



**UNIVERSIDAD DE MURCIA**  
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

TESIS DOCTORAL

Efecto de las células madre sobre la función visual y  
retiniana en pacientes con retinosis pigmentaria

**Dña. Ana Vanesa García Navarro**  
**2024**





**UNIVERSIDAD DE MURCIA**  
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

TESIS DOCTORAL

Efecto de las células madre sobre la función visual y  
retiniana en pacientes con retinosis pigmentaria

Autor: Dña. Ana Vanesa García Navarro

Directores: Dr. Juan Manuel Bueno García  
Dra. M<sup>a</sup> Elena Rodríguez González-Herrero  
Dr. Miguel Blanquer Blanquer





**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD  
DE LA TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR**

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

D./Dña. Ana Vanesa García Navarro

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:

Efectos de las células madre sobre la función visual y retiniana en pacientes con retinosis pigmentaria

y dirigida por,

D./Dña. Juan Manuel Bueno García

D./Dña. M<sup>a</sup> Elena Rodríguez González-Herrero

D./Dña. Miguel Blanquer Blanquer

**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.

*Si la tesis hubiera sido autorizada como tesis por compendio de publicaciones o incluyese 1 o 2 publicaciones (como prevé el artículo 29.8 del reglamento), declarar que 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 10 de mayo de 2024

Fdo.: Ana Vanesa García Navarro.

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

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



*Hay una forma de parar el tiempo,  
desordenando la evolución.  
y en la prehistoria encontrar,  
esos ojos que no puedo olvidar.  
No me da miedo lo que tú me digas,  
ni esas historias del más allá,  
sólo me asusta escuchar  
los relojes en la oscuridad.*

(A. Vega Tallés, 1957-2009)

*A mi hijo, Juan Antonio.*



---

# *Resumen*

---

La Retinosis Pigmentaria o Retinitis Pigmentosa (RP) es la más frecuente de las enfermedades hereditarias de la retina. Actualmente no existe ni prevención como tal, ni tratamiento efectivo para esta patología ocular, lo que justifica la aplicación de acciones terapéuticas innovadoras, como es el caso de la terapia con células madre. Estudios en modelos animales han mostrado que las células mononucleadas derivadas de médula ósea (CMN-MOs) podrían ralentizar los efectos degenerativos de la RP. Los ensayos en humanos, aunque también prometedores, arrojan resultados diversos.

En esta Tesis Doctoral se presentan los resultados de un ensayo clínico en fase I usando una inyección intravítrea de CMN-MOs en un grupo de 8 pacientes con RP avanzada. Al final del periodo analizado (1 año), la agudeza visual (AV), tanto en lejos como en cerca, se mantuvo estable en algunos pacientes y aumentó en otros. Por su parte, la sensibilidad al contraste (SC) muestra un ligero aumento (especialmente a frecuencias bajas), pero los valores finales siguen estado en el rango considerado como patológico (o en el límite). Los pacientes que originariamente no presentaban anomalía a la visión del color permanecen como tal al terminar el periodo de estudio. Sin embargo, en todos los que sí presentaban anomalías se produce mejoría al acabar el ensayo, excepto en uno de ellos.

Las imágenes de Tomografía de Óptica Coherente (OCT) muestran valores basales de espesores retinianos anormales, que están asociados bien a la presencia de edema (exceso), bien a la pérdida celular (defecto). En la visita final, dichos espesores se han mantenido básicamente constantes o se han reducido (en el caso de edema).

La sensibilidad retiniana de los pacientes se sitúa en el rango de niveles patológicos y está correlacionada con el espesor retiniano y con la estabilidad de fijación, pero no con la AV ni con la SC. Durante el tratamiento con CMN-MOs el umbral de sensibilidad se mantuvo estable en 3 ojos y aumentó en 5. Los valores iniciales de integridad macular y estabilidad de fijación también son patológicos. Los cambios que se producen en estos dos parámetros durante el tiempo que dura en ensayo no revelan ninguna tendencia o comportamiento que indique mejoría.

Puesto que la inyección intravítrea de CMN-MOs en pacientes con RP ha conseguido mantener o mejorar moderadamente en el tiempo diferentes parámetros visuales y anatómicos analizados, se puede considerar que el tratamiento, al menos en esta fase I, es factible y con posibilidad de éxito.

---

# *Abstract*

---

Retinitis pigmentosa (RP) is the most frequent inherited retinal dystrophy. Nowadays there is neither prevention nor effective cure for this ocular pathology, what justifies the use of innovative therapies such as those based on stem cells. Studies on animal models have reported that bone marrow mononuclear stem cells (BM-MNCs) transplants might slow down retinal cell degeneration. Studies on humans, although promising, have shown different outcomes.

This PhD Thesis presents the results obtained from a phase I clinical trial that uses a single intravitreal injection of transplanted autologous BM-MNCs in a group of 8 patients with advanced RP over a one-year period. At the final visit, the visual acuity (VA) values were either stable or increased for both far and near vision. Contrast sensitivity (CS) presented a gentle increase (especially at low spatial frequencies), but final values were still within the pathological range. Subjects without chromatic anomalies at the basal visit kept as this during the study. The rest improved but one.

For the basal visit, optical coherence tomography (OCT) images showed unusual retinal thickness values. These are associated with edema (higher than normal) or cellular loss (lower than normal). For the final visit, those values either remained constant or reduced (in the presence of edema).

Retinal sensitivity was originally within the pathological standards. It was correlated with retinal thickness and fixation stability, but neither with VA nor with CS. During the considered period, the sensitivity threshold stayed stable in 3 eyes and increased in 5 eyes. Initial values of macular integrity and fixation stability were also pathological. Changes produced by the injection of autologous BM-MNCs didn't show a tendency or behavior associated to a certain improvement.

The procedure here reported led to a moderate improvement or maintenance of different visual and anatomical parameters (i.e., no remarkable disease progression), this suggests that stem cell therapy may be feasible and with possibilities of success.

---

# *Abreviaturas*

---

AEMPS	Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios
AT	Umbral de Sensibilidad Retiniana, Umbral Promedio o <i>Averaged Threshold</i>
AV	Agudeza Visual
CCC	Cerca Con Corrección
CMN-MOs	Células Madre Mononucleares Autólogas Derivadas de la Médula Ósea
CSC	Cerca Sin Corrección
CSF	Función Sensibilidad al Contraste o <i>Contrast Sensitivity Function</i>
D	Dioptrías
dB	Decibelios
EE	Esfera Equivalente o Equivalente Esférico
ETDRS	<i>Early Treatment Diabetic Retinopathy Study</i>
FS	Estabilidad de Fijación o <i>Fixation Stability</i>
HCUVA	Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca
LCC	Lejos Con Corrección
logMAR	logaritmo decimal del MAR
LSC	Lejos Sin Corrección
MAR	Ángulo Mínimo Resuelto
MI	Integridad Macular o <i>Macular Integrity</i>
MO	Médula Ósea
OCT	Tomografía de Coherencia Óptica u <i>Optical Coherence Tomography</i>
OD	Ojo Derecho
OI	Ojo Izquierdo
PIO	Presión Intraocular
RP	Retinosis Pigmentaria o <i>Retinitis Pigmentosa</i>
SC	Sensibilidad al Contraste o <i>Contrast Sensitivity</i>
SC-CC	Sensibilidad al Contraste Con Corrección.
SC-SC	Sensibilidad al Contraste Sin Corrección
SLO	Oftalmoscopio de Barrido Láser o <i>Scanning Laser Ophthalmoscope</i>



---

# Índice

---

<b>Capítulo 1. Introducción</b>	<b>1</b>
1.1. Anatomía de la retina	1
1.2. Retinosis Pigmentaria	3
1.2.1. Síntomas y signos	4
1.2.2. Tratamiento y prevención de la retinosis pigmentaria	5
1.3. Células madre	6
1.3.1. Concepto	6
1.3.2. Terapia con células madre en la retina	7
1.4. Agudeza visual	12
1.5. Sensibilidad al contraste	13
1.6. Visión del color	15
1.7. Tomografía de coherencia óptica	16
1.8. Campimetría y microperimetría	18
1.9. Objetivos y estructura del trabajo	22
<b>Capítulo 2. Material y métodos</b>	<b>25</b>
2.1. Características del ensayo clínico y de la población de estudio	27
2.2. Procedimiento de extracción y procesado de las CMN-MOs	28
2.3. Protocolo de inyección intravítrea	32
2.4. Pruebas ópticas/optométricas realizadas durante el ensayo	33
2.4.1. Medida de la agudeza visual y la refracción	34
2.4.2. Medida de la sensibilidad al contraste	35
2.4.3. Medida de la visión cromática	37
2.5. Pruebas clínicas oftalmológicas realizadas durante el ensayo	39
2.5.1. Medida de la presión intraocular	39
2.5.2. Registro de imágenes de OCT	40
2.5.3. Microperimetría y sensibilidad retiniana	44
<b>Capítulo 3. Agudeza visual</b>	<b>49</b>
3.1. Refracción ocular y presión intraocular	51
3.2. Agudeza visual en la visita basal	53
3.3. Evolución de la agudeza visual tras la inyección	56
3.3.1. Agudeza visual en lejos sin y con corrección	56
3.3.2. Agudeza visual en cerca sin y con corrección	59
3.4. Discusión	61
3.4.1. Refracción y presión intraocular	62
3.4.2. Agudeza visual en la visita basal	63
3.4.3. Agudeza visual en la visita final	64

<b>Capítulo 4. Sensibilidad al contraste y visión cromática</b>	<b>67</b>
4.1. Sensibilidad al contraste en la visita basal	69
4.2. Evolución de la sensibilidad al contraste tras la inyección	69
4.3. Visión cromática en la visita basal	73
4.4. Evolución de la visión cromática tras el tratamiento	74
4.5. Discusión	76
4.5.1. Sensibilidad al contraste	76
4.5.2. Visión cromática	78
<b>Capítulo 5. Espesor retiniano medido con OCT</b>	<b>81</b>
5.1. Espesores foveal y parafoveal en la visita basal	83
5.2. Evolución del espesor foveal central tras la inyección	85
5.2.1. Espesor foveal central	85
5.2.2. Espesor parafoveal	87
5.2.3. Espesor estándar (cubo macular)	88
5.3. Evolución del espesor de la capa de fibras nerviosas en la papila	90
5.4. Discusión	91
<b>Capítulo 6. Microperimetría</b>	<b>95</b>
6.1. Microperimetría en la visita basal	97
6.2. Evolución de la microperimetría tras la inyección	99
6.3. Evolución de la estabilidad de fijación	102
6.4. Discusión	104
<b>Capítulo 7. Conclusiones</b>	<b>107</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>111</b>
<b>Anexo I</b>	<b>125</b>
<b>Anexo II</b>	<b>127</b>
<b>Anexo III</b>	<b>137</b>
<b>Anexo IV</b>	<b>141</b>
<b>Agradecimientos</b>	<b>143</b>

---

# CAPÍTULO 1

---

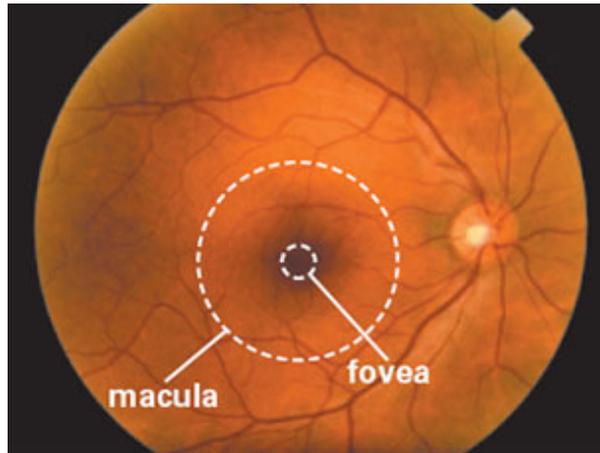
## Introducción

### 1.1. Anatomía de la retina

La retina es la parte más interna del ojo, se sitúa en el polo posterior del globo ocular, está formada por un tejido foto-sensible y en ella se ubican los fotorreceptores. Los rayos de luz procedentes de los objetos del mundo exterior atraviesan la córnea y el humor acuoso, pasan por la pupila, cruzan el cristalino y el humor vítreo, para finalmente enfocarse sobre la retina [Salmon, 2021].

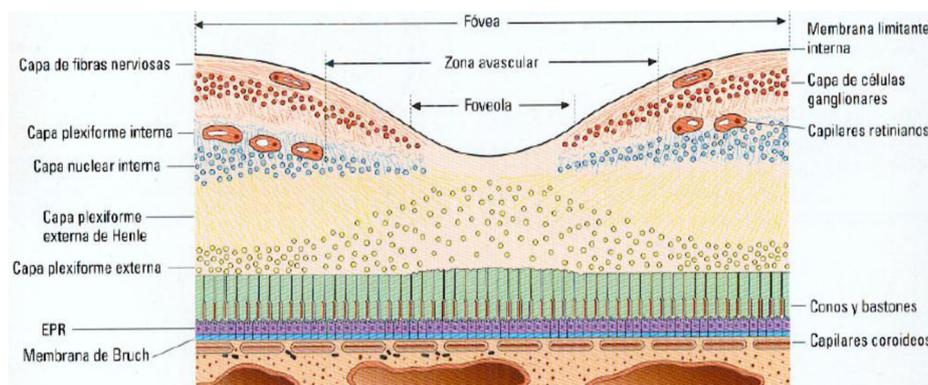
En la retina se encuentra la mácula (Figura 1.1) que es un área retiniana con forma circular de unos 5.5 mm de diámetro que contiene pigmento xantófilo (luteína de color amarillo) que la protege frente a radicales libres y de la radiación visible de onda corta (i.e. azules). La mácula es la zona de mejor visión de la retina, en cuyo centro se localiza la fovea, que es una depresión avascular con un diámetro de 1.5 mm. En la zona central de la fovea se encuentra la foveola (parte más delgada de la retina neural con unos 0.35 mm de diámetro) donde no hay células ganglionares y posee la máxima agudeza visual (AV) [Kaufman, 1992; Yannuzzi, 1990].

