protection. *Prog Retin Eye Res*. 2010 Mar;29(2):113-34. doi: 10.1016/j.preteyeres.2009.11.004.

Orhan E, Dalkara D, Neuillé M, Lechauve C, Michiels C, Picaud S, Lévillard T, Sahel JA, Naash MI, Lavail MM, Zeitz C, Audo I. Genotypic and phenotypic characterization of P23H line 1 rat model. *PLoS One*. 2015 May 26;10(5):e0127319. doi: 10.1371/journal.pone.0127319.

Orihuela R, McPherson CA, Harry GJ. Microglial M1/M2 polarization and metabolic states. *Br J Pharmacol*. 2016 Feb;173(4):649-65. doi: 10.1111/bph.13139. Epub 2015 May 11.

Ortín-Martínez A, Jiménez-López M, Nadal-Nicolás FM, Salinas-Navarro M, Alarcón-Martínez L, Sauvé Y, Villegas-Pérez MP, Vidal-Sanz M, Agudo-Barriuso M. Automated quantification and topographical distribution of the whole population of S- and L-cones in adult albino and pigmented rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010 Jun;51(6):3171-83. doi: 10.1167/iovs.09-4861.

Ortín-Martínez A, Nadal-Nicolás FM, Jiménez-López M, Albuquerque-Béjar JJ, Nieto-López L, García-Ayuso D, Villegas-Pérez MP, Vidal-Sanz M, Agudo-Barriuso M. Number and distribution of mouse retinal cone photoreceptors: differences between an albino (Swiss) and a pigmented (C57/BL6) strain. *PLoS One*. 2014a Jul 16;9(7):e102392. doi: 10.1371/journal.pone.0102392.

Ortín-Martínez A, Tsai EL, Nickerson PE, Bergeret M, Lu Y, Smiley S, Comanita L, Wallace VA. A Reinterpretation of Cell Transplantation: GFP Transfer From Donor to Host Photoreceptors. *Stem Cells*. 2017 Apr;35(4):932-939. doi: 10.1002/stem.2552.

Ortín-Martínez A, Tsai EL, Nickerson PE, Bergeret M, Lu Y, Smiley S, Comanita L, Wallace VA. A Reinterpretation of Cell Transplantation: GFP Transfer From Donor to Host Photoreceptors. *Stem Cells*. 2017 Apr;35(4):932-939. doi: 10.1002/stem.2552.

Ortín-Martínez A, Valiente-Soriano FJ, García-Ayuso D, Alarcón-Martínez L, Jiménez-López M, Bernal-Garro JM, Nieto-López L, Nadal-Nicolás FM, Villegas-Pérez MP, Wheeler LA, Vidal-Sanz M. A novel in vivo model of focal light emitting diode-induced cone-photoreceptor

phototoxicity: neuroprotection afforded by brimonidine, BDNF, PEDF or bFGF. *PLoS One*. 2014b Dec 2;9(12):e113798. doi: 10.1371/journal.pone.0113798.

Ortin-Martinez A, Yan NE, Tsai ELS, Comanita L, Gurdita A, Tachibana N, Liu ZC, Lu S, Dolati P, Pokrajac NT, El-Sehemy A, Nickerson PEB, Schuurmans C, Bremner R, Wallace VA. Photoreceptor nanotubes mediate the in vivo exchange of intracellular material. *EMBO J*. 2021 Nov 15;40(22):e107264. doi: 10.15252/embj.2020107264.

Osigian CJ, Grace S, Fernandez MP, Ventura CV, Azar S, Chang TC, Hodapp E, Dubovy SR, Berrocal A. Retinal pigment epithelium changes in pediatric patients with glaucoma drainage devices. *Am J Ophthalmol Case Rep*. 2017 Dec 15;9:23-27. doi: 10.1016/j.ajoc.2017.12.001.

Otani A, Dorrell MI, Kinder K, Moreno SK, Nusinowitz S, Banin E, Heckenlively J, Friedlander M. Rescue of retinal degeneration by intravitreally injected adult bone marrow-derived lineage-negative hematopoietic stem cells. *J Clin Invest*. 2004 Sep;114(6):765-74. doi: 10.1172/JCI21686.

Ozaki H, Seo MS, Ozaki K, Yamada H, Yamada E, Okamoto N, Hofmann F, Wood JM, Campochiaro PA. Blockade of vascular endothelial cell growth factor receptor signaling is sufficient to completely prevent retinal neovascularization. *Am J Pathol*. 2000 Feb;156(2):697-707. doi: 10.1016/S0002-9440(10)64773-6.

P

Panagis L, Thanos S, Fischer D, Dermon CR. Unilateral optic nerve crush induces bilateral retinal glial cell proliferation. *Eur J Neurosci*. 2005 Apr;21(8):2305-9. doi: 10.1111/j.1460-9568.2005.04046.x.

Paolicelli RC, Sierra A, Stevens B, Tremblay ME, Aguzzi A, Ajami B, Amit I, Audinat E, Bechmann I, Bennett M, Bennett F, Bessis A, Biber K, Bilbo S, Blurton-Jones M, Boddeke E, Brites D, Brône B, Brown GC, Butovsky O, Carson MJ, Castellano B, Colonna M, Cowley SA, Cunningham C, Davalos D, De Jager PL, de Strooper B, Denes A, Eggen BJL, Eyo U, Galea E, Garel S, Ginhoux F, Glass CK, Gokce O, Gomez-Nicola D, González B, Gordon S, Graeber MB, Greenhalgh AD, Gressens P, Greter M, Gutmann DH, Haass C, Heneka MT, Heppner FL, Hong S, Hume DA, Jung S, Kettenmann H, Kipnis J, Koyama R, Lemke G, Lynch M, Majewska A, Malcangio M, Malm T, Mancuso R, Masuda T, Matteoli M, McColl BW, Miron VE, Molofsky AV, Monje M, Mracsko E, Nadjar A, Neher JJ, Neniskyte U, Neumann H, Noda M, Peng B, Peri F, Perry VH, Popovich PG, Pridans C, Priller J, Prinz M, Ragozzino D, Ransohoff RM, Salter MW, Schaefer A, Schafer DP,

Schwartz M, Simons M, Smith CJ, Streit WJ, Tay TL, Tsai LH, Verkhratsky A, von Bernhardi R, Wake H, Wittamer V, Wolf SA, Wu LJ, Wyss-Coray T. Microglia states and nomenclature: A field at its crossroads. *Neuron*. 2022 Nov 2;110(21):3458-3483. doi: 10.1016/j.neuron.2022.10.020.

Park SS, Moisseiev E, Bauer G, Anderson JD, Grant MB, Zam A, Zawadzki RJ, Werner JS, Nolta JA. Advances in bone marrow stem cell therapy for retinal dysfunction. *Prog Retin Eye Res*. 2017 Jan;56:148-165. doi: 10.1016/j.preteyeres.2016.10.002.

Pasantes-Morales H, Quesada O, Cárabaz A, Huxtable RJ. Effects of the taurine transport antagonist, guanidinoethane sulfonate, and beta-alanine on the morphology of rat retina. *J Neurosci Res*. 1983;9(2):135-43. doi: 10.1002/jnr.490090205.

Pellock JM, Hrachovy R, Shinnar S, Baram TZ, Bettis D, Dlugos DJ, Gaillard WD, Gibson PA, Holmes GL, Nordl DR, O'Dell C, Shields WD, Trevathan E, Wheless JW. Infantile spasms: a U.S. consensus report. *Epilepsia*. 2010 Oct;51(10):2175-89. doi: 10.1111/j.1528-1167.2010.02657.x.

Peng YW, Senda T, Hao Y, Matsuno K, Wong F. Ectopic synaptogenesis during retinal degeneration in the royal college of surgeons rat. *Neuroscience*. 2003;119(3):813-20. doi: 10.1016/s0306-4522(03)00153-2.

Pennesi ME, Nishikawa S, Matthes MT, Yasumura D, LaVail MM. The relationship of photoreceptor degeneration to retinal vascular development and loss in mutant rhodopsin transgenic and RCS rats. *Exp Eye Res*. 2008 Dec;87(6):561-70. doi: 10.1016/j.exer.2008.09.004.

Perry VH. The ganglion cell layer of the retina of the rat: a Golgi study. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. 1979 May 23;204(1156):363-75. doi: 10.1098/rspb.1979.0033.

Peyman GA, Herbst R. Bacterial endophthalmitis. Treatment with intraocular injection of gentamicin and dexamethasone. *Arch Ophthalmol*. 1974a May;91(5):416-8. doi: 10.1001/archopht.1974.03900060428017.

Peyman GA, Lad EM, Moshfeghi DM. Intravitreal injection of therapeutic agents. *Retina*. 2009 Jul-Aug;29(7):875-912. doi: 10.1097/IAE.0b013e3181a94f01.

Peyman GA, May DR, Ericson ES, Apple D. Intraocular injection of gentamicin. Toxic effects of clearance. *Arch Ophthalmol*. 1974b Jul;92(1):42-7. doi: 10.1001/archopht.1974.01010010046011.