La retina es una estructura compleja compuesta por diferentes capas (Figura 1.2), que van desde la más externa (membrana de Bruch) hasta la más interna (membrana limitante interna, en contacto con el cuerpo vítreo). La coroides es una capa vascular y pigmentada que nutre a las capas retinianas más externas, está en contacto con la esclera por su parte exterior y con la membrana de Bruch por la interior.



**Figura 1.1.** Imagen real de la retina donde se ha marcado la localización de la mácula y la fóvea. También se pueden observar tanto los capilares retinianos como la papila o cabeza del nervio óptico. Fuente: [<https://oftalmologiaelche.com/sabias-que-la-retina-la-macula/>].

Tras la membrana de Bruch se sitúa el epitelio pigmentario y las células fotorreceptoras (segmentos externos de los conos y bastones). Siguiendo este orden nos encontramos con la limitante externa (conecta las células de Müller y los fotorreceptores), la nuclear externa (contiene los núcleos celulares de los fotorreceptores) y la plexiforme externa (sinapsis entre fotorreceptores y células bipolares), para pasar a la nuclear interna (núcleos de las células amacrinas, las bipolares y las horizontales) y a la plexiforme interna (conexión sináptica entre bipolares, amacrinas y células ganglionares). En la región más interna se sitúa las células ganglionares (núcleos), la capa de fibras retinianas (axones de las ganglionares) y finalmente la membrana limitante interna [Salmon, 2021].



**Figura 1.2.** Esquema de las capas que forma la estructura de la retina en la región foveal [Salmon, 2021]. La zona de máxima depresión es la foveola.

En la fóvea la sinapsis entre conos y células bipolares es 1:1, mientras que en la retina periférica pueden llegar a conectarse más de 1000 fotorreceptores (conos y bastones) a una única por célula bipolar [Kaufman, 1992]. Debido a ello es el área de la retina altamente especializada en la visión de detalles.

Los conos junto con los bastones son células fotorreceptoras, también llamadas fotosensibles, encargadas de transformar la luz en impulsos nerviosos y a través de los axones de las células ganglionares y del nervio óptico enviar la información hacia la corteza visual primaria para así poder ver. Es por ello que la retina se considera como una extensión periférica del sistema nervioso central. Existen tres tipos de conos (véase también el apartado 1.6) atendiendo al fotorpigmento que albergan: L, M y S, cuyos máximos de sensibilidad espectral están en los rojos, verdes y azules (es decir, longitudes de onda largas, medias y cortas). Los conos son los encargados de la visión en condiciones de iluminación fotópicas y de la visión de los colores. La mayor concentración de este tipo de células se encuentra en la foveola donde la densidad media es de unos 120.000 mm<sup>2</sup>, lo que indica que también son los responsables de la visión central. Sólo existe un tipo de bastones y tiene un máximo de sensibilidad alrededor de 500 nm (luz verde-azulada). Su mayor concentración está en la retina periférica y éstos se encargan de la visión periférica. Los bastones se empiezan a estimular en condiciones de iluminación mesópicas y son básicamente los responsables de la visión en condiciones escotópicas [Kaufman, 1992; Salmon, 2021; Yannuzzi, 1990].

## **1.2. Retinosis Pigmentaria**

La Retinosis Pigmentaria o Retinitis Pigmentosa (RP) pertenece a un grupo de enfermedades retinianas hereditarias. Afecta a 1/4.000 personas de la población global y se considera la cuarta causa de ceguera a nivel mundial. Se le suele considerar como una enfermedad rara o poco frecuente [Herse, 2005]. En España se estima que 500.000 personas son portadoras de dicha enfermedad y la padecen más de 15.000 personas [Bilbao Porta, 2017]. En particular, según la Consejería de Salud, en la Región de Murcia a finales de 2020 había 354 personas diagnosticadas de RP. Esto supone que hay 233 casos por cada millón de habitantes [[https://www.murciasalud.es/-/20220924\\_retinosis\\_pigmentaria](https://www.murciasalud.es/-/20220924_retinosis_pigmentaria)]. Cuando la enfermedad es autosómica recesiva (los padres del paciente no padecen RP, aunque son portadores) debuta sobre los 11 años y cuando es dominante (alguno de los padres sí padece RP) comienza sobre los 24 años [Dutt, 2009]. Según la Sociedad Española de Retina y Vítreo, la RP es la más frecuente de las enfermedades hereditarias de la retina.

La RP es una distrofia de la retina externa producida por la muerte progresiva de fotorreceptores por apoptosis, que afecta inicialmente a los bastones y posteriormente a los conos. La alteración funcional de los fotorreceptores, del epitelio pigmentario y de la función de las células de la retina interna, lleva a la pérdida de células ganglionares y finalmente a la ceguera [Li, 1995; Pagon, 1988].

En la Figura 1.3 se presenta un ejemplo de retina afectada de RP en uno de los pacientes involucrados en el ensayo clínico que sienta las bases del estudio de esta Tesis Doctoral. La imagen del fondo de ojo suele mostrar una despigmentación y zonas de atrofia del epitelio pigmentario.



**Figura 1.3.** Fondo de ojo que muestra la retina de uno de los pacientes con RP estudiado en este trabajo.

### 1.2.1. Síntomas y signos

Los síntomas y signos de la RP dependen de la etapa en la que está la patología y su evolución (progresión y gravedad) varía de unos pacientes a otros. Puesto que la patología trae consigo primeramente una pérdida de bastones, el síntoma inicial más frecuente es la ceguera nocturna (o nictalopía). El examen visual de los pacientes revela visión defectuosa en la zona medio-periférica del campo visual debido a la formación de un escotoma irregular. Conforme avanza la enfermedad, se va perdiendo campo de visión (hacia el centro y la periferia) y los conos pueden empezar a verse afectados [Hamel, 2006]. Se produce apóptosis de fotorreceptores y acumulación de pigmento que se aprecia fácilmente en las imágenes de fondo de ojo (véase la Figura 1.3).

En algunos casos es la visión central la que se ve gravemente afectada en la etapa inicial, mientras que aún se prevea una parte significativa del campo visual periférico. Esto se debe a la formación de un edema macular, a la generación de una membrana epirretiniana o a cambios degenerativos en la mácula [Bird, 1988].

La AV puede verse afectada en la etapa final (~40-50 años), porque el campo visual se va reduciendo progresivamente dando lugar a un escotoma en forma de anillo, y en ocasiones producir visión de túnel y llegar a ceguera legal cuando la AV es inferior a 0.1 y/o el campo visual menor de 10° [Hamel, 2006]. La RP también puede generar anomalías en la visión del color [Berson, 1994]. Normalmente la evolución de la RP es lenta y simétrica en ambos ojos (bilateral), por lo que el paciente suele ser consciente de tener problemas visuales cuando la RP

está en un estadio avanzado.

En la Figura 1.4 se muestran las retinas de tres pacientes que sufren RP en diferentes etapas de la enfermedad. Los signos que se observan en la retina de los ojos con RP son los siguientes: depósitos pigmentarios principalmente en la periferia de la retina, atenuación de los vasos retinianos, adelgazamiento arteriolar retiniano, palidez papilar y diferentes grados de atrofia retiniana. En algunos casos también se puede observar celularidad del vítreo y desprendimiento del vítreo posterior. Suelen desarrollar también catarata subcapular posterior. Aproximadamente entre el 10% y el 40% de los pacientes con RP presenta edema macular. También son muy comunes los defectos refractivos asociados, principalmente miopía y astigmatismo [Berson, 1993a].



(a) (b) (c)  
**Figura 1.4.** Fondo de ojo de pacientes con RP en diferentes etapas de la patología: (a) temprana (estadio I); (b) avanzada (estadio II); (c) final (estadio III). Fuente: [Hamel, 2006].

En la etapa inicial las amplitudes de los electroretinogramas (que proporcionan una medida cuantitativa de la función retiniana) pueden parecer normales, puesto que la retina solamente está afectada de forma parcial. Al progresar la RP, dichas amplitudes van disminuyendo y se ven más afectadas en condiciones escotópicas que en fotópicas, hasta llegar al punto en el cual no se pueden registrar en condiciones escotópicas [Milam, 1995].

### 1.2.2. Tratamiento y prevención de la retinosis pigmentaria

Actualmente no existe ni prevención como tal, ni tratamiento efectivo para la RP. Lo único que se puede hacer con este proceso degenerativo es intentar ralentizarlo con diferentes tratamientos terapéuticos. Se han intentado diferentes aproximaciones terapéuticas, que van desde los suplementos alimenticios con vitaminas (A y E) [Berson, 1993b], y el uso de cortisona o vasodilatadores [Steffensen, 1951], hasta lentes con filtros especiales [Cedrún-Sánchez, 2018], pasando por inyecciones subretinianas de células retinianas fetales o tratamientos con extractos placentarios [Jacobson, 2010; Shintani, 2009], entre otros. Otras estrategias incluyen terapia génica [Musarella, 2010], trasplante de retina [Coffey, 2017; Health Quality Ontario,

2017] y el empleo de células madre [Dahmann-Noor, 2010; Rodríguez González-Herrero, 2017]. Son precisamente estas últimas en las que se centra el presente trabajo.

## **1.3. Células madre**

### ***1.3.1. Concepto***

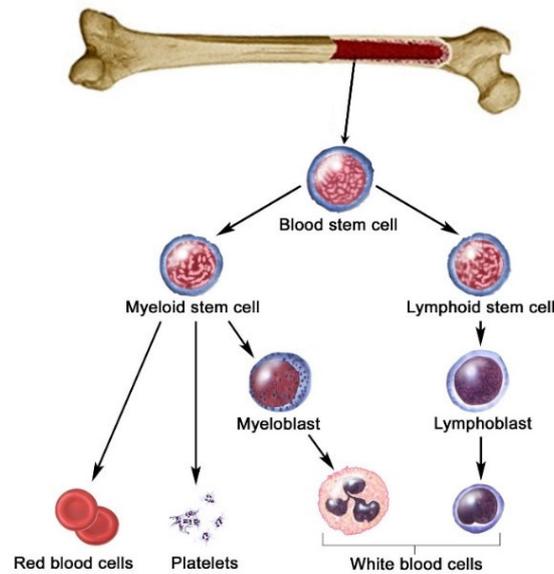
Las células madre (progenitoras, troncales o *stem cells*, de su nombre en inglés) forman la base o materia prima del cuerpo de los organismos pluricelulares [Thomson, 1998]. El término fue acuñado a finales de siglo XIX por Boveri y Haecker [Ramalho-Santos, 2007]. Una célula madre tiene la capacidad de (1) dividirse para dar lugar a todas las demás células especializadas y (2) de autorrenovarse para generar más células madre [Inaba, 2012]. Son las únicas células que pueden generar nuevos tipos de células y es en esta plasticidad donde radica tanto su alto potencial, como la razón por la que ocupan un extraordinario protagonismo en diversos campos científicos y clínicos. La generación de células con las correspondientes funciones especializadas (o células hijas) se conoce como diferenciación, la cual da lugar, por ejemplo, a las células óseas o a las sanguíneas.

El concepto de célula madre es similar tanto en animales como en plantas, aunque en los primeros hay diferentes tipos celulares que dan lugar a su clasificación [Moraleta, 2004; Smith, 2006]. En mamíferos se suele hablar de dos grandes tipos de células madre: embrionarias y adultas. También se pueden dividir en pluripotentes y unipotentes. Las primeras son las células maduras específicas de un tejido u órgano que de forma natural se encargan de la renovación (por desgaste) o reparación (por daño) e incluyen las sanguíneas, las de la piel o las hepáticas, entre otras. En el año 2012 Yamanaka y Gurdon recibieron el Premio Nobel en Medicina “por el descubrimiento de que las células maduras se pueden reprogramar para convertirse en pluripotentes” [<https://www.nobelprize.org>].

Un ejemplo paradigmático de las células madre adultas son las de interés para esta Tesis Doctoral: las células madre hematopoyéticas de médula ósea. Son éstas las que se encargan de la formación de las células del tejido sanguíneo, es decir de los glóbulos rojos, los blancos y las plaquetas (Figura 1.5) [Cooper, 2011; Jiang, 2002]. Este tipo de células también se encuentran en el cordón umbilical y su utilidad práctica fue establecida por primera vez a comienzos de los años 60 del siglo pasado por McColloch y Till [Ramalho-Santos, 2007]. En el contexto de trasplante, las células madre se denominan autólogas cuando proceden de la misma persona.

La médula ósea ocupa el espacio entre las trabéculas del hueso, como es el caso de la pelvis, las costillas o las vértebras. En el cuerpo humano sano se generan a diario miles de millones de

células sanguíneas nuevas. La extracción se lleva a cabo por medio de una cirugía sencilla (véase el apartado 2.2 del Capítulo 2).



**Figura 1.5.** Esquema de producción de las células de la sangre a partir de una célula madre (adaptado de [<https://www.cancer.gov>], © 2007 Terese Winslow).

La habilidad de las células madre para reparar tejidos dañados y regenerar células muertas ha empujado a los científicos a explorar su uso para la posible cura de diferentes enfermedades. A día de hoy, las células madre se utilizan en multitud de terapias experimentales desde cáncer a diabetes, pasando por enfermedades neurodegenerativas o respiratorias. Sin embargo, nuestro interés se centra en su utilización en el tratamiento de patologías oculares y en particular de la retina [Charbord, 2010; Sharma, 2021].