Pfeiffer RL, Anderson JR, Emrich DP, Dahal J, Sigulinsky CL, Morrison HAB, Yang JH, Watt CB, Rapp KD, Kondo M, Terasaki H, Garcia JC, Marc RE, Jones BW. Pathoconnectome Analysis of

Müller Cells in Early Retinal Remodeling. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1185:365-370. doi: 10.1007/978-3-030-27378-1_60.

Pfeiffer RL, Marc RE, Jones BW. Persistent remodeling and neurodegeneration in late-stage retinal degeneration. *Prog Retin Eye Res.* 2020 Jan;74:100771. doi: 10.1016/j.preteyeres.2019.07.004.

Pinilla I, Lund RD, Lu B, Sauvé Y. Measuring the cone contribution to the ERG b-wave to assess function and predict anatomical rescue in RCS rats. *Vision Res.* 2005a Mar;45(5):635-41. doi: 10.1016/j.visres.2004.09.014.

Pinilla I, Lund RD, Sauvé Y. Enhanced cone dysfunction in rats homozygous for the P23H rhodopsin mutation. *Neurosci Lett.* 2005b Jul 1-8;382(1-2):16-21. doi: 10.1016/j.neulet.2005.02.055.

Pinilla I, Maneu V, Campello L, Fernández-Sánchez L, Martínez-Gil N, Kutsyr O, Sánchez-Sáez X, Sánchez-Castillo C, Lax P, Cuenca N. Inherited Retinal Dystrophies: Role of Oxidative Stress and Inflammation in Their Physiopathology and Therapeutic Implications. *Antioxidants (Basel).* 2022 May 30;11(6):1086. doi: 10.3390/antiox11061086.

Pożarowska D, Pożarowski P. The era of anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) drugs in ophthalmology, VEGF and anti-VEGF therapy. *Cent Eur J Immunol.* 2016;41(3):311-316. doi: 10.5114/ceji.2016.63132.

Preisig MN, Görg B, Friedburg C, Qvartrskhava N, Budde BS, Bonus M, Toliat MR, Pfleger C, Altmüller J, Herebian D, Beyer M, Zöllner HJ, Wittsack HJ, Schaper J, Klee D, Zechner U, Nürnberg P, Schipper J, Schnitzler A, Gohlke H, Lorenz B, Häussinger D, Bolz HJ. Biallelic mutation of human *SLC6A6* encoding the taurine transporter TAUT is linked to early retinal degeneration. *FASEB J.* 2019 Oct;33(10):11507-11527. doi: 10.1096/fj.201900914RR.

Presta LG, Chen H, O'Connor SJ, Chisholm V, Meng YG, Krummen L, Winkler M, Ferrara N. Humanization of an anti-vascular endothelial growth factor monoclonal antibody for the therapy of solid tumors and other disorders. *Cancer Res.* 1997 Oct 15;57(20):4593-9.

Provencio I, Jiang G, De Grip WJ, Hayes WP, Rollag MD. Melanopsin: An opsin in melanophores, brain, and eye. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998 Jan 6;95(1):340-5. doi: 10.1073/pnas.95.1.340.

Provencio I, Rollag MD, Castrucci AM. Photoreceptive net in the mammalian retina. This mesh of cells may explain how some blind mice can still tell day from night. *Nature.* 2002 Jan 31;415(6871):493. doi: 10.1038/415493a.

Puertas-Neyra K, Usategui-Martín R, Coco RM, Fernandez-Bueno I. Intravitreal stem cell paracrine properties as a potential neuroprotective therapy for retinal photoreceptor neurodegenerative diseases. *Neural Regen Res*. 2020 Sep;15(9):1631-1638. doi: 10.4103/1673-5374.276324.

Q

Qu J, Liu K, Liu S, Yue D, Zhang P, Mao X, He W, Huang K, Chen X. Taurine alleviates ochratoxin A-induced pyroptosis in PK-15 cells by inhibiting oxidative stress. *J Biochem Mol Toxicol*. 2023 Feb;37(2):e23249. doi: 10.1002/jbt.23249.

Quattrochi LE, Stabio ME, Kim I, Ilardi MC, Michelle Fogerson P, Leyrer ML, Berson DM. The M6 cell: A small-field bistratified photosensitive retinal ganglion cell. *J Comp Neurol*. 2019 Jan 1;527(1):297-311. doi: 10.1002/cne.24556. Epub 2018 Nov 11.

R

Raibon E, Sauvé Y, Carter DA, Gaillard F. Microglial changes accompanying the promotion of retinal ganglion cell axonal regeneration into peripheral nerve grafts. *J Neurocytol*. 2002 Jan;31(1):57-71. doi: 10.1023/a:1022527800181.

Ramírez AI, de Hoz R, Salobrar-García E, Salazar JJ, Rojas B, Ajoy D, López-Cuenca I, Rojas P, Triviño A, Ramírez JM. The Role of Microglia in Retinal Neurodegeneration: Alzheimer's Disease, Parkinson, and Glaucoma. *Front Aging Neurosci*. 2017 Jul 6;9:214. doi: 10.3389/fnagi.2017.00214.

Ramírez AI, Salazar JJ, de Hoz R, Rojas B, Gallego BI, Salinas-Navarro M, Alarcón-Martínez L, Ortín-Martínez A, Avilés-Trigueros M, Vidal-Sanz M, Triviño A, Ramírez JM. Quantification of the effect of different levels of IOP in the astroglia of the rat retina ipsilateral and contralateral to experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010 Nov;51(11):5690-6. doi: 10.1167/iovs.10-5248.

Ramírez JM, Ramírez AI, Salazar JJ, de Hoz R, Triviño A. Changes of astrocytes in retinal ageing and age-related macular degeneration. *Exp Eye Res*. 2001 Nov;73(5):601-15. doi: 10.1006/exer.2001.1061.

Ramirez JM, Triviño A, Ramirez AI, Salazar JJ, Garcia-Sanchez J. Immunohistochemical study of human retinal astroglia. *Vision Res.* 1994 Aug;34(15):1935-46. doi: 10.1016/0042-6989(94)90024-8.

Ramírez JM, Triviño A, Ramírez AI, Salazar JJ, García-Sánchez J. Structural specializations of human retinal glial cells. *Vision Res.* 1996 Jul;36(14):2029-36. doi: 10.1016/0042-6989(95)00322-3.

Ramon D, Shahar J, Massarweh A, Man I, Perlman I, Loewenstein A. Retinal Toxicity of Intravitreal Injection of Ziv-Aflibercept in Albino Rabbits. *Transl Vis Sci Technol.* 2018 Dec 7;7(6):23. doi: 10.1167/tvst.7.6.23.

Ramón y Cajal S (1892). *The Structure of the retina*. Charles C. Thomas, Springfield Illinois.

Ransohoff RM, Brown MA. Innate immunity in the central nervous system. *J Clin Invest.* 2012 Apr;122(4):1164-71. doi: 10.1172/JCI58644.

Ransohoff RM. A polarizing question: do M1 and M2 microglia exist? *Nat Neurosci.* 2016 Jul 26;19(8):987-91. doi: 10.1038/nn.4338.

Rapp LM, Williams TP. The role of ocular pigmentation in protecting against retinal light damage. *Vision Res.* 1980;20(12):1127-31. doi: 10.1016/0042-6989(80)90050-4.

Rascher K, Servos G, Berthold G, Hartwig HG, Warskulat U, Heller-Stilb B, Häussinger D. Light deprivation slows but does not prevent the loss of photoreceptors in taurine transporter knockout mice. *Vision Res.* 2004;44(17):2091-100. doi: 10.1016/j.visres.2004.03.027.

Rashid K, Akhtar-Schaefer I, Langmann T. Microglia in Retinal Degeneration. *Front Immunol.* 2019 Aug 20;10:1975. doi: 10.3389/fimmu.2019.01975.

Rasmussen AD, Truchot N, Pickersgill N, Thale ZI, Rosolen SG, Botteron C. The effects of taurine on vigabatrin, high light intensity and mydriasis induced retinal toxicity in the pigmented rat. *Exp Toxicol Pathol.* 2015 Jan;67(1):13-20. doi: 10.1016/j.etp.2014.09.004.

Reichenbach A, Bringmann A. Glia of the human retina. *Glia.* 2020 Apr;68(4):768-796. doi: 10.1002/glia.23727.

Reichenbach A, Bringmann A. New functions of Müller cells. *Glia.* 2013 May;61(5):651-78. doi: 10.1002/glia.22477.

Reichenbach, A., Bringmann, A., 2010. *Müller Cells in the Healthy and Diseased Retina*. Springer, New York.