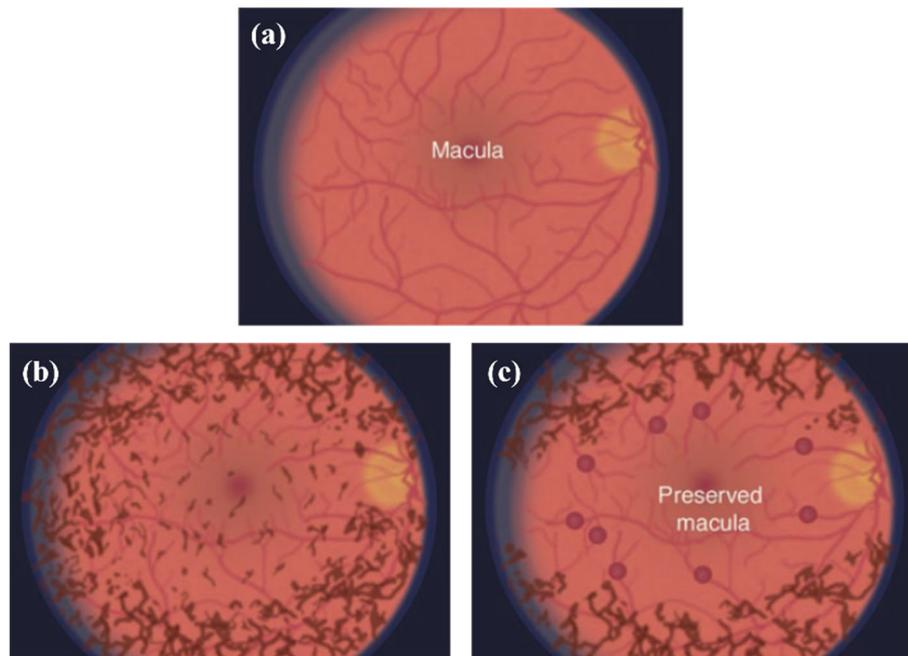
### ***1.3.2. Terapia con células madre en la retina***

La degeneración de la retina es una de las causas más probables de pérdida de visión y lleva de forma progresiva a la ceguera. Los procesos que se producen son irreversibles, puesto que los tejidos retinianos no son capaces de regenerarse tras sufrir cualquier tipo de patología o daño externo. En particular ni los fotorreceptores que han sufrido apoptosis ni las células del epitelio pigmentario pueden dividirse ni ser sustituidos con nuevas células. Las patologías más comunes incluyen la retinopatía diabética, la degeneración macular asociada a la edad, la enfermedad de Stargardt y la RP [German, 2021].

La retina forma parte del sistema nervioso central, pero su estructura es mucho más simple que la del cerebro, lo que en principio podría hacer que su regeneración fuese más factible. Su organización en capas y el limitado número de células que la componen son factores que

potencialmente favorecen estrategias de mejora o bloqueo de enfermedades neurodegenerativas.

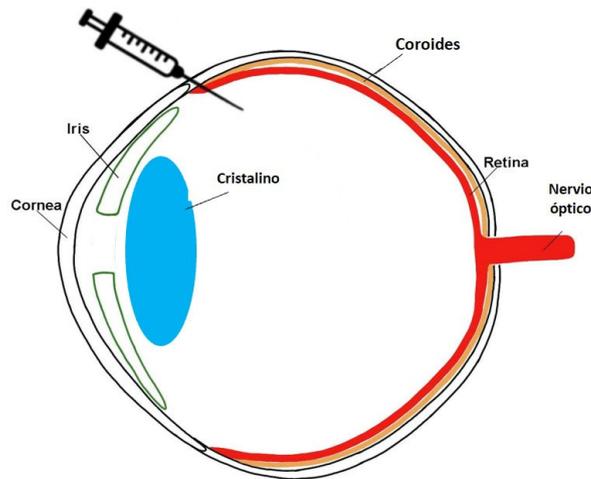
A principios del siglo XXI, Iqbal Ahmad ya propuso que puesto que las células madre habían mostrado evidencias positivas en neurodegeneración, éstas podrían ser candidatas a ser utilizadas en patologías oculares, primeramente en modelos animales y posteriormente en humanos [Ahmad, 2001]. Así, Otani y colaboradores usaron inyecciones intravítreas de células madre autólogas de la médula ósea en modelos de ratón. Observaron estabilización en la circulación de los capilares retinianos que previamente habían degenerado [Otani, 2002], lo que podría frenar la pérdida de fotorreceptores y por tanto conservar la visión central en enfermedades retinianas degenerativas (Figura 1.6) [Smith, 2004]. Además de esta mejora de la perfusión con angiogénesis, otros estudios también en modelos animales mostraron un reemplazo de células dañadas [Arnhold, 2007; Otani, 2004; Spaide, 2008].



**Figura 1.6.** (a) Retina sana; (b) retina con RP; (c) hipotética conservación de la mácula tras el uso de células madre (figura adaptada de [Smith, 2004]).

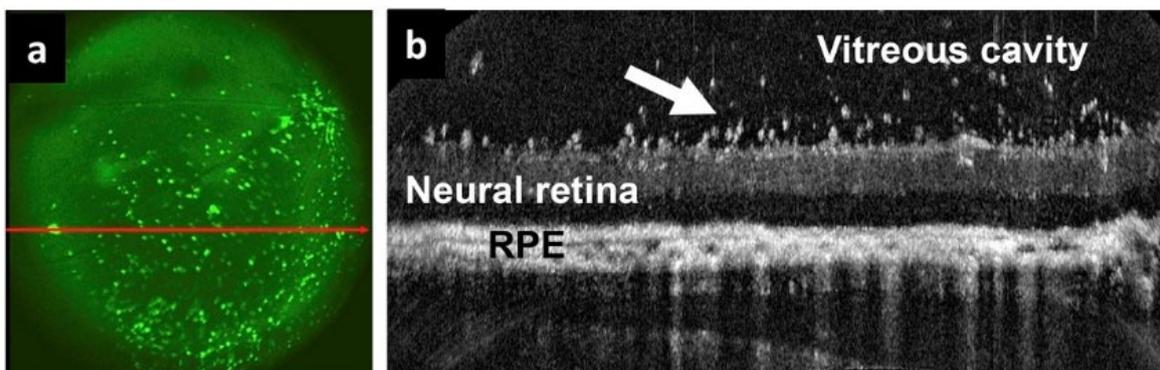
La terapia ocular con células madre utiliza éstas con el objetivo de al menos ralentizar la degeneración. Aunque el salto de modelos animales a humanos no es trivial, en 2008 se demostró la aplicabilidad clínica de la inyección intravítrea (Figura 1.7) de células madre mononucleares autólogas derivadas de la médula ósea (CMN-MOs) en un paciente de 43 años con una atrofia retiniana avanzada originada por una retinopatía diabética. Pasada una semana no se encontraron efectos secundarios tales como inflamación o infección [Jonas, 2008]. Posteriormente se aplicó la técnica a 3 pacientes con glaucoma y degeneración macular por retinopatía diabética [Jonas, 2010]. Al mes de la intervención la presión intraocular (PIO) se

había estabilizado y la AV permaneció estable entre esa visita y las posteriores (2, 10 y 12 meses tras la inyección).



**Figura 1.7.** Esquema que representa el procedimiento de inyección intravítrea (ilustración adaptada de [García-Ayuso, 2022]).

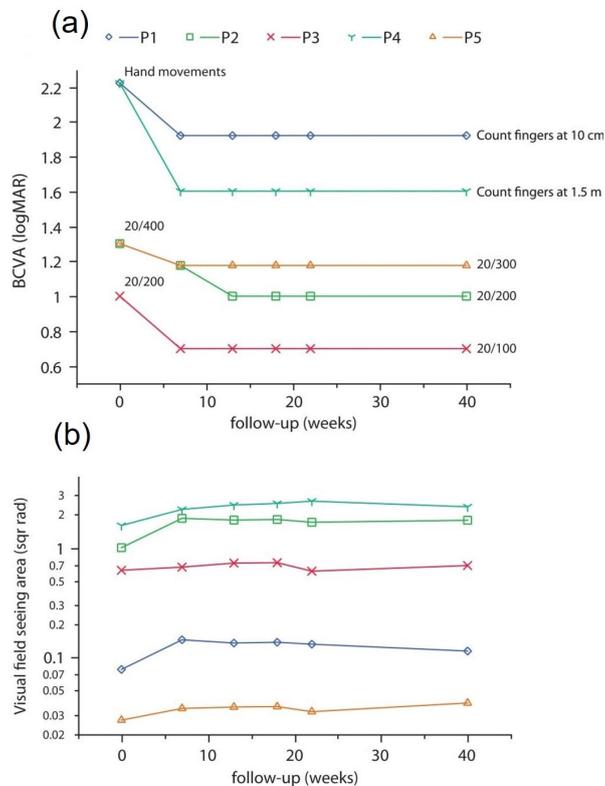
Información adicional sobre un gran número de experimentos con células madre en animales, así como detalles de los primeros estudios en humanos con patologías retinianas puede encontrarse en el artículo de revisión de Siqueira [Siqueira, 2011a]. En la Figura 1.8 se muestra un ejemplo de cómo las células madre se van integrando en la retina a la semana de la inyección intravítrea en un modelo de ratón [Singh, 2020].



**Figura 1.8.** Inyección intravítrea de células madre humanas en la retina de un modelo de ratón. (a) Imagen de fondo registrada con un oftalmoscopio de escaneo láser. (b) Imagen OCT (figura adaptada de [Singh, 2020]).

Al hilo de los primeros resultados publicados en humanos, Siqueira *et al.* realizaron un ensayo clínico prospectivo (fase 1) con la misma terapia de CMN-MOs en 5 pacientes (3 con RP y 2 con distrofia de conos y bastones) con AV igual o por debajo de 20/200. Se realizaron varias pruebas clínicas (AV, electroretinografía, angiografía,...) durante un periodo de 10 meses tras la inyección [Siqueira, 2011b]. No se observaron efectos adversos durante el tratamiento. Tras 1 semana, la AV aumento en una línea en 4 pacientes, hecho que se mantuvo

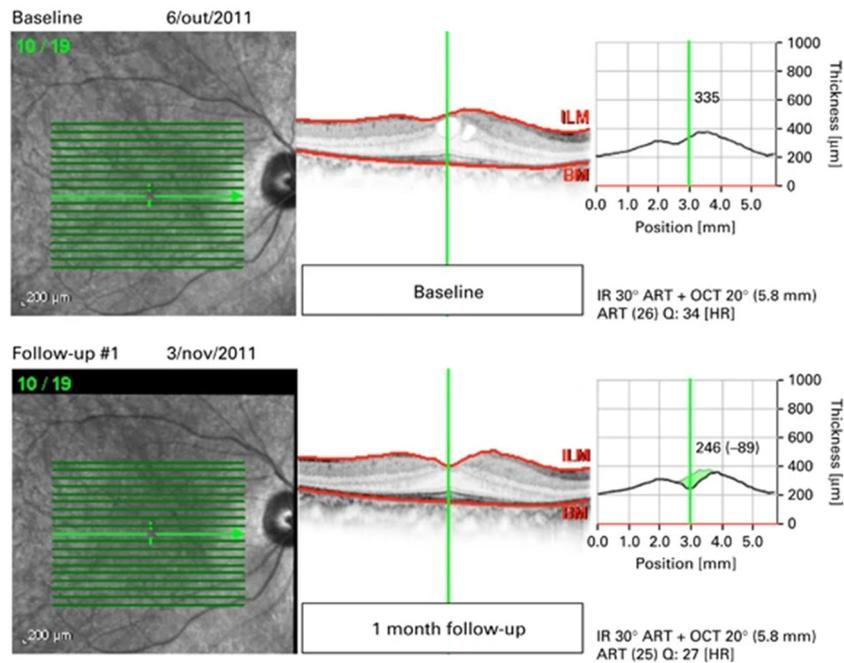
durante todo el tiempo que duró el estudio (Figura 1.9). No hubo cambios ni en el campo visual, ni en la OCT, ni en las angiografías. En 3 de los pacientes los electroretinogramas no mostraron respuesta alguna.



**Figura 1.9.** Evolución de la AV (a) y el campo visual (b) en 5 pacientes con distrofia retiniana hereditaria tras la inyección de CMN-MOs [Siqueira, 2011b].

En la fase 2 del estudio los autores analizaron un caso de RP con edema macular cistoide (aquel en el que en la mácula aparecen inflamaciones con líquido que tienen la apariencia de pequeños quistes) [Siqueira, 2013]. A la semana de la inyección el edema estaba completamente resuelto y permaneció estable durante el mes que duró el estudio (Figura 1.10). También se observó una mejora tanto en la AV (de 20/50 a 20/32) como en la sensibilidad macular (medida con microperimetría). Aunque estos efectos mejoran la calidad de vida de los pacientes, podrían no mantenerse en el tiempo [Siquiera, 2015]. En el caso de un paciente con RP y oclusión de la arteria central de la retina la terapia no funcionó [Boudreault, 2016].

Satarian y colaboradores realizaron un estudio similar a los de Siqueira pero estudiando los efectos de la inyección intravítrea de células madre mesenquimales en 3 pacientes con RP avanzada [Satarian, 2017]. En 2 de los 3 pacientes la inyección no presentó efectos adversos. En estos ojos, los autores apuntan que hubo una mejora en la percepción de luz (hasta los 3 meses que duró el ensayo) pero no dan más detalles sobre la mejora visual en AV (aunque afirman que hacen dichas medidas).



**Figura 1.10.** Resolución del edema macular asociado a la RP tras la inyección intravítrea de CMN-MOs [Siqueira, 2013].

Tuekprakhon y colaboradores usaron el mismo tipo de células en 14 pacientes con RP. Durante los 12 meses que duró el estudio sólo detectaron incidencias consideradas no-graves [Tuekprakhon, 2021]. Aunque todos los pacientes aumentaron su AV a los pocos meses de la inyección, volvieron a valores basales a final del estudio.

El CD34 es una glucoproteína usada como marcador para identificar las células madre hematopoyéticas humanas. De las células de la médula ósea, solamente el 1.5% expresan el CD34 (es decir, son CD34+). En modelos animales, se había explorado que estas células podían ser una potencial terapia para retinas en condiciones degenerativas o isquémicas [Otani, 2004; Caballero, 2007], pues tras la inyección intravítrea, éstas migran a la retina y se alojan en la zona vascular o neural dañada [Caballero, 2007]. Con esta idea, Park y co-autores trataron 6 ojos de pacientes con diferentes patologías retinianas (entre ellas la RP) [Park, 2014]. La terapia no originó inflamación y la AV no empeoró durante los 6 meses que duró en ensayo. Más recientemente, Siqueira *et al.* han presentado un caso clínico de un paciente con RP y agujero macular [Siqueira, 2021]. La inyección intravítrea de CMN-MOs CD34+ produjo un aumento en la AV de 0.05 a 0.13 a los 3 meses, pero no hubo cambios en las imágenes registradas con OCT.