- Reichenbach, A., Bringmann, A., 2015. Retinal Glia. Morgan & Claypool Publishers.
- Rekatsina M, Paladini A, Piroli A, Zis P, Pergolizzi JV, Varrassi G. Pathophysiology and Therapeutic Perspectives of Oxidative Stress and Neurodegenerative Diseases: A Narrative Review. *Adv Ther*. 2020 Jan;37(1):113-139. doi: 10.1007/s12325-019-01148-5.
- Rheume BA, Jereen A, Bolisetty M, Sajid MS, Yang Y, Renna K, Sun L, Robson P, Trakhtenberg EF. Single cell transcriptome profiling of retinal ganglion cells identifies cellular subtypes. *Nat Commun*. 2018 Jul 17;9(1):2759. doi: 10.1038/s41467-018-05134-3. Erratum in: *Nat Commun*. 2018 Aug 7;9(1):3203. doi: 10.1038/s41467-018-05792-3.
- Río-Hortega P. El tercer elemento de los centros nerviosos. I. La microglía en estado normal. II. Intervención de la microglía en los procesos patológicos (células en bastoncito y cuerpos gránuloadiposos). III. Naturaleza probable de la microglia. *Bol. Soc. Esp. Biol*. 1919. 9: 69-129.
- Rizzolo LJ. Development and role of tight junctions in the retinal pigment epithelium. *Int Rev Cytol*. 2007;258:195-234. doi: 10.1016/S0074-7696(07)58004-6.
- Roberts JE, Kukiłczak BM, Hu DN, Miller DS, Bilski P, Sik RH, Motten AG, Chignell CF. The role of A2E in prevention or enhancement of light damage in human retinal pigment epithelial cells. *Photochem Photobiol*. 2002 Feb;75(2):184-90. doi: 10.1562/0031-8655(2002)075<0184:troaip>2.0.co;2.
- Rockhill RL, Daly FJ, MacNeil MA, Brown SP, Masland RH. The diversity of ganglion cells in a mammalian retina. *J Neurosci*. 2002 May 1;22(9):3831-43. doi: 10.1523/JNEUROSCI.22-09-03831.2002. Erratum in: *J Neurosci*. 2004 Mar 3;24(9):2344.
- Rodieck RW. Visual pathways. *Annu Rev Neurosci*. 1979;2:193-225. doi: 10.1146/annurev.ne.02.030179.001205.
- Roof DJ, Heuser JE. Surfaces of rod photoreceptor disk membranes: integral membrane components. *J Cell Biol*. 1982 Nov;95(2 Pt 1):487-500. doi: 10.1083/jcb.95.2.487.
- Rosenfeld PJ, Brown DM, Heier JS, Boyer DS, Kaiser PK, Chung CY, Kim RY; MARINA Study Group. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med*. 2006 Oct 5;355(14):1419-31. doi: 10.1056/NEJMoa054481.
- Rózanowski B, Burke JM, Boulton ME, Sarna T, Rózanowska M. Human RPE melanosomes protect from photosensitized and iron-mediated oxidation but become pro-oxidant in the presence of iron upon photodegradation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008 Jul;49(7):2838-47. doi: 10.1167/iovs.08-1700.

Rózanowski B, Cuenco J, Davies S, Shamsi FA, Zadło A, Dayhaw-Barker P, Rózanowska M, Sarna T, Boulton ME. The phototoxicity of aged human retinal melanosomes. *Photochem Photobiol.* 2008 May-Jun;84(3):650-7. doi: 10.1111/j.1751-1097.2007.00259.x.

Ruether K, Kellner U. Inner retinal function in hereditary retinal dystrophies. *Acta Anat (Basel).* 1998;162(2-3):169-77. doi: 10.1159/000046483.

Ruggiero L, Connor MP, Chen J, Langen R, Finnemann SC. Diurnal, localized exposure of phosphatidylserine by rod outer segment tips in wild-type but not *Itgb5*^{-/-} or *Mfge8*^{-/-} mouse retina. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 May 22;109(21):8145-8. doi: 10.1073/pnas.1121101109.

Ryals RC, Andrews MD, Datta S, Coyner AS, Fischer CM, Wen Y, Pennesi ME, McGill TJ. Long-term Characterization of Retinal Degeneration in Royal College of Surgeons Rats Using Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017 Mar 1;58(3):1378-1386. doi: 10.1167/iovs.16-20363.

S

Sahel JA, Marazova K, Audo I. Clinical characteristics and current therapies for inherited retinal degenerations. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2014 Oct 16;5(2):a017111. doi: 10.1101/cshperspect.a017111.

Sakti DH, Cornish EE, Mustafic N, Zaheer A, Retsas S, Rajagopalan S, Chung CW, Ewans L, McCluskey P, Nash BM, Jamieson RV, Grigg JR. *MERTK* retinopathy: biomarkers assessing vision loss. *Ophthalmic Genet.* 2021 Dec;42(6):706-716. doi: 10.1080/13816810.2021.1955278.

Salinas-Navarro M, Jiménez-López M, Valiente-Soriano FJ, Alarcón-Martínez L, Avilés-Trigueros M, Mayor S, Holmes T, Lund RD, Villegas-Pérez MP, Vidal-Sanz M. Retinal ganglion cell population in adult albino and pigmented mice: a computerized analysis of the entire population and its spatial distribution. *Vision Res.* 2009a Mar;49(6):637-47. doi: 10.1016/j.visres.2009.01.010.

Salinas-Navarro M, Mayor-Torroglosa S, Jiménez-López M, Avilés-Trigueros M, Holmes TM, Lund RD, Villegas-Pérez MP, Vidal-Sanz M. A computerized analysis of the entire retinal ganglion cell population and its spatial distribution in adult rats. *Vision Res.* 2009b Jan;49(1):115-26. doi: 10.1016/j.visres.2008.09.029.

- Samorajski T, Keefe JR, Ordy JM. Morphogenesis of photoreceptor and retinal ultrastructure in a sub-human primate. *Vision Res.* 1965 Dec;5(11):639-48. doi: 10.1016/0042-6989(65)90037-4.
- Santiago AR, Baptista FI, Santos PF, Cristóvão G, Ambrósio AF, Cunha RA, Gomes CA. Role of microglia adenosine A(2A) receptors in retinal and brain neurodegenerative diseases. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:465694. doi: 10.1155/2014/465694.
- Saunders B, Elliott-Sale K, Artioli GG, Swinton PA, Dolan E, Roschel H, Sale C, Gualano B. β -alanine supplementation to improve exercise capacity and performance: a systematic review and meta-analysis. *Br J Sports Med.* 2017 Apr;51(8):658-669. doi: 10.1136/bjsports-2016-096396.
- Schaffer S, Kim HW. Effects and Mechanisms of Taurine as a Therapeutic Agent. *Biomol Ther (Seoul).* 2018 May 1;26(3):225-241. doi: 10.4062/biomolther.2017.251.
- Schaffer SW, Shimada-Takaura K, Jong CJ, Ito T, Takahashi K. Impaired energy metabolism of the taurine-deficient heart. *Amino Acids.* 2016 Feb;48(2):549-58. doi: 10.1007/s00726-015-2110-2.
- Schiller PH. The central visual system. *Vision Res.* 1986;26(9):1351-86. doi: 10.1016/0042-6989(86)90162-8.
- Schmidt TM, Alam NM, Chen S, Kofuji P, Li W, Prusky GT, Hattar S. A role for melanopsin in alpha retinal ganglion cells and contrast detection. *Neuron.* 2014 May 21;82(4):781-8. doi: 10.1016/j.neuron.2014.03.022.
- Schmidt TM, Chen SK, Hattar S. Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells: many subtypes, diverse functions. *Trends Neurosci.* 2011 Nov;34(11):572-80. doi: 10.1016/j.tins.2011.07.001. Epub 2011 Aug 3.
- Schmucker C, Seeliger M, Humphries P, Biel M, Schaeffel F. Grating acuity at different luminances in wild-type mice and in mice lacking rod or cone function. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005 Jan;46(1):398-407. doi: 10.1167/iovs.04-0959.
- Schnitzer J, Scherer J. Microglial cell responses in the rabbit retina following transection of the optic nerve. *J Comp Neurol.* 1990 Dec 22;302(4):779-91. doi: 10.1002/cne.903020410.
- Schroeder MM, Harrison KR, Jaeckel ER, Berger HN, Zhao X, Flannery MP, St Pierre EC, Pateqi N, Jachimska A, Chervenak AP, Wong KY. The Roles of Rods, Cones, and Melanopsin in Photoresponses of M4 Intrinsically Photosensitive Retinal Ganglion Cells (ipRGCs) and Optokinetic Visual Behavior. *Front Cell Neurosci.* 2018 Jul 12;12:203. doi: 10.3389/fncel.2018.00203.

Schroff RW, Foon KA, Beatty SM, Oldham RK, Morgan AC Jr. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. *Cancer Res.* 1985 Feb;45(2):879-85.

Seitz R, Tamm ER. Müller cells and microglia of the mouse eye react throughout the entire retina in response to the procedure of an intravitreal injection. *Adv Exp Med Biol.* 2014;801:347-53. doi: 10.1007/978-1-4614-3209-8_44.

Shang YM, Wang GS, Sliney D, Yang CH, Lee LL. White light-emitting diodes (LEDs) at domestic lighting levels and retinal injury in a rat model. *Environ Health Perspect.* 2014 Mar;122(3):269-76. doi: 10.1289/ehp.1307294.

Sharma A, Easow Mathew M, Sriganesh V, Reiss UM. Gene therapy for haemophilia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020 Apr 28;4(4):CD010822. doi: 10.1002/14651858.CD010822.pub4.

Sharma A, Lee S, Kim H, Yoon H, Ha S, Kang SU. Molecular Crosstalk Between Circadian Rhythmicity and the Development of Neurodegenerative Disorders. *Front Neurosci.* 2020 Aug 6;14:844. doi: 10.3389/fnins.2020.00844.

Shen Y. Stem cell therapies for retinal diseases: from bench to bedside. *J Mol Med (Berl).* 2020 Oct;98(10):1347-1368. doi: 10.1007/s00109-020-01960-5.

Shibuya M. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Receptor (VEGFR) Signaling in Angiogenesis: A Crucial Target for Anti- and Pro-Angiogenic Therapies. *Genes Cancer.* 2011 Dec;2(12):1097-105. doi: 10.1177/1947601911423031.

Shin K, Fogg VC, Margolis B. Tight junctions and cell polarity. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2006;22:207-35. doi: 10.1146/annurev.cellbio.22.010305.104219.

Simon DW, McGeachy MJ, Bayir H, Clark RS, Loane DJ, Kochanek PM. The far-reaching scope of neuroinflammation after traumatic brain injury. *Nat Rev Neurol.* 2017 Mar;13(3):171-191. doi: 10.1038/nrneurol.2017.13. Epub 2017 Feb 10. Erratum in: *Nat Rev Neurol.* 2017 Sep;13(9):572. doi: 10.1038/nrneurol.2017.116.

Singh MS, Park SS, Albini TA, Canto-Soler MV, Klassen H, MacLaren RE, Takahashi M, Nagiel A, Schwartz SD, Bharti K. Retinal stem cell transplantation: Balancing safety and potential. *Prog Retin Eye Res.* 2020 Mar;75:100779. doi: 10.1016/j.preteyeres.2019.100779.

Sivaprasad S. Role of pegaptanib sodium in the treatment of neovascular age-related macular degeneration. *Clin Ophthalmol.* 2008 Jun;2(2):339-46. doi: 10.2147/opth.s2617.

Sobrado-Calvo P, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP. Rat retinal microglial cells under normal conditions, after optic nerve section, and after optic nerve section and intravitreal injection of trophic factors or macrophage inhibitory factor. *J Comp Neurol*. 2007 Apr 20;501(6):866-78. doi: 10.1002/cne.21279.

Sonoda T, Okabe Y, Schmidt TM. Overlapping morphological and functional properties between M4 and M5 intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. *J Comp Neurol*. 2020 Apr;528(6):1028-1040. doi: 10.1002/cne.24806.

SooHoo JR, Seibold LK, Kahook MY. Recent advances in the management of neovascular glaucoma. *Semin Ophthalmol*. 2013 May;28(3):165-72. doi: 10.3109/08820538.2012.730103.

Sparrow JR, Boulton M. RPE lipofuscin and its role in retinal pathobiology. *Exp Eye Res*. 2005 May;80(5):595-606. doi: 10.1016/j.exer.2005.01.007.

Sparrow JR, Cai B, Fishkin N, Jang YP, Krane S, Vollmer HR, Zhou J, Nakanishi K. A2E, a fluorophore of RPE lipofuscin: can it cause RPE degeneration? *Adv Exp Med Biol*. 2003;533:205-11. doi: 10.1007/978-1-4615-0067-4_26.

Sparrow JR, Hicks D, Hamel CP. The retinal pigment epithelium in health and disease. *Curr Mol Med*. 2010b Dec;10(9):802-23. doi: 10.2174/156652410793937813.

Sparrow JR, Wu Y, Kim CY, Zhou J. Phospholipid meets all-trans-retinal: the making of RPE bisretinoids. *J Lipid Res*. 2010a Feb;51(2):247-61. doi: 10.1194/jlr.R000687.

Spini A, Giometto S, Donnini S, Posarelli M, Dotta F, Ziche M, Tosi GM, Girardi A, Lucenteforte E, Gini R, Etminan M, Virgili G. Risk of Intraocular Pressure Increase With Intravitreal Injections of Vascular Endothelial Growth Factor Inhibitors: A Cohort Study. *Am J Ophthalmol*. 2023 Apr;248:45-50. doi: 10.1016/j.ajo.2022.11.015. 21. PMID: 36410468.

Stabio ME, Sabbah S, Quattrochi LE, Ilardi MC, Fogerson PM, Leyrer ML, Kim MT, Kim I, Schiel M, Renna JM, Briggman KL, Berson DM. The M5 Cell: A Color-Opponent Intrinsically Photosensitive Retinal Ganglion Cell. *Neuron*. 2018 Jan 3;97(1):251. doi: 10.1016/j.neuron.2017.12.030. Erratum for: *Neuron*. 2018 Jan 3;97(1):150-163.e4. doi: 10.1016/j.neuron.2017.11.030..

Steinberg RH, Flannery JG, Nassh M, Matthes MT, Ysumura D, Lau-Villacorta C, Chen J, LaVail MM. Transgenic rat models of inherited retinal degeneration caused by mutant opsin genes. *Invest. Ophthalmol Vis. Sci*. 1996 37:S698.

Steinberg RH. Interactions between the retinal pigment epithelium and the neural retina. *Doc Ophthalmol*. 1985 Oct 15;60(4):327-46. doi: 10.1007/BF00158922.

Stone J, Dreher Z. Relationship between astrocytes, ganglion cells and vasculature of the retina. *J Comp Neurol.* 1987 Jan 1;255(1):35-49. doi: 10.1002/cne.902550104.

Stone J, Itin A, Alon T, Pe'er J, Gnessin H, Chan-Ling T, Keshet E. Development of retinal vasculature is mediated by hypoxia-induced vascular endothelial growth factor (VEGF) expression by neuroglia. *J Neurosci.* 1995 Jul;15(7 Pt 1):4738-47. doi: 10.1523/JNEUROSCI.15-07-04738.1995.

Stone J, Maslim J, Valter-Kocsi K, Mervin K, Bowers F, Chu Y, Barnett N, Provis J, Lewis G, Fisher SK, Bisti S, Gargini C, Cervetto L, Merin S, Peér J. Mechanisms of photoreceptor death and survival in mammalian retina. *Prog Retin Eye Res.* 1999 Nov;18(6):689-735. doi: 10.1016/s1350-9462(98)00032-9.

Strauss O. The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol Rev.* 2005 Jul;85(3):845-81. doi: 10.1152/physrev.00021.2004.

Strettoi E. A Survey of Retinal Remodeling. *Front Cell Neurosci.* 2015 Dec 23;9:494. doi: 10.3389/fncel.2015.00494.

Su Y, Fan W, Ma Z, Wen X, Wang W, Wu Q, Huang H. Taurine improves functional and histological outcomes and reduces inflammation in traumatic brain injury. *Neuroscience.* 2014 Apr 25;266:56-65. doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.02.006. Epub 2014 Feb 14.

Sun W, Li N, He S. Large-scale morphological survey of rat retinal ganglion cells. *Vis Neurosci.* 2002a Jul-Aug;19(4):483-93. doi: 10.1017/s0952523802194107.

Sun W, Li N, He S. Large-scale morphological survey of mouse retinal ganglion cells. *J Comp Neurol.* 2002b Sep 16;451(2):115-26. doi: 10.1002/cne.10323.

Sung CH, Davenport CM, Hennessey JC, Maumenee IH, Jacobson SG, Heckenlively JR, Nowakowski R, Fishman G, Gouras P, Nathans J. Rhodopsin mutations in autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991a Aug 1;88(15):6481-5. doi: 10.1073/pnas.88.15.6481.

Sung CH, Davenport CM, Nathans J. Rhodopsin mutations responsible for autosomal dominant retinitis pigmentosa. Clustering of functional classes along the polypeptide chain. *J Biol Chem.* 1993 Dec 15;268(35):26645-9.

Sung CH, Schneider BG, Agarwal N, Papermaster DS, Nathans J. Functional heterogeneity of mutant rhodopsins responsible for autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991b Oct 1;88(19):8840-4. doi: 10.1073/pnas.88.19.8840.

Surai PF, Earle-Payne K, Kidd MT. Taurine as a Natural Antioxidant: From Direct Antioxidant Effects to Protective Action in Various Toxicological Models. *Antioxidants (Basel)*. 2021 Nov 24;10(12):1876. doi: 10.3390/antiox10121876.

Swaroop A, Sieving PA. The golden era of ocular disease gene discovery: race to the finish. *Clin Genet*. 2013 Aug;84(2):99-101. doi: 10.1111/cge.12204.

Szél A, Röhlich P, Van Veen T. Short-wave sensitive cones in the rodent retinas. *Exp Eye Res*. 1993 Oct;57(4):503-5. doi: 10.1006/exer.1993.1153.

T

Taguchi A, Sakai C, Soma T, Kasahara Y, Stern DM, Kajimoto K, Ihara M, Daimon T, Yamahara K, Doi K, Kohara N, Nishimura H, Matsuyama T, Naritomi H, Sakai N, Nagatsuka K. Intravenous Autologous Bone Marrow Mononuclear Cell Transplantation for Stroke: Phase1/2a Clinical Trial in a Homogeneous Group of Stroke Patients. *Stem Cells Dev*. 2015 Oct 1;24(19):2207-18. doi: 10.1089/scd.2015.0160.