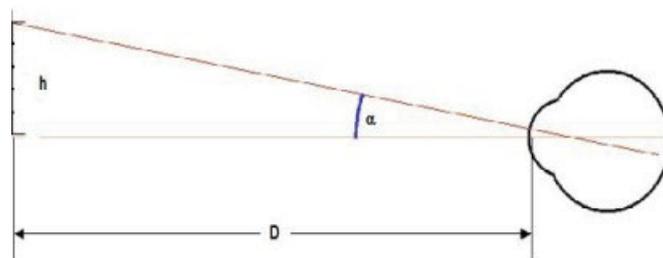
A lo largo y ancho del mundo desarrollado hay clínicas que ofrecen terapias con células madre a muy alto coste, pero siempre a sabiendas de que los métodos están en constante investigación y los ensayos clínicos están todavía en etapas preliminares. La autorización para estos ensayos clínicos es puntual y hoy en día no existe ningún país que tenga autorizadas estas

terapias como un método clínico formal y regulado [Taylor-Weiner, 2015]. A pesar de todo ello, tanto los estudios sobre células madre como su uso experimental se ha incrementado enormemente en los últimos años.

No obstante, todavía no se conocen de forma fehaciente ni las ventajas ni los inconvenientes de su uso. A pesar de que el uso de células autólogas reducen la probabilidad de rechazo, existen otros riesgos en estas terapias, como infecciones, daño secundario en otras estructuras oculares o incluso la aparición de tumores [German, 2021; Sharma, 2021].

## 1.4. Agudeza visual

La AV es la capacidad del sistema visual para detectar y distinguir dos puntos próximos entre sí, y separados una distancia determinada y formando el correspondiente ángulo  $\alpha$  (Figura 1.11). Se cuantifica en valor decimal como la inversa al ángulo mínimo resuelto (MAR) expresado en minutos de arco ( $AV = 1/\alpha$ ) [Kaufman, 1992]. Es decir, una persona con una AV decimal de 1.0 es capaz de discernir dos puntos separados una distancia tal que el ángulo que subtende es de 1'. Este valor de 1.0 es el que se considera como una AV "normal". Resulta evidente que  $MAR = 1/AV$  y que para calcular el valor en unidades logMAR no hay más que calcular el logaritmo decimal del MAR. La Tabla 1.1 muestra ejemplos de conversión de una notación a otra. Para la medida subjetiva de la AV se utilizan los denominados optotipos, con símbolos en forma de letras, números o dibujos.



**Figura 1.11.** Concepto de AV. La mínima distancia entre los dos puntos espacialmente resueltos es  $h$  y el ángulo que subtenden,  $\alpha$  (esquema adaptado de [Kaufman, 1992]).

La notación decimal de la AV se suele dar a veces en forma de "fracción de Snellen". En dicha fracción el numerador son los 6 m a los que se mide la AV y el denominador indica la distancia a la que una persona con una visión óptima es capaz de leer el mismo optotipo [<https://mimundovisual.com/>]. En el Reino Unido y EEUU donde en lugar del Sistema Internacional de Medida se utiliza el Sistema Imperial, los metros se cambian por pies (6 m = 20 pies).

Decimal	MAR	LogMAR	Fracción	Snellen (6m)	Snellen (20 pies)
1,5	0,67	-0,17	3/2	6/4	20/13,33
1,4	0,71	-0,15	3/2,14	6/4,28	20/14,29
1,2	0,83	-0,08	1/0,83	6/5	20/16,66
1	1	0	1/1	6/6	20/20
0,8	1,25	0,1	4/5	6/7,5	20/25
0,6	1,67	0,22	3/5	6/10	20/33,33
0,4	2,5	0,4	2/5	6/15	20/50
0,2	5	0,7	1/5	6/30	20/100
0,1	10	1	1/10	6/60	20/200
0,05	20	1,3	1/20	6/120	20/400

**Tabla 1.1.** Conversión de AV decimal a MAR, logMAR y fracción de Snellen.

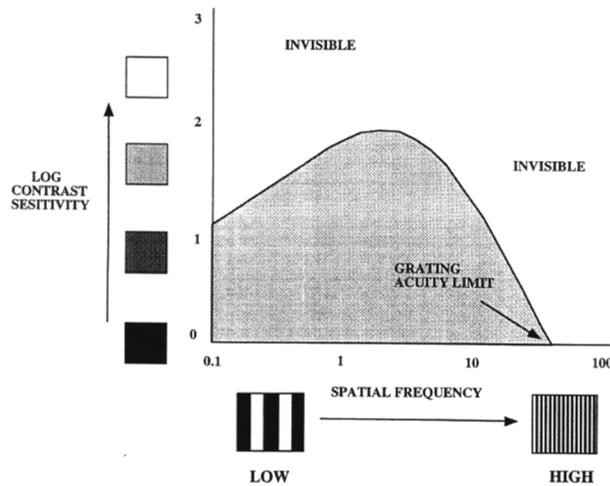
La media de la AV es una de las pruebas optométricas esenciales para un diagnóstico inicial de cualquier tipo de patología ocular, en particular en la RP, donde dicho parámetro visual va reduciéndose progresivamente conforme la enfermedad avanza [Pagon, 1988].

## 1.5. Sensibilidad al contraste

La AV sirve para detectar el mínimo tamaño de detalle resoluble a ojo desnudo cuando el estímulo se presenta en condiciones de alto contraste (test extenso negro con bordes bien definidos sobre fondo blanco). Sin embargo, ¿qué ocurre cuando el objeto no tiene contraste unidad? y ¿cómo afectan los diferentes tamaños de objetos y el contraste de éstos a los límites de la visión espacial?

La función de sensibilidad al contraste (CSF, del inglés *Contrast Sensitivity Function*) sirve para medir la sensibilidad o capacidad de detección del sistema visual de diferentes tamaños (frecuencias espaciales) y contrastes de objetos. La medida de esta sensibilidad al contraste (SC) complementa las medidas de AV. A partir de la CSF se puede calcular la AV, cuyo valor será el punto de corte de dicha función con el eje (X) de las frecuencias espaciales (Figura 1.12). El uso de la CSF para la caracterización del sistema visual se generalizó en los años 60 [Artigas, 1995].

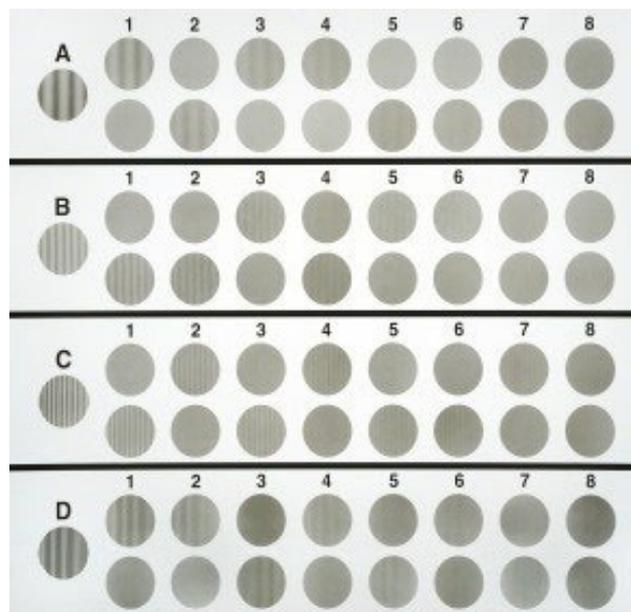
El método más común para la medida de la SC es el mostrar redes senoidales de diferentes frecuencias espaciales (véase parte inferior de la Figura 1.12). Para cada frecuencia espacial se va reduciendo el contraste de la red hasta que el observador vea un campo uniforme, es decir, alcance el umbral. La inversa de este contraste umbral es el valor de la SC para esa frecuencia espacial. El procedimiento se repite para cada frecuencia espacial lo que permite obtener la CFS.



**Figura 1.12.** Concepto de CSF. En el eje de las abscisas se representan las frecuencias espaciales y en el de las ordenadas el contraste umbral (habitualmente en escala logarítmica) [Benes, 1992].

Los factores ópticos que influyen sobre la SC son los errores refractivos, el tamaño de pupila, el *scattering* (cataratas, ojo seco), la iluminación ambiental y las patologías oculares, entre otros [Akeo, 2002; Bittner, 2020; Ortiz, 2010; Villegas, 2002].

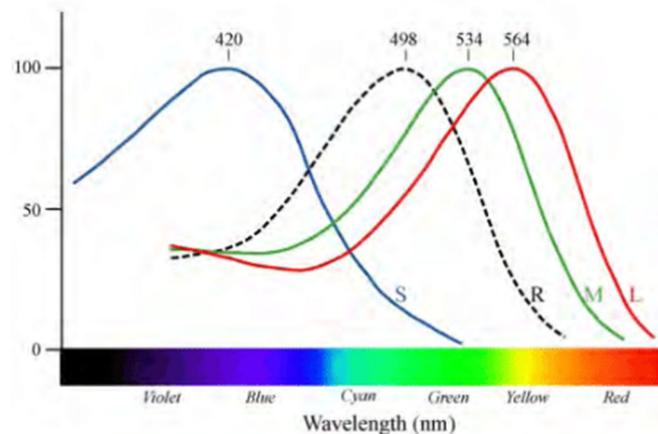
En la Figura 1.13 se muestra, como ejemplo, uno de los test más extendidos para la medida de la SC: el CSV-1000E. El panel está dividido en 4 filas que contienen redes senoidales con frecuencias espaciales de 3, 6, 12 y 18 ciclos/grado (de arriba a abajo). En cada una de las filas, los patrones cambian de contraste al movernos de izquierda a derecha.



**Figura 1.13.** Test CSF-1000E usado para la medida de la SC. Fuente: [<https://www.vectorvision.com/csv1000-contrast-sensitivity/>].

## 1.6. Visión del color

La retina humana es sensible a la fracción del espectro situada aproximadamente entre las longitudes de onda de 380 nm (violeta) y 750 nm (rojo - infrarrojo cercano), denominada “zona visible”. Los fotorreceptores encargados de la visión del color son los conos [Kremers, 2016], que en los humanos son de tres tipos dependiendo de su sensibilidad espectral. Los conos azules (tipo S) son sensibles a longitudes de onda cortas y tienen su máximo de sensibilidad en ~420 nm. Por su parte los conos verdes (tipo M) y rojos (tipo L) tienen máximos en ~530 nm y ~560 nm respectivamente (Figura 1.14).



**Figura 1.14.** Sensibilidad espectral de los conos (S, M y L) y los bastones (R) [Perz, 2010].

En condiciones normales, los estímulos de luz con diferentes longitudes de onda dan lugar a la visión cromática. Tal es así que cualquier variación, cambio significativo o ausencia de sensibilidad espectral de estos conos puede dar lugar a una alteración cromática [Kremers, 2016]. Estas alteraciones pueden ser hereditarias, congénitas o adquiridas. Las adquiridas pueden producirse por diferentes razones tales como patologías retinianas (degeneración macular, RP,...), alteraciones en el cristalino, déficit de AV y/o campo visual, o incluso por consumo crónico de alcohol [Álvarez García, 2010].

La sensibilidad de los bastones (encargados de la visión nocturna) es diferente de la de los conos (Figura 1.14) y además su pico se desplaza hacia la derecha al pasar de condiciones de iluminación escotópicas a fotópicas [Perz, 2010].

Existen varios test para evaluar la visión cromática, aunque el más extendido es el test de Ishihara. Las láminas de las que consta este test sirven para detectar deficiencias rojo-verde (protanopía/protanomalia - deuteranopía/deuteranomalia) o ceguera cromática total (debilidad cromática). Sin embargo, esta prueba no diagnostica la deficiencia azul-amarillo (tritanopía/tritanomalia) [Arco Comino, 2019]. Detalles sobre su funcionamiento se pueden consultar en el apartado 2.4.3.

Como ejemplo, la Tabla 1.2 muestra el resultado visual (“número que se ve”) que se obtendría de las 20 primeras láminas dependiendo de la anomalía o deficiencia visual del paciente.

<i>Número de lámina</i>	<i>Visión normal</i>	<i>Con deficiencias rojo-verde</i>	<i>Con ceguera cromática total</i>
1	12	12	12
2	8	3	x
3	6	5	x
4	29	70	x
5	57	35	x
6	5	2	x
7	3	5	x
8	15	17	x
9	74	21	x
10	2	x	x
11	6	x	x
12	97	x	x
13	45	x	x
14	5	x	x
15	7	x	x
16	16	x	x
17	73	x	x
18	x	5	x
19	x	2	x
20	x	45	x

**Tabla 1.2.** Resultados visuales para varias de las láminas del test de Ishihara dependiendo del tipo de anomalía o deficiencia cromática existente. La “x” indica que el paciente no puede identificar ningún número dentro de la lámina.

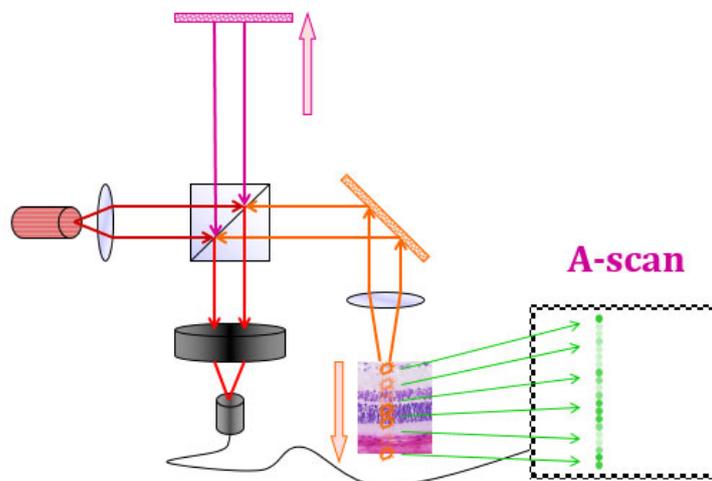
## 1.7. Tomografía de coherencia óptica

La Tomografía de Coherencia Óptica (OCT, de su término en inglés *Optical Coherence Tomography*) es una técnica de imagen de no-contacto muy utilizada en el campo de la Oftalmología. Desde su invención en 1991 [Huang, 1991] han sido muchas las compañías que han desarrollado y patentado sus propios instrumentos, los cuales proporcionan imágenes de las estructuras oculares cada vez con más resolución. Aunque inicialmente estaba pensada para analizar la retina, hoy en día hay versiones de instrumentos OCT que permiten también registrar imágenes de la cámara anterior del ojo.