Takahashi T, Amano N, Asamura H, Nomiyama T, Hanihara T, Nakayama J, Fukushima H. Correlation between glial fibrillary acidic protein-positive astrocytes and age in the human hippocampus. *Leg Med (Tokyo)*. 2006 May;8(3):161-5. doi: 10.1016/j.legalmed.2006.01.002.

Takamura Y, Ohkoshi K, Murata T. New Strategies for Treatment of Diabetic Macular Edema. *J Ophthalmol*. 2018 Aug 19;2018:4292154. doi: 10.1155/2018/4292154.

Taleisnik, Samuel (2010). En Encuentro. Neuronas: desarrollo, lesiones y regeneración. ISBN: 978-987-1432-52-3.

Tang Y, Le W. Differential Roles of M1 and M2 Microglia in Neurodegenerative Diseases. *Mol Neurobiol*. 2016 Mar;53(2):1181-1194. doi: 10.1007/s12035-014-9070-5.

Tanito M, Kaidzu S, Anderson RE. Protective effects of soft acrylic yellow filter against blue light-induced retinal damage in rats. *Exp Eye Res*. 2006 Dec;83(6):1493-504. doi: 10.1016/j.exer.2006.08.006.

Tao Y, He M, Yang Q, Ma Z, Qu Y, Chen W, Peng G, Teng D. Systemic taurine treatment provides neuroprotection against retinal photoreceptor degeneration and visual function impairments. *Drug Des Devel Ther*. 2019 Aug 7;13:2689-2702. doi: 10.2147/DDDT.S194169.

Tatour Y, Ben-Yosef T. Syndromic Inherited Retinal Diseases: Genetic, Clinical and Diagnostic Aspects. *Diagnostics (Basel)*. 2020 Oct 2;10(10):779. doi: 10.3390/diagnostics10100779.

Tezel G; Fourth ARVO/Pfizer Ophthalmics Research Institute Conference Working Group. The role of glia, mitochondria, and the immune system in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009 Mar;50(3):1001-12. doi: 10.1167/iovs.08-2717.

Tezel G. Oxidative stress in glaucomatous neurodegeneration: mechanisms and consequences. *Prog Retin Eye Res*. 2006 Sep;25(5):490-513. doi: 10.1016/j.preteyeres.2006.07.003.

Thaler S, Fiedorowicz M, Choragiewicz TJ, Bolz S, Tura A, Henke-Fahle S, Yoeruek E, Zrenner E, Bartz-Schmidt KU, Ziemssen F, Schuettauf F. Toxicity testing of the VEGF inhibitors bevacizumab, ranibizumab and pegaptanib in rats both with and without prior retinal ganglion cell damage. *Acta Ophthalmol*. 2010 Aug;88(5):e170-6. doi: 10.1111/j.1755-3768.2010.01927.x.

Thanh LN, Trung KN, Duy CV, Van DN, Hoang PN, Phuong ANT, Ngo MD, Thi TN, Viet AB. Improvement in gross motor function and muscle tone in children with cerebral palsy related to neonatal icterus: an open-label, uncontrolled clinical trial. *BMC Pediatr*. 2019 Aug 22;19(1):290. doi: 10.1186/s12887-019-1669-2.

Thanos S, Kacza J, Seeger J, Mey J. Old dyes for new scopes: the phagocytosis-dependent long-term fluorescence labelling of microglial cells in vivo. *Trends Neurosci*. 1994 May;17(5):177-82. doi: 10.1016/0166-2236(94)90098-1.

Thanos S, Pavlidis C, Mey J, Thiel HJ. Specific transcellular staining of microglia in the adult rat after traumatic degeneration of carbocyanine-filled retinal ganglion cells. *Exp Eye Res*. 1992 Jul;55(1):101-17. doi: 10.1016/0014-4835(92)90098-d.

Thulliez M, Angoulvant D, Pisella PJ, Bejan-Angoulvant T. Overview of Systematic Reviews and Meta-analyses on Systemic Adverse Events Associated With Intravitreal Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Medication Use. *JAMA Ophthalmol*. 2018 May 1;136(5):557-566. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2018.0002.

Tjelle TE, Lovdal T, Berg T. Phagosome dynamics and function. *Bioessays*. 2000 Mar;22(3):255-63. doi: 10.1002/(SICI)1521-1878(200003)22:3<255::AID-BIES7>3.0.CO;2-R.

Tolentino M. Systemic and ocular safety of intravitreal anti-VEGF therapies for ocular neovascular disease. *Surv Ophthalmol.* 2011 Mar-Apr;56(2):95-113. doi: 10.1016/j.survophthal.2010.08.006.

Torres-Platas SG, Comeau S, Rachalski A, Bo GD, Cruceanu C, Turecki G, Giros B, Mechawar N. Morphometric characterization of microglial phenotypes in human cerebral cortex. *J Neuroinflammation.* 2014 Jan 21;11:12. doi: 10.1186/1742-2094-11-12.

Tran NM, Shekhar K, Whitney IE, Jacobi A, Benhar I, Hong G, Yan W, Adiconis X, Arnold ME, Lee JM, Levin JZ, Lin D, Wang C, Lieber CM, Regev A, He Z, Sanes JR. Single-Cell Profiles of Retinal Ganglion Cells Differing in Resilience to Injury Reveal Neuroprotective Genes. *Neuron.* 2019 Dec 18;104(6):1039-1055.e12. doi: 10.1016/j.neuron.2019.11.006.

Triviño A, Ramírez JM, Salazar JJ, Ramírez AI, García-Sánchez J. Immunohistochemical study of human optic nerve head astroglia. *Vision Res.* 1996 Jul;36(14):2015-28. doi: 10.1016/0042-6989(95)00317-7.

Trouillet A, Dubus E, Dégardin J, Estivalet A, Ivkovic I, Godefroy D, García-Ayuso D, Simonutti M, Sahly I, Sahel JA, El-Amraoui A, Petit C, Picaud S. Cone degeneration is triggered by the absence of USH1 proteins but prevented by antioxidant treatments. *Sci Rep.* 2018 Jan 31;8(1):1968. doi: 10.1038/s41598-018-20171-0.

Tsang SH, Sharma T. Retinitis Pigmentosa (Non-syndromic). *Adv Exp Med Biol.* 2018;1085:125-130. doi: 10.1007/978-3-319-95046-4_25.

Turner DL, Cepko CL. A common progenitor for neurons and glia persists in rat retina late in development. *Nature.* 1987 Jul 9-15;328(6126):131-6. doi: 10.1038/328131a0. 3600789.

Tzameret A, Sher I, Belkin M, Treves AJ, Meir A, Nagler A, Levkovitch-Verbin H, Barshack I, Rosner M, Rotenstreich Y. Transplantation of human bone marrow mesenchymal stem cells as a thin subretinal layer ameliorates retinal degeneration in a rat model of retinal dystrophy. *Exp Eye Res.* 2014 Jan;118:135-44. doi: 10.1016/j.exer.2013.10.023.

Tzameret A, Sher I, Belkin M, Treves AJ, Meir A, Nagler A, Levkovitch-Verbin H, Rotenstreich Y, Solomon AS. Epiretinal transplantation of human bone marrow mesenchymal stem cells rescues retinal and vision function in a rat model of retinal degeneration. *Stem Cell Res.* 2015 Sep;15(2):387-94. doi: 10.1016/j.scr.2015.08.007.

U

Uemura A, Fruttiger M, D'Amore PA, De Falco S, Jousseaume AM, Sennlaub F, Brunck LR, Johnson KT, Lambrou GN, Rittenhouse KD, Langmann T. VEGFR1 signaling in retinal angiogenesis and microinflammation. *Prog Retin Eye Res.* 2021 Sep;84:100954. doi: 10.1016/j.preteyeres.2021.100954.

Uga S, Smelser. Comparative study of the fine structure of retinal Müller cells in various vertebrates. *Invest Ophthalmol.* 1973 Jun;12(6):434-48.

Uludag G, Hassan M, Matsumiya W, Pham BH, Chea S, Trong Tuong Than N, Doan HL, Akhavanrezaei A, Halim MS, Do DV, Nguyen QD. Efficacy and safety of intravitreal anti-VEGF therapy in diabetic retinopathy: what we have learned and what should we learn further? *Expert Opin Biol Ther.* 2022 Oct;22(10):1275-1291. doi: 10.1080/14712598.2022.2100694.

V

Valiente-Soriano FJ, García-Ayuso D, Ortín-Martínez A, Jiménez-López M, Galindo-Romero C, Villegas-Pérez MP, Agudo-Barriuso M, Vugler AA, Vidal-Sanz M. Distribution of melanopsin positive neurons in pigmented and albino mice: evidence for melanopsin interneurons in the mouse retina. *Front Neuroanat.* 2014 Nov 20;8:131. doi: 10.3389/fnana.2014.00131.

Valiente-Soriano FJ, Ortín-Martínez A, Di Pierdomenico J, García-Ayuso D, Gallego-Ortega A, Miralles de Imperial-Ollero JA, Jiménez-López M, Villegas-Pérez MP, Wheeler LA, Vidal-Sanz M. Topical Brimonidine or Intravitreal BDNF, CNTF, or bFGF Protect Cones Against Phototoxicity. *Transl Vis Sci Technol.* 2019 Dec 16;8(6):36. doi: 10.1167/tvst.8.6.36.

Valiente-Soriano FJ, Salinas-Navarro M, Di Pierdomenico J, García-Ayuso D, Lucas-Ruiz F, Pinilla I, Cuenca N, Vidal-Sanz M, Villegas-Pérez MP, Agudo-Barriuso M. Tracing the retina to analyze the integrity and phagocytic capacity of the retinal pigment epithelium. *Sci Rep.* 2020 Apr 29;10(1):7273. doi: 10.1038/s41598-020-64131-z.

van Horssen J, van Schaik P, Witte M. Inflammation and mitochondrial dysfunction: A vicious circle in neurodegenerative disorders? *Neurosci Lett.* 2019 Sep 25;710:132931. doi: 10.1016/j.neulet.2017.06.050.

VanderBeek BL, Bonaffini SG, Ma L. The Association between Intravitreal Steroids and Post-Injection Endophthalmitis Rates. *Ophthalmology*. 2015 Nov;122(11):2311-2315.e1. doi: 10.1016/j.opthta.2015.07.005.

Vargas JA, Finnemann SC. Probing Photoreceptor Outer Segment Phagocytosis by the RPE In Vivo: Models and Methodologies. *Int J Mol Sci*. 2022 Mar 27;23(7):3661. doi: 10.3390/ijms23073661.

Vecino E, Rodriguez FD, Ruzafa N, Pereiro X, Sharma SC. Glia-neuron interactions in the mammalian retina. *Prog Retin Eye Res*. 2016 Mar;51:1-40. doi: 10.1016/j.preteyeres.2015.06.003.

Vervoort R, Lennon A, Bird AC, Tulloch B, Axton R, Miano MG, Meindl A, Meitinger T, Ciccodicola A, Wright AF. Mutational hot spot within a new RPGR exon in X-linked retinitis pigmentosa. *Nat Genet*. 2000 Aug;25(4):462-6. doi: 10.1038/78182.

Vicente-Tejedor J, Marchena M, Ramírez L, García-Ayuso D, Gómez-Vicente V, Sánchez-Ramos C, de la Villa P, Germain F. Removal of the blue component of light significantly decreases retinal damage after high intensity exposure. *PLoS One*. 2018 Mar 15;13(3):e0194218. doi: 10.1371/journal.pone.0194218.

Vidal-Villegas B, Gallego-Ortega A, Miralles de Imperial-Ollero JA, Martínez de la Casa JM, García Feijoo J, Vidal-Sanz M. Photosensitive ganglion cells: A diminutive, yet essential population. *Arch Soc Esp Oftalmol (Engl Ed)*. 2021 Jun;96(6):299-315. doi: 10.1016/j.oftale.2020.06.020.

Villegas-Pérez MP, Lawrence JM, Vidal-Sanz M, Lavail MM, Lund RD. Ganglion cell loss in RCS rat retina: a result of compression of axons by contracting intraretinal vessels linked to the pigment epithelium. *J Comp Neurol*. 1998 Mar 2;392(1):58-77.

Villegas-Pérez MP, Vidal-Sanz M, Lund RD. Mechanism of retinal ganglion cell loss in inherited retinal dystrophy. *Neuroreport*. 1996 Aug 12;7(12):1995-9. doi: 10.1097/00001756-199608120-00028.

Viney TJ, Balint K, Hillier D, Siegert S, Boldogkoi Z, Enquist LW, Meister M, Cepko CL, Roska B. Local retinal circuits of melanopsin-containing ganglion cells identified by transsynaptic viral tracing. *Curr Biol*. 2007 Jun 5;17(11):981-8. doi: 10.1016/j.cub.2007.04.058.

Völgyi B, Chheda S, Bloomfield SA. Tracer coupling patterns of the ganglion cell subtypes in the mouse retina. *J Comp Neurol*. 2009 Feb 10;512(5):664-87. doi: 10.1002/cne.21912.

W

Walker DG, Lue LF. Immune phenotypes of microglia in human neurodegenerative disease: challenges to detecting microglial polarization in human brains. *Alzheimers Res Ther*. 2015 Aug 19;7(1):56. doi: 10.1186/s13195-015-0139-9.

Waller R, Baxter L, Fillingham DJ, Coelho S, Pozo JM, Mozumder M, Frangi AF, Ince PG, Simpson JE, Highley JR. Iba-1-/CD68+ microglia are a prominent feature of age-associated deep subcortical white matter lesions. *PLoS One*. 2019 Jan 25;14(1):e0210888. doi: 10.1371/journal.pone.0210888.

Wang L, Ribaud M, Zhao K, Yu N, Chen Q, Sun Q, Wang L, Wang Q. Novel deletion in the pre-mRNA splicing gene PRPF31 causes autosomal dominant retinitis pigmentosa in a large Chinese family. *Am J Med Genet A*. 2003 Sep 1;121A(3):235-9. doi: 10.1002/ajmg.a.20224.

Wang S, Villegas-Pérez MP, Holmes T, Lawrence JM, Vidal-Sanz M, Hurtado-Montalbán N, Lund RD. Evolving neurovascular relationships in the RCS rat with age. *Curr Eye Res*. 2003 Sep;27(3):183-96. doi: 10.1076/ceyr.27.3.183.16053.

Wang XN, Li ST, Li W, Hua YJ, Wu Q. The thickness and volume of the choroid, outer retinal layers and retinal pigment epithelium layer changes in patients with diabetic retinopathy. *Int J Ophthalmol*. 2018 Dec 18;11(12):1957-1962. doi: 10.18240/ijo.2018.12.14.

Wasowicz M, Morice C, Ferrari P, Callebert J, Versaux-Botteri C. Long-term effects of light damage on the retina of albino and pigmented rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002 Mar;43(3):813-20.

Watanabe T, Raff MC. Retinal astrocytes are immigrants from the optic nerve. *Nature*. 1988 Apr 28;332(6167):834-7. doi: 10.1038/332834a0.

Wielgus AR, Chignell CF, Ceger P, Roberts JE. Comparison of A2E cytotoxicity and phototoxicity with all-trans-retinal in human retinal pigment epithelial cells. *Photochem Photobiol*. 2010 Jul-Aug;86(4):781-91. doi: 10.1111/j.1751-1097.2010.00750.x.

Williams PE, Crauwels HM, Basstanie ED. Formulation and pharmacology of long-acting rilpivirine. *Curr Opin HIV AIDS*. 2015 Jul;10(4):233-8. doi: 10.1097/COH.0000000000000164.

Williams TP, Howell WL. Action spectrum of retinal light-damage in albino rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1983 Mar;24(3):285-7.

Wright AF, Chakarova CF, Abd El-Aziz MM, Bhattacharya SS. Photoreceptor degeneration: genetic and mechanistic dissection of a complex trait. *Nat Rev Genet.* 2010 Apr;11(4):273-84. doi: 10.1038/nrg2717.

Wu L, Zhang K, Sun L, Bai J, Zhang M, Zheng J. Laminin degradation by matrix metalloproteinase 9 promotes ketamine-induced neuronal apoptosis in the early developing rat retina. *CNS Neurosci Ther.* 2020 Oct;26(10):1058-1068. doi: 10.1111/cns.13428.

X

Xia H, Hu Q, Li L, Tang X, Zou J, Huang L, Li X. Protective effects of autophagy against blue light-induced retinal degeneration in aged mice. *Sci China Life Sci.* 2019 Feb;62(2):244-256. doi: 10.1007/s11427-018-9357-y.

Xu H, Huang L, Jin E, Liang Z, Zhao M. Plasma metabolomic profiling of central serous chorioretinopathy. *Exp Eye Res.* 2021 Feb;203:108401. doi: 10.1016/j.exer.2020.108401.

Xu H, Rao NA. Grand Challenges in Ocular Inflammatory Diseases. *Front Ophthalmol (Lausanne).* 2022 Feb 17;2:756689. doi: 10.3389/fopht.2022.756689.

Xu S, Touyz RM. Reactive oxygen species and vascular remodelling in hypertension: still alive. *Can J Cardiol.* 2006 Sep;22(11):947-51. doi: 10.1016/s0828-282x(06)70314-2.

Xue LP, Lu J, Cao Q, Hu S, Ding P, Ling EA. Müller glial cells express nestin coupled with glial fibrillary acidic protein in experimentally induced glaucoma in the rat retina. *Neuroscience.* 2006 May 12;139(2):723-32. doi: 10.1016/j.neuroscience.2005.12.032.

Y

Yazdanyar A, Zhang P, Dolf C, Smit-McBride Z, Cary W, Nolta JA, Zawadzki RJ, Marsh-Armstrong N, Park SS. Effects of intravitreal injection of human CD34⁺bone marrow stem cells in a murine model of diabetic retinopathy. *Exp Eye Res.* 2020 Jan;190:107865. doi: 10.1016/j.exer.2019.107865.