Esencialmente, la imagen OCT es el resultado de la interferencia de dos haces de luz infrarroja, uno que funciona como sonda (se refleja a distintas profundidades dentro en los tejidos objeto de estudio) y otro que actúa como referencia (Figura 1.15). Dicha imagen OCT es el resultado de la diferencia de caminos ópticos recorridos por ambos haces y que en el caso de la sonda cambia debido a los diferentes índices de refracción que la luz se encuentra en su

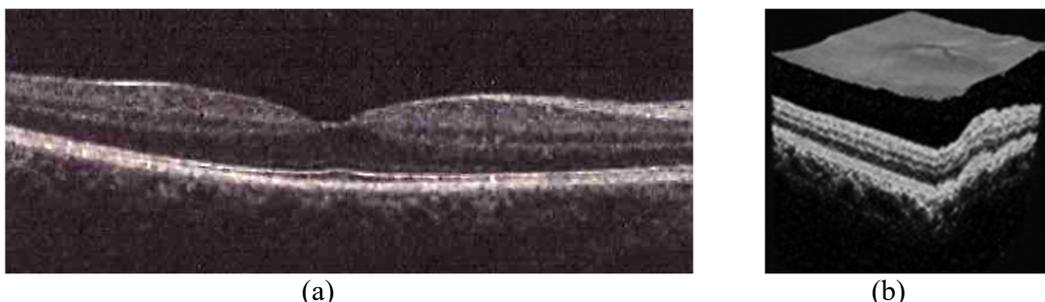
camino. Detalles exhaustivos sobre el concepto y funcionamiento de la OCT se pueden consultar en [Drexler, 2004; Fercher, 2003].

La tecnología de estos instrumentos permite obtener imágenes no invasivas del ojo en vivo similares a las de los cortes histológicos de los tejidos. Así, un barrido a lo largo de la dirección Z de la muestra (en profundidad) se denomina un *A-scan* (Figura 1.15). Sucesivos *A-scans* de zonas contiguas generan un *B-scan*, que es la típica imagen bidimensional de OCT utilizada en entornos clínicos (Figura 1.16a). En el campo de la Óptica Visual y la Oftalmología, este *B-scan* permite tanto medir espesores de estructuras oculares como analizar el estado morfológico de éstos. La combinación de *B-scans* da lugar a una imagen tridimensional (*C-scan*; Figura 1.16b).



**Figura 1.15.** Esquema del funcionamiento de un sistema OCT para obtener un A-scan [García Navarro, 2015].

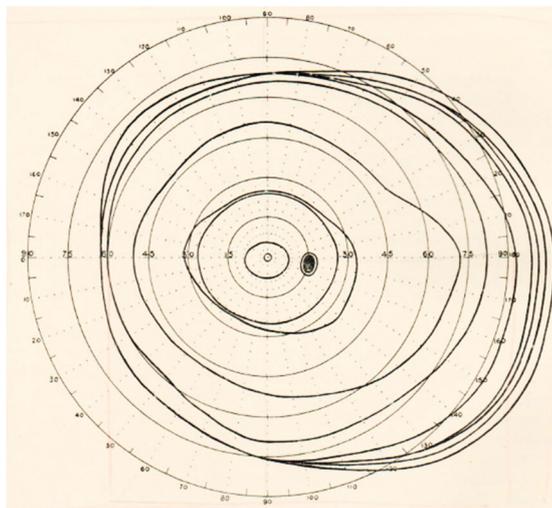
Esta técnica proporciona un método muy útil de diagnóstico, seguimiento y control de patologías retinianas no sólo de la zona macular (degeneración macular, RP, retinopatía diabética) sino también del nervio óptico (glaucoma).



**Figura 1.16.** (a) Imagen OCT (*B-scan*) de una retina sana centrada en la zona de la fovea. Las diferentes estructuras retinianas presentan diferente reflectividad. (b) Ejemplo de imagen tridimensional (*C-Scan*) reconstruida a partir de una serie de *B-scans* contiguos. Fuente: Imágenes obtenidas de pacientes involucrados en el presente estudio.

## 1.8. Campimetría y microperimetría

Además de la AV, la SC y los test de visión del color, la campimetría o perimetría visual es otra de las pruebas funcionales esenciales en el diagnóstico de cualquier patología ocular. Fue introducida en el campo de la medicina clínica por Albrecht von Graefe en 1856 [Johnson, 2011]. La perimetría es una prueba oftalmológica subjetiva y no invasiva, cuya función es la medida del campo visual de cada ojo. Básicamente, el paciente fija su mirada a un punto central y el instrumento mide, con la colaboración del propio paciente, la amplitud de la visión periférica (Figura 1.17). Es una técnica clásica, descrita ya de forma pormenorizada por H. M. Traquair en la primera mitad del siglo pasado [Traquair, 1938].



**Figura 1.17.** Esquema del campo visual de un ojo derecho [Traquair, 1943]. La mancha ovalada oscura se corresponde con la localización de la cabeza del nervio óptico.

En la década de los 70 nacen las primeras versiones de perímetros automáticos estándar. A día de hoy las medidas del campo visual puede ser tanto estáticas como dinámicas, aunque las primeras presentan mejor reproducibilidad [Bosworth, 2000]. Hay multitud de instrumentos clínicos, aunque uno de los más extendidos en el entorno clínico es el campímetro Humphrey HFA-II 740 (Carl Zeiss Meditec) (Figura 1.18).

La medida del campo visual es la técnica basada en la detección local de estímulos luminosos y detección de umbrales, es decir en la medida de la intensidad umbral necesaria para generar una respuesta retiniana. Puesto que estos valores pueden llegar a ser muy pequeños, lo más habitual es referirse a su término recíproco, conocido como “sensibilidad”. Así, el campo visual será en conjunto de puntos (i.e. localizaciones retinianas) donde se produce una sensación visual, es decir, donde existe sensibilidad retiniana.



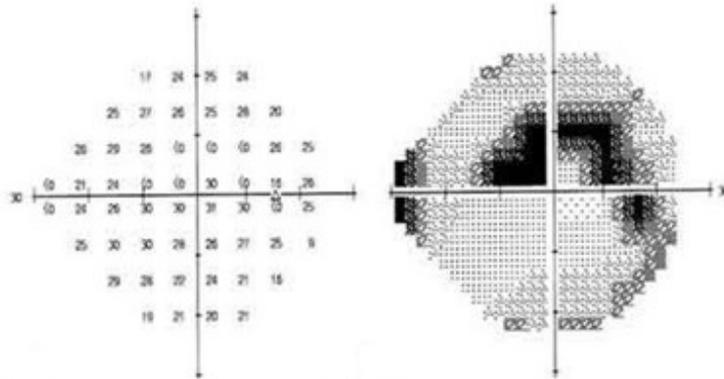
**Figura 1.18.** Instrumento clínico comercial conocido como perímetro analizador de campo (Humphrey HFA-II 740, Carl Zeiss Meditec). El objetivo de este tipo de aparatos es medir la intensidad umbral de estimulación que el paciente es capaz de discernir. Fuente: [<https://sky-optic.es/>].

El rango de luminancia de los estímulos que se presentan al realizar una perimetría puede tener diferencias de incluso hasta 5 órdenes de magnitud, que al medir la percepción luminosa y a efectos de aplicación clínica, puede ser poco práctico. Es por ello que, en lugar de usar una escala lineal, se utiliza una escala logarítmica en la cual un cambio en una unidad equivale a 10 decibelios (dB) [Haag-Streit, 2023]. Puesto que la escala es decreciente, los umbrales de 50 y 0 dB van asociados a la mínima y máxima luminancia respectivamente. Por tanto, cuanto más alto sea el valor en dB, más tenue y difícil de percibir el estímulo visual, y por tanto, mayor la sensibilidad retiniana. Hay que indicar que, por un lado, la escala en dB usada depende del instrumento comercial, y por otro, que 0 dB solamente indica que el paciente no es capaz de ver el estímulo más brillante que el que el aparato proyecta sobre el fondo [Bolívar Montesa, 2004].

Las aplicaciones de la perimetría van desde el diagnóstico del glaucoma [Broadway, 2012], hasta la degeneración macular asociada a la edad [Acton, 2012], pasando por la RP [Xu, 2020]. Un ejemplo de los resultados de campimetría en un paciente con patología retiniana se presenta en la Figura 1.19. Aunque parece evidente que el campo visual se vea afectado por patologías oculares (principalmente de la retina), éste también se reduce en ojos sanos debido al efecto de la edad [Haas, 1986].

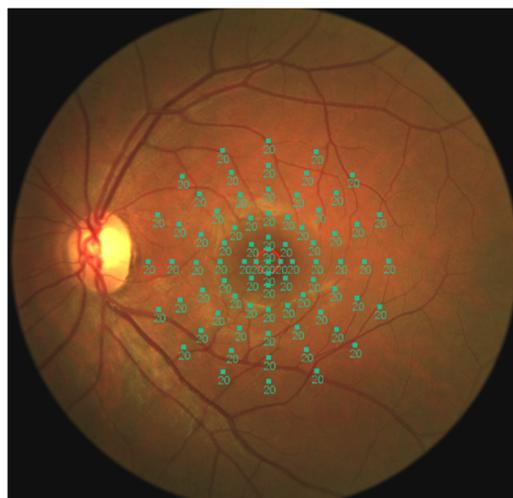
Con el paso del tiempo surge la necesidad, no sólo de medir el campo visual, sino de combinar la localización precisa de los estímulos luminosos utilizados con la visualización de la propia retina (es decir, oftalmoscopia), todo ello con el objeto de correlacionar la anatomía y la funcionalidad local de la retina [Kani, 1978]. Esto sería clave no sólo para realizar perimetrías de zonas más localizadas, sino también para obtener información correcta en aquellos pacientes con dificultad en la fijación. La técnica se acuñó en la literatura científica con el término

“perimetría controlada de fondo de ojo” (del inglés, *fundus controlled perimetry*), que en los años 90 pasó a llamarse “microperimetría” [Van de Velde, 1990].



**Figura 1.19.** Ejemplo de resultado de campo visual en un paciente con patología retiniana.  
Fuente: Base de datos del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia.

Es preciso apuntar que la combinación de campimetrías y el uso del oftalmoscopio de barrido (SLO, del inglés *Scanning Laser Ophthalmoscope*) han sido determinantes en el desarrollo de instrumentación para realizar medidas precisas y adecuadas de mapas de sensibilidad retiniana y de propiedades de fijación [Van de Velde, 1991]. Tal es así, que la microperimetría ha solventado limitaciones que clásicamente ha tenido la campimetría cuando la función macular está afectada, pues es capaz de localizar el punto de fijación y la estabilidad de éste, así como cuantificar la sensibilidad retiniana en presencia de pequeñas lesiones retinianas [Rohrschneider, 1997] o minimizar errores en la localización de escotomas [Sunness, 1997].



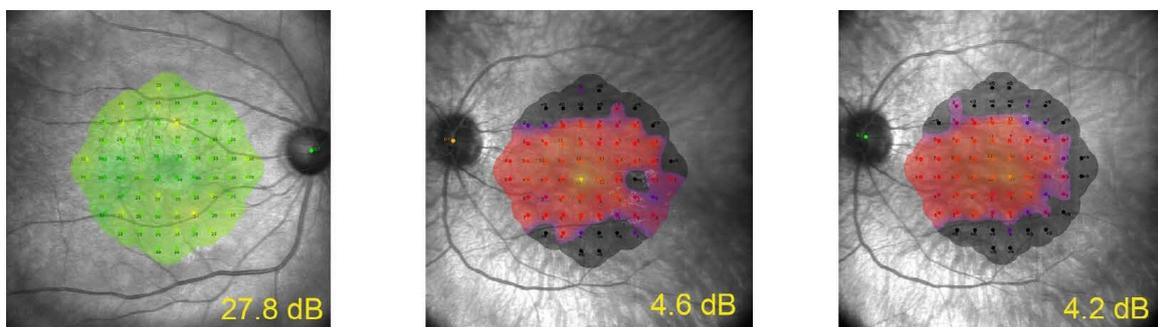
**Figura 1.20.** Mapa de sensibilidad retiniana (centrado en la mácula) espacialmente resuelto. El instrumento proporciona una imagen combinada del fondo de ojo y de la malla de puntos. La zona analizada es de 20° y está cubierta por 77 puntos (espaciados 2°) [Midena, 2010].

Aunque en la actualidad diferentes compañías comercializan microperímetros clínicos, los más extendidos son los que utilizan la técnica denominada microperimetría estática automática.

En ella, un patrón de puntos predeterminado se proyecta sobre la zona de interés analizar y es la luminosidad del estímulo que va cambiando de forma automática atendiendo a la respuesta del sujeto sometido a examen. Un ejemplo de mapa de sensibilidad en un ojo sano registrado con el microperímetro MP1 (Nidek Technologies) se muestra en la Figura 1.20. El *software* del propio instrumento compensa los movimientos oculares.

Otro de los microperímetros que actualmente se utiliza en la práctica clínica es el Macular Integrity Assesment (MAIA, CenterVue Inc.) que dispone de un SLO para visualizar la retina y un sistema de *eyetracking* para la estabilización de los movimientos de fijación. Este MAIA es el que usaremos en este trabajo, por lo que todos los detalles sobre él se pueden encontrar en el Capítulo 2. En un artículo de revisión reciente se pueden consultar diversos aspectos sobre la evolución de los microperímetros, así como las ventajas e inconvenientes de unos con respecto a otros [Pfau, 2021].

En la Figura 1.21 se muestran mapas de microperimetría que proporciona el MAIA para un paciente sano y uno con RP (en dos sesiones diferentes para mostrar la repetibilidad del aparato) [Buckley, 2021]. Tanto los colores como el valor en dB de la esquina inferior derecha informan de la gran diferencia de sensibilidad retiniana entre ambos ojos.



**Figura 1.21.** Mapas interpolados de sensibilidad retiniana para un paciente normal (izquierda) y otro con RP (centro y derecha, tomado en dos visitas diferentes) [Buckley, 2021].

Independientemente del tipo de instrumento utilizado, es necesario recordar que la sensibilidad retiniana es una de las piezas claves en el diagnóstico oftalmológico. No sólo resulta interesante para conocer el rango en el que se sitúan los ojos normales [Midena, 2010], sino para consolidarse como dispositivos que resultan de vital importancia en la detección de patologías, en la determinación del estadio de éstas, en el estudio de su progresión y en la determinación de la eficacia de tratamientos, entre otros [Acton, 2013; Buckley, 2021; Iftikhar, 2018; Kriechbaum, 2019; Midena, 2017].

## 1.9. Objetivos y estructura del trabajo

A pesar de que la incidencia de la RP entre todas las patologías oculares es baja, ésta es la enfermedad retiniana hereditaria más prevalente. Como ya se ha apuntado anteriormente, suele aparecer durante la etapa de la adolescencia y comienza con ceguera nocturna. Afecta inicialmente a la zona medio-periférica del campo visual, cuya funcionalidad va reduciéndose de forma progresiva y concéntrica (hacia el centro y hacia la periferia). En etapas tempranas se suele mantener la visión central, pero su progresión produce una pérdida de AV que en fases avanzadas de la patología conduce a ceguera, bien parcial, bien total.

La ausencia de tratamientos efectivos para una patología como la RP justifica la aplicación de acciones terapéuticas innovadoras que permitan no sólo ralentizar el proceso sino en casos óptimos, al menos, frenarlo durante ciertos periodos tiempo (meses o idealmente, años).

Previamente, en este capítulo introductorio se han citado algunos estudios en modelos animales que han mostrado resultados exitosos mediante el uso de células madre de diferentes tipos (véase por ejemplo [Siqueira, 2011a] como referencia general). Esos experimentos han sentado las bases para una aplicación prometedora en humanos. Así, en los últimos años se han publicado resultados de ensayos clínicos basados en la inyección intravítrea de células madre en pacientes con diversas patologías oculares que incluyen retinopatía diabética, glaucoma, degeneración macular, edema macular y RP (para más detalles consúltese el apartado 1.3.2). Es esta última sobre la que dichos estudios han tomado más relevancia y en particular aquellos que utilizan CMN-MOs. Sin embargo, a pesar de que hace más de una década que se demostró la aplicabilidad clínica de la terapia con CMN-MOs, el número de ensayos a día de hoy sigue siendo reducido, las pruebas realizadas a los pacientes, limitadas y los tiempos de control en la mayoría de los casos, cortos.

Cualquier avance en medicina regenerativa tendrá un profundo impacto sobre las estrategias de intervención en enfermedades retinianas irreversibles. Es por ello, que se precisa de estudios adicionales que ayuden a avanzar en la investigación del papel de la terapia con CMN-MOs en el manejo de patologías retinianas degenerativas como la RP.

En este sentido, en este trabajo se presentan parte de los resultados de un ensayo clínico en fase I realizado en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca de Murcia (HCUVA) cuyos objetivos han sido los siguientes:

- Analizar los cambios optométricos producidos en los ojos de pacientes afectados de RP tratados con una inyección intravítrea de CMN-MOs durante el tiempo que dura el ensayo.

- Estudiar los cambios morfométricos originados en los ojos de dichos pacientes afectados de RP y tratados con CMN-MOs.
- Examinar los cambios funcionales generados en los ojos de pacientes afectados de RP y tratados con CMN-MOs.

Para abordar y alcanzar los objetivos planteados, esta Tesis Doctoral se ha estructurado en 7 capítulos. El contenido de cada uno de ellos es el siguiente:

- El **Capítulo 1** presenta una introducción a la anatomía de la retina, a la RP y al concepto de las células madre. Se realiza un repaso de los fundamentos de la AV, la SC, la visión del color, la OCT y la microperimetría. También se exponen los objetivos principales planteados y la estructura de la memoria.
- En el **Capítulo 2**, se describen las características del ensayo clínico junto con la definición de la población a estudiar y el procedimiento de obtención de las CMN-MOs. Así mismo, se exponen los detalles de la metodología empleada.
- El **Capítulo 3** expone los resultados de AV, refracción ocular y PIO tanto en la visita basal como su evolución durante el tiempo que dura el estudio.
- **Capítulo 4:** Se analizan los cambios en la SC y visión cromática antes y después de la inyección de las CMN-MOs.
- En el **Capítulo 5**, y de forma similar a los dos anteriores, se muestran los resultados medidos con OCT del cambio de espesor retiniano foveal y parafoveal, y de la capa de fibras nerviosas de la papila.
- El **Capítulo 6** agrupa los resultados de sensibilidad retiniana medidos con microperimetría, analizando los cambios que se producen desde la visita previa a la inyección intravítrea hasta que finaliza en el ensayo.
- Por último, en el **Capítulo 7** se resumen los principales resultados y se presentan las conclusiones de este trabajo.

Tras la exposición de las principales conclusiones se adjuntan la literatura usada y los Anexos I, II y III que se citan en el Capítulo 2, así como las contribuciones científicas derivadas de esta Tesis Doctoral (Anexo IV).



---

# *CAPÍTULO 2*

---

## **Material y métodos**

A lo largo de este capítulo se exponen el conjunto de pruebas utilizadas para obtener los resultados que se expondrán en esta Tesis Doctoral. En particular, se describe el procedimiento de obtención de las CMN-MOs a partir de la médula ósea de los pacientes. Se exponen las características del ensayo clínico, así como los criterios de inclusión/exclusión de la población a estudiar. También se detallan los métodos y procedimientos ópticos/optométricos utilizados para las medidas de AV, de SC y de visión del color. Finalmente se presentan los instrumentos clínicos y protocolos tanto de registro de imágenes OCT como de medida de la sensibilidad retiniana.

*(Esta página se ha dejado intencionadamente en blanco)*

## 2.1. Características del ensayo clínico y de la población de estudio

El estudio que sienta las bases de este trabajo se ha realizado en el HCUVA y se ha denominado “Ensayo clínico en fase I de inyección intravítrea de células madre de médula ósea autólogas en pacientes con retinosis pigmentaria”. Dicho ensayo fue autorizado por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS), dándole al medicamento el nombre de “CMN-MO autólogas no expandidas” (referencia PEI 06-074). El producto en fase de investigación clínica y los protocolos que se describirán a lo largo de este capítulo fueron aprobados por el Comité Ético de Investigación Clínica del HCUVA. El ensayo se registró en la Base Europea de Ensayos Clínicos (EudraCT 2012-000618-12) y en ClinicalTrials.gov (NCT02280135).

Es un ensayo clínico en fase I, aleatorizado, prospectivo, paralelo, doble ciego y controlado por placebo. Para cada paciente el ojo que recibiría las CMN-MOs se seleccionó de forma aleatoria y centralizada. Además, por ser éste un ensayo doble ciego, el paciente desconoce en qué ojo se le inyectan el placebo o las CMN-MOs. Además, el oftalmólogo que realizó las inyecciones (CMN-MOs y placebo) no se encargó del seguimiento de los pacientes inyectados por él.

En la médula ósea existe una gran heterogeneidad de células madre (estromales, vasculares, hematopoyéticas). Puesto que no se quiso excluir ningún subgrupo celular que pudiera potencialmente ayudar a la eficacia del injerto, se optó por las CMN-MOs que es la fracción rica en células madre [Rodríguez González-Herrero, 2017]. Dichas CMN-MOs, a pesar de ser resultado de una manipulación mínima de la médula ósea se consideran como un producto de terapia avanzada por su uso no fisiológico y por tanto un medicamento de uso humano sujeto a legislación. Según dicha legislación, se precisa de un ensayo clínico para llevar a cabo cualquier tipo de investigación clínica que implique su uso.

Inicialmente se valoraron 75 historias clínicas de pacientes con RP para la selección preliminar. De este grupo inicial 54 fueron excluidos y 13 no pudieron ser valorados por aportar la documentación de forma incompleta. Así, la muestra final que formó parte del estudio fue de 8 pacientes (5 mujeres y 3 hombres). Las edades estaban comprendidas entre 19 y 54, con una edad media de  $37 \pm 11$  años.

Todos los pacientes pasaron por una visita basal y firmaron un consentimiento informado en el que se les informaba de todo el proceso. Se les realizaron unas series de pruebas para comprobar que cumplían todos los criterios de selección. Los criterios de inclusión y exclusión se recogen en la Tabla 2.1. De forma general, las pruebas realizadas para verificar si

cada paciente cumplía (o no) con los requisitos recogidos en la Tabla 2.1 fueron los siguientes:

- Valoración oftalmológica/óptica: historial clínico, test de calidad de vida, presión intraocular (PIO), AV, SC, visión cromática, análisis del grosor de las capas de fibras de la retina (con OCT), sensibilidad macular mediante microperimetría, campo visual, fondo de ojo, examen del polo anterior y posterior.
- Valoración electrofisiológica: electroretinograma y potenciales evocados visuales.
- Otros: bioquímica, hemograma, coagulación, serología, test de embarazo y valoración de preanestesia (electrocardiograma y radiografía de tórax).

***Criterios de inclusión:***

- Edad comprendida entre 18 y 70 años.
- Diagnóstico de RP bilateral.
- AV menor o igual a 20/70.
- Campo visual central menor de 30° en ambos ojos.
- Firma del consentimiento informado.
- Garantía suficiente de adhesión al protocolo.

***Criterios de exclusión:***

- Coexistencia de cualquier enfermedad ocular o sistémica que imposibilite o afecte el seguimiento de las variables del estudio.
- Cirugía ocular en los 6 meses previos al ensayo.
- Pacientes embarazadas.
- Pacientes en lactancia activa.
- Pacientes físicamente fértiles.
- Pacientes con enfermedad cardíaca, renal, hepática, sistémica, inmune que pueda influir en la supervivencia del paciente durante el ensayo.
- Serología positiva que no se pudiera negativizar para hepatitis B, hepatitis C o VIH.
- Criterios clínicos y anestésicos que contraindiquen la sedación o extracción de MO.
- Participación en otros ensayos clínicos.
- Imposibilidad para firmar o comprender el consentimiento informado.
- Rechazo a participar en el estudio.

**Tabla 2.1.** Criterios de selección para el ensayo clínico.

## **2.2. Procedimiento de extracción y procesado de las CMN-MOs**

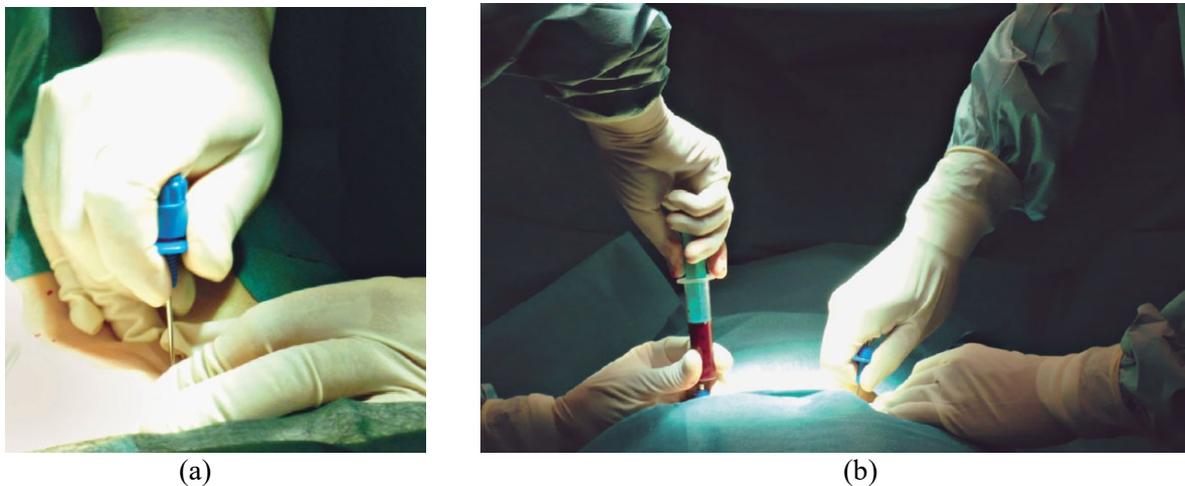
Cualquier medicamento que se use en procesos de terapia avanzada se ha de fabricar exclusivamente en centros autorizados por la AEMPS. Además, cualquiera de estos centros ha

de contar con la certificación de cumplimiento de Normas de Correcta Fabricación (GMP, del inglés *Good Manufacturing Practice*). En el HCUVA, la Unidad de Producción Celular (Figura 2.1) cumple con todos estos requisitos para la fabricación del medicamento utilizado en este trabajo.



**Figura 2.1.** Unidad de Producción Celular del HCUVA [Rodríguez González-Herrero, 2017].

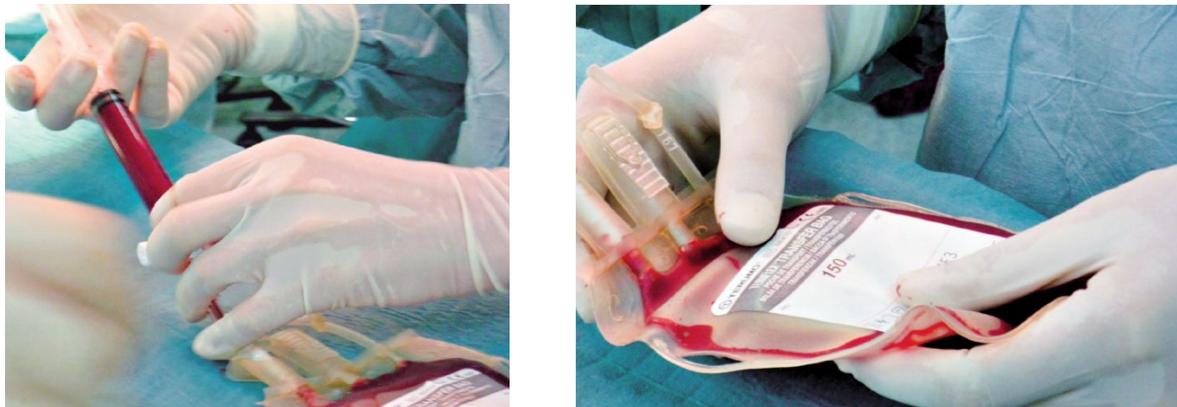
Para cada paciente, el mismo día de la inyección intravítrea de CMN-MOs, se le extraen 120 ml de médula ósea de forma estéril. La intervención la lleva a cabo el personal del Servicio de Hematología en el quirófano del mismo hospital.