Young RA, Elliott TJ. Stress proteins, infection, and immune surveillance. *Cell.* 1989 Oct 6;59(1):5-8. doi: 10.1016/0092-8674(89)90861-1.

Young RW, Bok D. Participation of the retinal pigment epithelium in the rod outer segment renewal process. *J Cell Biol.* 1969 Aug;42(2):392-403. doi: 10.1083/jcb.42.2.392.

Young RW. The renewal of photoreceptor cell outer segments. *J Cell Biol.* 1967 Apr;33(1):61-72. doi: 10.1083/jcb.33.1.61.

Z

Zaverucha-do-Valle C, Mesentier-Louro L, Gubert F, Mortari N, Padilha AB, Paredes BD, Mencalha A, Abdelhay E, Teixeira C, Ferreira FG, Tovar-Moll F, de Souza SA, Gutfilen B, Mendez-Otero R, Santiago MF. Sustained effect of bone marrow mononuclear cell therapy in axonal regeneration in a model of optic nerve crush. *Brain Res.* 2014 Oct 31;1587:54-68. doi: 10.1016/j.brainres.2014.08.070.

Zehden JA, Mortensen XM, Reddy A, Zhang AY. Systemic and Ocular Adverse Events with Intravitreal Anti-VEGF Therapy Used in the Treatment of Diabetic Retinopathy: a Review. *Curr Diab Rep.* 2022 Oct;22(10):525-536. doi: 10.1007/s11892-022-01491-y.

Zeng K, Xu H, Mi M, Zhang Q, Zhang Y, Chen K, Chen F, Zhu J, Yu X. Dietary taurine supplementation prevents glial alterations in retina of diabetic rats. *Neurochem Res.* 2009 Feb;34(2):244-54. doi: 10.1007/s11064-008-9763-0.

Zhang C, Lam TT, Tso MO. Heterogeneous populations of microglia/macrophages in the retina and their activation after retinal ischemia and reperfusion injury. *Exp Eye Res.* 2005 Dec;81(6):700-9. doi: 10.1016/j.exer.2005.04.008.

Zhang C, Shen JK, Lam TT, Zeng HY, Chiang SK, Yang F, Tso MO. Activation of microglia and chemokines in light-induced retinal degeneration. *Mol Vis.* 2005 Oct 27;11:887-95.

Zhang Q, Chrenek MA, Bhatia S, Rashid A, Ferdous S, Donaldson KJ, Skelton H, Wu W, See TRO, Jiang Y, Dalal N, Nickerson JM, Grossniklaus HE. Comparison of histologic findings in age-related macular degeneration with RPE flatmount images. *Mol Vis.* 2019 Feb 7;25:70-78.

Zhang X, Wang J, Zhou Q, Xu Y, Pu S, Wu J, Xue Y, Tian Y, Lu J, Jiang W, Du D. Brain-derived neurotrophic factor-activated astrocytes produce mechanical allodynia in neuropathic pain. *Neuroscience.* 2011 Dec 29;199:452-60. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.10.017.

Zhao X, Stafford BK, Godin AL, King WM, Wong KY. Photoresponse diversity among the five types of intrinsically photosensitive retinal ganglion cells. *J Physiol.* 2014 Apr 1;592(7):1619-36. doi: 10.1113/jphysiol.2013.262782.

COMPENDIO DE PUBLICACIONES

6. COMPENDIO DE PUBLICACIONES

Todos los artículos pueden encontrarse en esta dirección:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Martínez+Vacas+a>

Invest Ophthalmol Vis Sci. 2024 Apr 1;65(4):10. doi: 10.1167/iovs.65.4.10.

Dose-Related Side Effects of Intravitreal Injections of Humanized Anti-Vascular Endothelial Growth Factor in Rats: Glial Cell Reactivity and Retinal Ganglion Cell Loss

Ana Martínez Vacas¹, Johnny Di Pierdomenico¹, Ana María Gómez Ramírez¹, Manuel Vidal Sanz¹, María Paz Villegas Pérez¹, Diego García Ayuso¹.

Author information:

- ¹*Grupo de Investigación Oftalmología Experimental, Departamento de Oftalmología, Optometría, Otorrinolaringología y Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia, Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB), Campus de Ciencias de la Salud, Murcia, España.*

Purpose: In a previous study, we documented that the Intravitreal injections (IVIs) of bevacizumab in rats caused a retinal inflammatory response. We now study whether the IVI of other humanized anti-VEGF: ranibizumab and aflibercept also cause an inflammatory reaction in the rat retina and if it depends on the dose administered. Finally, we study whether this reaction affects retinal ganglion cell (RGC) survival.

Methods: Albino Sprague-Dawley rats received a single IVI of 5 µL of PBS or ranibizumab or aflibercept at the concentration used in clinical practice (10 µg/µL or 40 µg/µL) or at a lower concentration (0.38 µg/µL and 1.5 µg/µL) calculated to obtain within the rat eye the same concentration as in the human eye in clinical practice. Others received a single 5 µL IVI of a polyclonal goat anti-rat VEGF (0.015 µg/µL) or of vehicle (PBS). Animals were processed 7 days or 1 month later. Retinal whole mounts were immunolabeled for the detection of microglial, macroglial, RGCs, and intrinsically photosensitive RGCs (ipRGCs). Fluorescence and confocal microscopy were used to examine retinal changes, and RGCs and ipRGCs were quantified automatically or semiautomatically, respectively.

Results: All the injected substances including the PBS induced detectable side effects, namely, retinal microglial cell activation and retinal astrocyte hypertrophy. However, there was a greater microglial and macroglial response when the higher concentrations of ranibizumab and aflibercept were injected than when PBS, the antibody anti-rat VEGF and the lower concentrations of ranibizumab or aflibercept were injected. The higher concentration of ranibizumab and aflibercept resulted also in significant RGC death, but did not cause appreciable ipRGC death.

Conclusions: The IVI of all the substances had some retinal inflammatory effects. The IVI of humanized anti-VEGF to rats at high doses cause important side effects: severe inflammation and RGC death, but not ipRGC death.

Invest Ophthalmol Vis Sci. 2020 Mar 9;61(3):47. doi: 10.1167/iov.61.3.47.

Coordinated Intervention of Microglial and Müller Cells in Light-Induced Retinal Degeneration

Johnny Di Pierdomenico ¹, Ana Martínez Vacas ¹, Daniel Hernández Muñoz ¹, Ana María Gómez Ramírez ¹, Francisco Javier Valiente Soriano ¹, Marta Agudo Barriuso ¹, Manuel Vidal Sanz ¹, María Paz Villegas Pérez ¹, Diego García Ayuso ¹.

Author information:

- ¹*Grupo de Investigación Oftalmología Experimental, Departamento de Oftalmología, Optometría, Otorrinolaringología y Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia, Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB), Campus de Ciencias de la Salud, Murcia, España.*

Purpose: To analyze the role of microglial and Müller cells in the formation of rings of photoreceptor degeneration caused by phototoxicity.

Methods: Two-month-old Sprague-Dawley rats were exposed to light and processed 1, 2, or 3 months later. Retinas were dissected as whole-mounts, immunodetected for microglial cells, Müller cells, and S- and L/M-cones and analyzed using fluorescence, thunder imaging, and confocal microscopy. Cone populations were automatically counted and isodensity maps constructed to document cone topography.

Results: Phototoxicity causes a significant progressive loss of S- and L/M-cones of up to 68% and 44%, respectively, at 3 months after light exposure (ALE). One month ALE, we observed rings of cone degeneration in the photosensitive area of the superior retina. Two and 3 months ALE, these rings had extended to the central and inferior retina. Within the rings of cone degeneration, there were degenerating cones, often activated microglial cells, and numerous radially oriented processes of Müller cells that showed increased expression of intermediate filaments. Between 1 and 3 months ALE, the rings coalesced, and at the same time the microglial cells resumed a mosaic-like distribution, and there was a decrease of Müller cell gliosis at the areas devoid of cones.

Conclusions: Light-induced photoreceptor degeneration proceeds with rings of cone degeneration, as observed in inherited retinal degenerations in which cone death is secondary to rod degeneration. The spatiotemporal relationship of cone death microglial cell activation and Müller cell gliosis within the rings of cone degeneration suggests that, although both glial cells are involved in the formation of the rings, they may have coordinated actions and, while microglial cells may be more involved in photoreceptor phagocytosis, Müller cells may be more involved in cone and microglial cell migration, retinal remodeling and glial seal formation.

Int J Mol Sci. 2021 Dec 29;23(1):346. doi: 10.3390/ijms23010346.

Glial Cell Activation and Oxidative Stress in Retinal Degeneration Induced by β -Alanine Caused Taurine Depletion and Light Exposure

Ana Martínez Vacas ¹, Johnny Di Pierdomenico ¹, Francisco Javier Valiente Soriano ¹, Manuel Vidal Sanz ¹, Serge Picaud ², María Paz Villegas Pérez ¹, Diego García Ayuso ¹.