**Figura 2.2.** Punción (a) y aspiración (b) de médula ósea [Rodríguez González-Herrero, 2017].

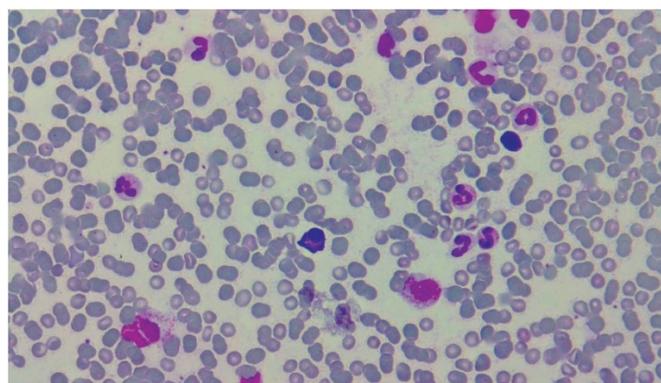
El paciente, bajo sedación suave y con anestesia local de la piel, tejido celular subcutáneo y periostio, se coloca en posición de decúbito prono. El hematólogo realiza varias punciones repetidas en ambas espinas ilíacas postero-superiores con trócar heparinizado y jeringuillas estériles acopladas (Figura 2.2a). Para evitar la contaminación de la sangre medular, se extrajo hasta un máximo de 5 ml de médula ósea por punción. Tras llenar cada jeringuilla (de 10 ml) se pasó su contenido a una bolsa estéril de 150 ml para ser homogenizado (Figura 2.3) [Rodríguez González-Herrero, 2017]. Una de las muestras se almacena en el Biobanco de la

Región de Murcia, para posibles estudios adicionales sobre RP. Éstos pueden incluir desde la determinación de mecanismos patogénicos hasta el establecimiento de factores biológicos que determinan evolución de esta patología ocular, pasando por estudios etiológicos. Para este almacenaje alternativo los pacientes firmaron también un consentimiento informado.



**Figura 2.3.** Los 10 ml de médula ósea de cada jeringuilla se pasan a una bolsa estéril para su homogeneización [Rodríguez González-Herrero, 2017].

Como ejemplo, la Figura 2.4 presenta una imagen de una muestra de MO registrada con un microscopio óptico de campo amplio. Para una observación óptima se ha utilizado la tinción de May-Grünwald Giemsa, una técnica usual en el análisis de frotis sanguíneos y extendidos de MO. Esta técnica es útil en el campo de la hematología pues tiene la ventaja de que se pueden analizar tanto la morfología como cuantificar la proporción o los tipos celulares que componen las muestras de sangre y la MO.



**Figura 2.4.** Imagen microscópica de una muestra de MO extraída de uno de los pacientes que han formado parte del presente estudio [Rodríguez González-Herrero, 2017].

Tras la recolección del material biológico, éste se procesó en condiciones GMP en la Unidad de Producción Celular del HCUVA. La primera operación fue la de filtrado, que se realizó en una cabina de flujo laminar de clase A (Figura 2.5).



**Figura 2.5.** Preparación del procedimiento de separación de CMN-MOs por gradiente de Ficoll-Paque automatizado [Rodríguez González-Herrero, 2017].

Tras ello se procedió a la separación celular mediante centrifugado, usando la técnica de gradiente de Ficoll-Paque [Bøyum, 1968]. Éste es un procedimiento de centrifugación por gradiente de densidad que se usa de forma habitual en el aislamiento de células mononucleares provenientes de sangre humana. Para ello se utilizó un sistema automatizado (SEPAX S-100) que es capaz de separar la capa de CMN-MOs (Figura 2.6a).



(a)



(b)

**Figura 2.6.** (a) Instrumento de centrifugado para la obtención de la fracción mononucleada. (b) Solución inyectable de CMN-MOs (producto final) [Rodríguez González-Herrero, 2017].

Tras un paso ulterior de reducción de volumen, se realizó el envasado y acondicionamiento. Como producto final, la sustancia activa es una suspensión inyectable con un volumen de 0.1 ml con un contenido de  $5-6 \times 10^6$  CMN-MOs y suero salino fisiológico al 0.9% como excipiente (Figura 2.6b).

### 2.3. Protocolo de inyección intravítrea

A continuación se describe el protocolo seguido para la inyección intravítrea de CMN-MOs. Detalles se pueden consultar en [Rodríguez González-Herrero, 2017].

A los pacientes que finalmente se incluyeron en el estudio se les realizó profilaxis antibiótica sistémica (moxifloxacino, 400 mg/día) durante 8 días, empezando 5 días antes de la intervención y acabando 3 días después. Durante los 3 días previos al procedimiento se procedió a:

- Higiene palpebral con toallitas estériles: 2 veces/día.
- Aplicación de una gota de Azitromicina: 15 mg/g cada 12 h.
- Aplicación de una gota de Hidroclorato de Moxifloxacino en ambos ojos: 5 mg/ml cada 8 h.
- La noche previa y mañana de la intervención: 250 mg de Acetazolamida.

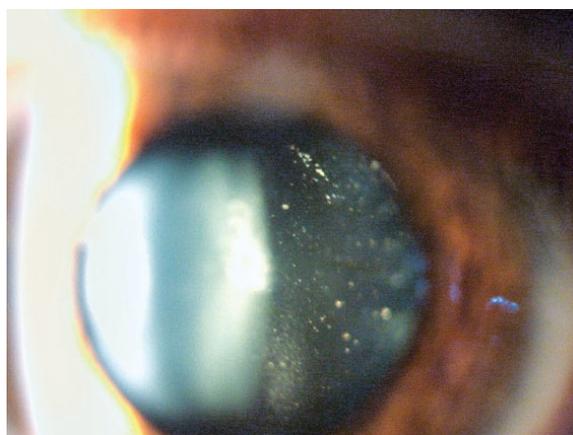
El mismo día de la intervención se les aplicó Tropicamida (colirio) para dilatar ambas pupilas. De modo complementario, en ambos ojos se instiló colirio anestésico doble (Hidrocloruro de Tetracaína 1 mg/ml + Hidrocloruro de Oxibuprocaina 4 mg/ml).

En el momento de la inyección intravítrea de CMN-MOs los pasos que se siguieron fueron los siguientes:

1. Disminución de la PIO con el balón de Honan durante 10 minutos.
2. Esterilización de la piel con Povidona Yodada.
3. Anestésico doble y gota de Povidona Yodada diluida en fondo de saco conjuntival en ambos ojos.
4. Pasados 3 minutos se coloca el Blefaróstato de Lieberman y el campo estéril.
5. Inyección vía pars-plana de 0.1 ml de CMN-MOs autólogas en uno de los ojos del paciente seleccionado al azar de forma centralizada. La posición de la jeringuilla fue perpendicular a la esclera, evitando la coincidencia con el orificio conjuntival y escleral.
6. Inyección subconjuntival de 0.1 ml de suero fisiológico en el ojo contralateral.
7. Inmediatamente tras la inyección se utiliza una hemosteta oftálmica triangular estéril en forma de apósito para evitar el reflujo.
8. En ambos ojos se comprueba la percepción de la luz, coloración de la papila, pulso venoso y circulación de la arteria retiniana central.
9. Se instila Povidona Yodada diluida.

La Figura 2.7 muestra una foto tomada con la lámpara de hendidura donde se pueden observar las CMN-MOs inyectadas en el vítreo.

Tras el alta, el paciente sigue un tratamiento ambulatorio que consiste en una gota de Acetato de Prednisolona (10 mg/ml) cada 8 horas en ambos ojos durante 5 días y un comprimido de Acetazolamida cada 8 h durante 1 día.



**Figura 2.7.** Fotografía del cuerpo vítreo de uno de los pacientes con las CMN-MOs ya inyectadas [Rodríguez González-Herrero, 2017].

## 2.4. Pruebas ópticas/optométricas realizadas durante el ensayo

En este apartado se describen las pruebas ópticas/optométricas realizadas a los pacientes y que se han tenido en cuenta en este estudio. Todas ellas están orientadas a analizar la progresión visual tras la inyección intravítrea de CMN-MOs, así como para valorar la eficacia y seguridad del procedimiento.

Todos los pacientes acudieron a una visita basal antes de la inyección. Después de la inyección se les realizó un seguimiento con visitas presenciales al día siguiente a la inyección (+1), a los 8, 30, 60, 90, 120, 180, 270 y 360 días. En la Tabla 2.2 se resume la distribución temporal de las pruebas ópticas y oftalmológicas utilizadas en este trabajo (véase también el apartado 2.5). Una lista con el resto de las pruebas adicionales que se realizaron y no se han utilizado para el presente trabajo se pueden consultar en el Anexo I. Durante estas visitas también se les pasó un cuestionario de función visual (VFQ-25, Anexo II). En la visita final rellenaron una encuesta de satisfacción (Anexo III).

Fase	Selección	Inyección	Seguimiento								
	Basal	#0	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9
Visita											
Día	[-28, 0]	I	(+1)	(+8)	(+30)	(+60)	(+90)	(+120)	(+180)	(+270)	(+360)
Mes de Estudio		N			1	2	3	4	6	9	12
Refracción	X	Y									X
Presión Intraocular	X	E	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Agudeza Visual	X	C	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Sensibilidad al Contraste	X	C				X					X
Visión Cromática	X	I		X	X	X	X	X	X	X	X
OCT	X	O	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Microperimetría	X	N		X	X	X	X	X	X	X	X

**Tabla 2.2.** Distribución temporal de las pruebas utilizadas en este trabajo y realizadas a los pacientes con RP antes y después de la inyección intravítrea de CMN-MOs.

### 2.4.1. Medida de la agudeza visual y la refracción

La refracción ocular se midió de forma objetiva usando un autorrefractómetro comercial (CANON RK-5; Figura 2.8). La medida es automática y no necesita de la intervención del sujeto. Éste solamente ha de mantener la mirada sobre un test de fijación que el instrumento lleva incorporado y que evita que el paciente acomode.



**Figura 2.8.** Autorrefractómetro CANON RK-5 utilizado para medir la refracción objetiva de los pacientes con RP involucrados en este estudio. Fuente: [<https://es.bimedis.com/canon-rk-5-m274444/>].

Las medidas de AV decimal se llevaron a cabo tanto en lejos como en cerca, sin corrección y con corrección. En cada sesión de medidas se siguió el siguiente procedimiento. Primeramente, se mide la AV del OD en lejos sin corrección y la del OI, también sin corrección. A continuación se realiza la misma medida pero con corrección. Acabadas las medidas en lejos, se procede de forma similar en cerca. Esta secuencia fue completamente independientemente de que el ojo inyectado con las CMN-MOs fuera el OD o el OI. La corrección utilizada fue siempre la portada por los pacientes antes de ser intervenidos y se usa un ocluser sobre el ojo que no se está midiendo.

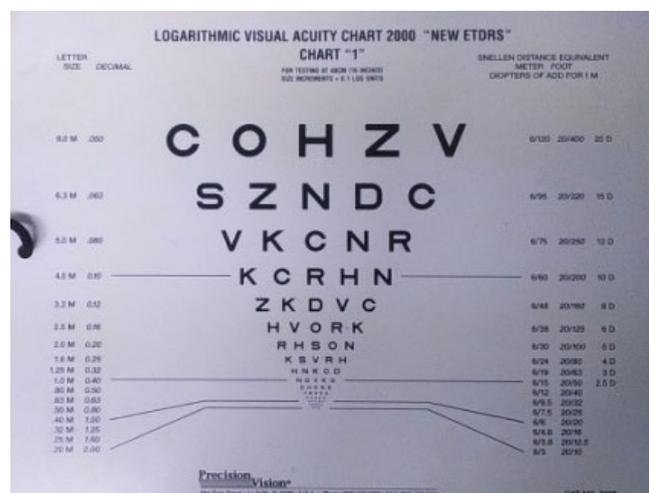
Para la medida de la AV se usó el test ETDRS (del inglés *Early Treatment Diabetic Retinopathy Study*), indicado para pacientes con baja visión como es el caso de los involucrados en este ensayo clínico. Las medidas con el ETDRS permiten medir un amplio rango de AVs que abarca desde la baja visión ( $AV < 0.3$  con la mejor corrección óptica) hasta la visión considerada como normal ( $AV = 1.0$ ) según la *US Health Care Classification*. Téngase en cuenta que el ETDRS usa una notación de AV en escala logarítmica con un 0.1 de progresión entre líneas.

Este test es una extensión del test de Snellen usado típicamente en gabinetes de optometría. En cada fila del test ETDRS hay representadas 5 letras separadas por espacios

proporcionales al tamaño de dichas letras. El espacio de separación entre las diferentes filas (15 en total) es también proporcional.

Para lejos se usó el instrumento SIFIMAV, dispositivo diseñado para el examen tanto cualitativo como cuantitativo de la función visual [Coloma-González, 2013]. Este aparato consta de un monitor tipo TFT-LCD (del inglés *Thin-Film-Transistor Liquid-Crystal Display*) donde se proyectan los optotipos y un mando a distancia que permite los cambios y el control. El monitor, con un tamaño de 15" y una resolución de 1024x768 con 24 bits, se coloca a 6 m del paciente (distancia para la cual se ha calibrado previamente). La unidad procesadora central está integrada en la misma pantalla.

Para las medidas de la AV en cerca no se usó el SIFIMAV, sino el *Logarithmic Visual Acuity Chart 2000 New ETDRS* colocado aproximadamente a 40 cm de los ojos del paciente.