Author information:

- ¹*Grupo de Investigación Oftalmología Experimental, Departamento de Oftalmología, Optometría, Otorrinolaringología y Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia, Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB), Campus de Ciencias de la Salud, Murcia, España.*
- ²*Sorbonne Université, INSERM, CNRS, Institut de la Vision, Paris, France.*

We investigate glial cell activation and oxidative stress induced by taurine deficiency secondary to β -alanine administration and light exposure. Two months old Sprague-Dawley rats were divided into a control group and three experimental groups that were treated with 3% β -alanine in drinking water (taurine depleted) for two months, light exposed or both. Retinal and external thickness were measured in vivo at baseline and pre-processing with Spectral-Domain Optical Coherence Tomography (SD-OCT). Retinal cryostat cross sections were immunodetected with antibodies against various antigens to investigate microglial and macroglial cell reaction, photoreceptor outer segments, synaptic connections and oxidative stress. Taurine depletion caused a decrease in retinal thickness, shortening of photoreceptor outer segments, microglial cell activation, oxidative stress in the outer and inner nuclear layers and the ganglion cell layer and synaptic loss. These events were also observed in light exposed animals, which in addition showed photoreceptor death and macroglial cell reactivity. Light exposure under taurine depletion further increased glial cell reaction and oxidative stress. Finally, the retinal pigment epithelial cells were Fluorogold labeled and whole mounted, and we document that taurine depletion impairs their phagocytic capacity. We conclude that taurine depletion causes cell damage to various retinal layers including retinal pigment epithelial cells, photoreceptors and retinal ganglion cells, and increases the susceptibility of the photoreceptor outer segments to light damage. Thus, beta-alanine supplements should be used with caution.

Systemic taurine treatment affords functional and morphological neuroprotection of photoreceptors and restores retinal pigment epithelium function in RCS rats

Ana Martínez Vacas ¹, Johnny Di Pierdomenico ¹, Alejandro Gallego Ortega ¹, Francisco Javier Valiente Soriano ¹, Manuel Vidal Sanz ¹, Serge Picaud ², María Paz Villegas Pérez ¹, Diego García Ayuso ¹.

Author information:

- ¹*Grupo de Investigación Oftalmología Experimental, Departamento de Oftalmología, Optometría, Otorrinolaringología y Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia, Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB), Campus de Ciencias de la Salud, Murcia, España.*
- ²*Sorbonne Université, INSERM, CNRS, Institut de la Vision, Paris, France.*

The aim of our work was to study whether taurine administration has neuroprotective effects in dystrophic Royal College of Surgeons (RCS) rats, suffering retinal degeneration secondary to impaired retinal pigment epithelium phagocytosis caused by a MERTK mutation. Dystrophic RCS-p + female rats (n = 36) were divided into a non-treated group (n = 16) and a treated group (n = 20) that received taurine (0.2 M) in drinking water from postnatal day (P)21 to P45, when they were processed. Retinal function was assessed with electroretinogram. Retinal morphology was assessed in cross-sections using immunohistochemical techniques to label photoreceptors, retinal microglial and macroglial cells, active zones of conventional and ribbon synaptic connections, and oxidative stress. Retinal pigment epithelium function was examined using intraocular fluorogold injections. Our results document that taurine treatment increases taurine plasma levels and photoreceptor survival in dystrophic rats. The number of photoreceptor nuclei rows at P45 was 3-5 and 6-11 in untreated and treated animals, respectively. Electroretinograms showed increases of 70% in the rod response, 400% in the a-wave amplitude, 30% in the b-wave amplitude and 75% in the photopic b-wave response in treated animals. Treated animals also showed decreased numbers of microglial cells in the outer retinal layers, decreased glial fibrillary acidic protein (GFAP) expression in Müller cells, decreased oxidative stress in the outer and inner nuclear layers and improved maintenance of synaptic connections. Treated animals showed

increased FG phagocytosis in the retinal pigment epithelium cells. In conclusion, systemic taurine treatment decreases photoreceptor degeneration and increases electroretinographic responses in dystrophic RCS rats and these effects may be mediated through various neuroprotective mechanisms.

Taurine: a promising nutraceutical in the prevention of retinal degeneration

Diego García Ayuso ¹, Johnny Di Pierdomenico ¹, Ana Martínez Vacas ¹, Manuel Vidal Sanz ¹, Serge Picaud ², María Paz Villegas Pérez ¹.

Author information:

- ¹*Grupo de Investigación Oftalmología Experimental, Departamento de Oftalmología, Optometría, Otorrinolaringología y Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia, Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB), Campus de Ciencias de la Salud, Murcia, España.*
- ²*Sorbonne Université, INSERM, CNRS, Institut de la Vision, Paris, France.*

Taurine is considered a non-essential amino acid because it is synthesized by most mammals. However, dietary intake of taurine may be necessary to achieve the physiological levels required for the development, maintenance, and function of certain tissues. Taurine may be especially important for the retina. The concentration of taurine in the retina is higher than that in any other tissue in the body and taurine deficiency causes retinal oxidative stress, apoptosis, and degeneration of photoreceptors and retinal ganglion cells. Low plasma taurine levels may also underlie retinal degeneration in humans and therefore, taurine administration could exert retinal neuroprotective effects. Taurine has antioxidant, anti-apoptotic, immunomodulatory, and calcium homeostasis-regulatory properties. This review summarizes the role of taurine in retinal health and disease, where it appears that taurine may be a promising nutraceutical.

Neural Regen Res. 2023 Apr;18(4):807-808. doi: 10.4103/1673-5374.353491.

Taurine: an essential amino sulfonic acid for retinal health

Johnny Di Pierdomenico ¹, Ana Martínez Vacas ¹, Serge Picaud ², María Paz Villegas Pérez ¹, Diego García Ayuso ¹.

Author information:

- ¹*Grupo de Investigación Oftalmología Experimental, Departamento de Oftalmología, Optometría, Otorrinolaringología y Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia, Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB), Campus de Ciencias de la Salud, Murcia, España.*
- ²*Sorbonne Université, INSERM, CNRS, Institut de la Vision, Paris, France.*

Taurine, a non-essential amino sulfonic acid abundant in excitable tissues such as the retina, is especially important for the survival and development of retinal cells, particularly photoreceptors. Taurine deficiency, induced by diet or specific treatments, causes retinal degeneration, especially in cones and retinal ganglion cells. Animal studies using taurine depletion models have shown that this deficiency increases sensitivity to light damage and reduces antioxidant capacity, accelerating cell degeneration. Additionally, taurine depletion affects the phagocytic capacity of the retinal pigment epithelium and generates oxidative stress, contributing to the loss of retinal ganglion cells. This article suggests that taurine supplementation could have therapeutic potential in retinal degenerative diseases due to its low toxicity and easy absorption.

Intravitreal and subretinal syngeneic bone marrow mononuclear stem cell transplantation improves photoreceptor survival but does not ameliorate retinal function in two rat models of retinal degeneration

Johnny Di Pierdomenico ¹, Alejandro Gallego Ortega ¹, Ana Martínez Vacas ¹, David García Bernal ², Manuel Vidal Sanz ¹, María Paz Villegas Pérez ¹, Diego García Ayuso ¹.

Author information:

- ¹*Grupo de Investigación Oftalmología Experimental, Departamento de Oftalmología, Optometría, Otorrinolaringología y Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia, Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB), Campus de Ciencias de la Salud, Murcia, España.*
- ²*Departamento de Bioquímica, Biología Molecular B e Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia, Murcia, Spain.*

Purpose: To study and compare effects of syngeneic bone marrow mononuclear stem cells (BM-MNCs) transplants on inherited retinal degeneration in two animal models with different etiologies: the RCS and the P23H-1 rats. To compare the safety and efficacy of two methods of intraocular delivery: subretinal and/or intravitreal.

Methods: A suspension of BM-MNCs was injected subretinally or intravitreally in the left eyes of P23H-1 and RCS rats at post-natal day (P) 21. At different survival intervals after the injection: 7, 15, 30 or 60 days, the retinas were cross-sectioned, and photoreceptor survival and glial cell responses were investigated using immunodetection of cones (anti-cone arrestin), synaptic connections (anti-bassoon), microglia (anti-Iba-1), astrocytes and Müller cells (anti-GFAP). Electroretinographic function was also assessed longitudinally.

Results: Intravitreal injections (IVIs) or subretinal injections (SRIs) of BM-MNCs did not produce adverse effects. The transplanted cells survived for up to 15 days but did not penetrate the retina. Both IVIs and SRIs increased photoreceptor survival, decreased

synaptic degeneration and glial fibrillary acidic protein (GFAP) expression in Müller cells but did not modify microglial cell activation and migration or the electroretinographic responses.

Conclusions: Intravitreal and subretinal syngeneic BM-MNCs transplantation decreases photoreceptor degeneration and shows anti-gliotic effects on Müller cells but does not ameliorate retinal function. Moreover, syngeneic BM-MNCs transplants are more effective than the xenotransplants of these cells. BM-MNC transplantation has potential therapeutic effects that merit further investigation.