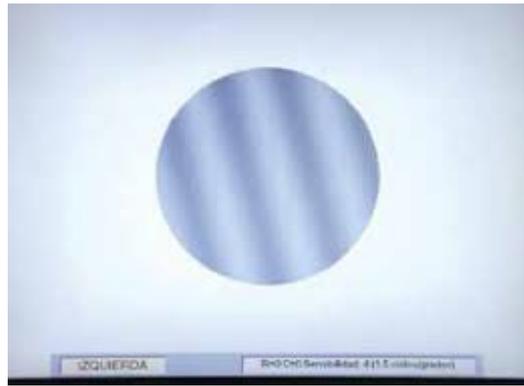
**Figura 2.9.** Test ETDRS usado para tomar la AV en cerca. Las dimensiones de las láminas son 60x50cm [Coloma-González, 2013].

Es preciso destacar que la medida de AV en cerca se realiza en una sala bien iluminada en condiciones fotópicas ( $85 \text{ cd/m}^2$ ) y con una iluminación uniforme sobre el test.

#### **2.4.2. Medida de la sensibilidad al contraste**

Al igual que con la AV de lejos descrita en el apartado anterior, para las medidas de la SC también se utilizó el SIFIMAV que proyecta el correspondiente test de SC sobre la pantalla. Los optotipos tienen forma circular y contienen patrones sinusoidales (Figura 2.10) que cambiarán de contraste y frecuencia espacial (o resolución).

De igual forma que para la AV, el paciente se sitúa a 6 m de la pantalla y también usa un ocluser situado delante del ojo que no se está midiendo. Las medidas se realizan sin corrección y seguidamente con ella. En ambas condiciones experimentales, primero el OD y después el OI, independientemente del ojo usado para el tratamiento.



**Figura 2.10.** Detalle de un patrón de franjas para la medida de sensibilidad mostrado en el monitor del SIFIMAV [Coloma-González, 2013].

El instrumento permite el uso de 5 valores de frecuencia espacial: 1.5, 3, 6, 12 y 18 ciclos/grado, que corresponden aproximadamente a AV decimales de 0.05, 0.1, 0.3, 0.6 y 1. Los patrones con estas frecuencias están distribuidas en lo que el instrumento denomina líneas A, B, C, D y E, como indica la columna izquierda de la Tabla 2.3.

Línea	Frecuencia espacial ciclos / grados	Sensibilidad al contraste							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Línea A	1.5	4	7	12	20	35	70	120	170
Línea B	3	4	9	15	24	44	85	170	220
Línea C	6	5	11	21	45	70	125	185	260
Línea D	12	5	8	15	32	55	88	125	170
Línea E	18	4	7	10	15	26	40	65	90

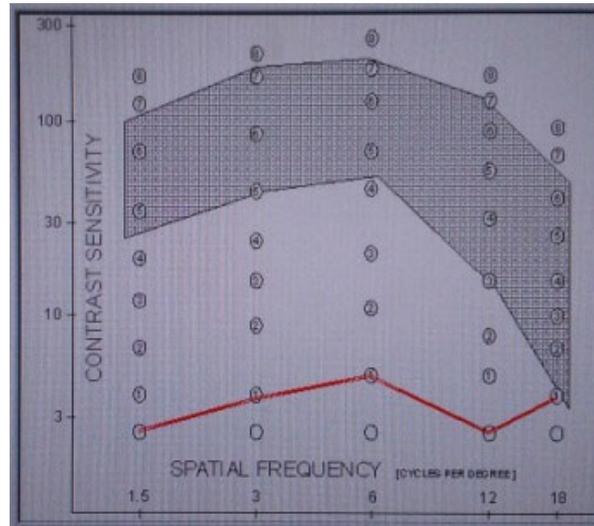
**Tabla 2.3.** Distribución de frecuencias espaciales y contraste.

Para cada frecuencia espacial se tienen 8 niveles de contraste. La orientación de la red sinusoidal que sirve de estímulo se presenta de forma aleatoria y puede ser vertical, inclinada 15° hacia la derecha, o inclinada 15° hacia la izquierda. Todas estas combinaciones de frecuencias, contrastes e inclinaciones hacen un total de 120 estímulos.

Antes de comenzar con el test de SC, al paciente se le explica el procedimiento a seguir. Se le pide que para cada patrón mostrado indique si las franjas están orientadas hacia “arriba”, hacia la “derecha” o hacia la “izquierda”. En el caso de no llegar a ver el patrón, ha de decir “nada”. Para cada respuesta el operador presiona el botón correspondiente de forma que al acabar la prueba, el instrumento reconstruye automáticamente la gráfica de SC (Figura 2.11).

El instrumento comienza presentando un retículo sinusoidal con la frecuencia espacial que corresponde a la línea A (Tabla 2.3), si el paciente responde correctamente se pasa a un valor de contraste más bajo y así sucesivamente hasta que el paciente deja de verlo. En ese momento se ha alcanzado la sensibilidad umbral para esa frecuencia. Tras ello se pasa a un patrón con frecuencia mayor (siguiente línea) para repetirse el proceso, y así sucesivamente hasta cubrir las 5 frecuencias espaciales, momento en el que se da por terminado el test de SC.

En la Tabla 2.3 aparecen un ejemplo de valores de SC para cada frecuencia espacial. Las casillas grises indican el rango de valores normales para cada línea.



**Figura 2.11.** Ejemplo representativo de una medida de SC de un paciente incluido en el ensayo clínico (línea roja). La zona sombreada representa el rango de los valores correspondientes a sujetos con visión normal.

### 2.4.3 Medida de la visión cromática

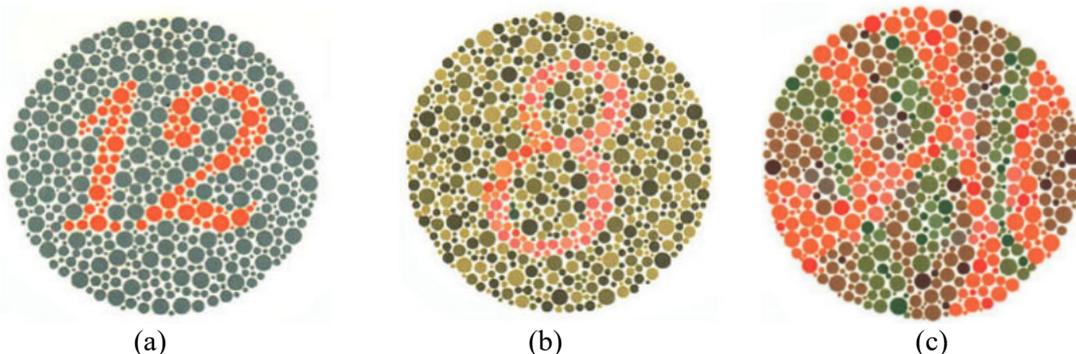
En nuestro ensayo clínico, para estudiar si existe anomalía en la percepción del color se ha utilizado el test de Ishihara y el manual de exploración de la visión cromática de Kart Velhagen y Dieter Broschmann (test de Velhagen-Broschmann) [Boynton, 1992; Velhagen, 1998].

Durante su realización los pacientes estaban en una sala bien iluminada, con la posición del test libre de destellos e intentando simular el efecto de la luz natural, situando al paciente a una distancia de 70-75 cm con un ángulo de 45° (al paciente sólo se le permite esta posición y no puede tocar las láminas).

La prueba se realizó monocularmente y con la corrección requerida si era preciso. Primero se realizó en el OD y tras ello en el OI. El objetivo de esta prueba en el ensayo clínico no es tanto determinar el tipo de anomalía cromática, sino determinar si ésta existe y si hay modificaciones en la percepción cromática tras la inyección de las CMN-MOs. Así, para una mejor comprensión de los efectos de la RP sobre la visión del color se decidió representar el número de láminas en las que el paciente no es capaz de ver el objeto representado. Es lo que hemos denominado “número de fallos”. En las hojas de seguimiento el operador va anotando las láminas en las que los pacientes fallan para así después analizar los resultados.

## ***Test de Ishihara***

Esta prueba consta de 38 láminas pseudo-isocromáticas formadas por círculos con tamaños y colores aleatorios, por medio de las cuales se valoran los posibles defectos en la visión cromática. Cada una de las láminas de la 1 a la 25 “esconde” un número (salvo las 18-21) y el paciente debe decirle al operador el número que ve en un tiempo máximo de 3 segundos para cada una (Figuras 2.12a y 2.12b). En las láminas de la 18 a la 21 no hay números sino líneas, de tal forma que si el paciente ve alguno es porque tiene una deficiencia al rojo-verde (Figura 2.12c). Las láminas numeradas del 26 al 38 representan líneas curvas con un origen y un final definido por sendas “X”, que han de ser resueltas en un máximo de 10 segundos. Aunque originariamente están diseñadas para pacientes analfabetos o niños que todavía no saben leer, éstas también se han usado con los pacientes involucrados en este estudio. Es preciso hacer hincapié en que el test de Ishihara puede detectar protanopía o deuteranopía (deficiencias en el rojo-verde), pero no tritanopía (deficiencias en el azul-amarillo) [Arco Comino, 2019].



**Figura 2.12.** Láminas 1 (a), 2 (b) y 20 (c) del test de Ishihara. (a) Se verá un 12 independientemente de si el paciente tiene o no una deficiencia cromática. (b) Mientras que una persona normal detecta un 8, una con anomalía rojo-verde verá un 3. (c) Una persona con deficiencia rojo-verde verá un 45 pero una con visión normal no detectaría número alguno. Fuente: [<https://tecnologiamedicaoftalmo.blogspot.com>].

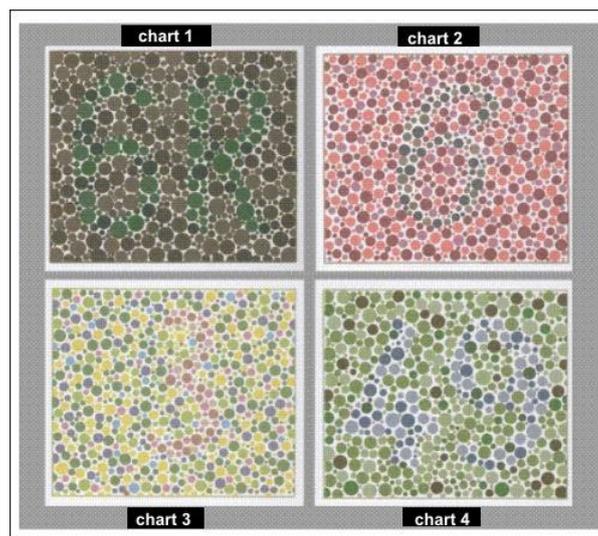
En el protocolo se distingue solamente entre “correcto” o “falso”. Un paciente con visión normal al color verá correctamente al menos 20 láminas. La visión al color será aceptable si ve 17. Se considera que el paciente presenta una deficiencia en la visión del color, si ve bien menos de 13.

Se han usado las primeras 38 láminas siguiendo el orden creciente de la numeración de éstas. El orden se suele variar si se sospecha de aprendizaje por parte del paciente, pero no ha sido el caso. Debido a las dificultades visuales de nuestros pacientes con RP por causa de su distrofia retiniana, cuando fue necesario se les permitió un poco más de tiempo para cada lámina.

## ***Test de Velhagen-Broschmann***

Este test se basa en un diagnóstico diferencial de percepción de colores, consta de 24 láminas y se considera una versión del test de Ishihara [Kuchenbecker, 2010]. En cada lámina se encuentran de 1 a 3 signos (letras o cifras). El paciente debe resolver las láminas utilizando entre 4 y 15 segundos, aunque en este caso, al igual que con el test de Ishihara se les ha permitido que usen más tiempo.

En el protocolo del ensayo clínico se seleccionó esta prueba como segunda opción porque a diferencia del test de Ishihara, en donde sólo se puede detectar pacientes protanopes y deuteranopes, con éste se puede detectar pacientes tritanopes. Así, los protanopes fallan habitualmente en las láminas 6, 7 y 8; los deuteranopes en las 9, 10 y 13, y los tritanopes en las 2, 14 y 15. Todos los pacientes, independientemente de si presentan o no deficiencia en la visión cromática deben responder bien cuando se les muestran las láminas 1, 20 y 21.



**Figura 2.13.** Ejemplo de láminas usadas en el test de visión cromática de Velhagen-Broschmann [Reidenbach, 2008].

## **2.5. Pruebas clínicas oftalmológicas realizadas durante el ensayo**

### ***2.5.1. Medida de la presión intraocular***

La medida de la PIO se realizó con un tonómetro de aire (TOPCON CT-80; Figura 2.14), nuevamente primero en el OD y luego en el OI. Este instrumento lanza un pulso de aire hacia la córnea deformándola. El tiempo de acción/reacción de la córnea sirve de base para que el instrumento calcule la PIO en mmHg, donde valores en el rango 10-20 están considerados como normales [Browning, 2016]. Hay factores tales como el espesor corneal, la hidratación y estado de la córnea, la edad del paciente, el radio de curvatura o la presencia de ciertas

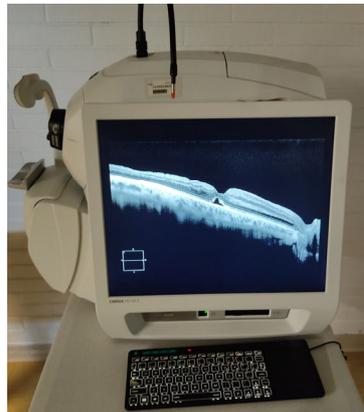
patologías oculares, que pueden hacer que estos resultados varíen. Dependiendo también de la hora del día en la que se registra la PIO, la medida puede variar  $4\pm 1$  mmHg [Perlman, 2007], siendo más alto el valor que se registra por la mañana, que por la noche o de madrugada.



**Figura 2.14.** Modelo de tonómetro de aire usado en este trabajo para las medidas de PIO. Fuente: [<https://es.bimedis.com/topcon-ct-80-m9631>].

### **2.5.2 Registro de imágenes OCT**

Para el registro y posterior análisis de las imágenes de OCT se ha utilizado el instrumento clínico comercial CIRRUS HD-OCT 5000 (Carl Zeiss Meditec, Inc.) que se muestra en la Figura 2.15. Los pacientes no portaban ninguna corrección óptica en el momento del registro de imágenes OCT.

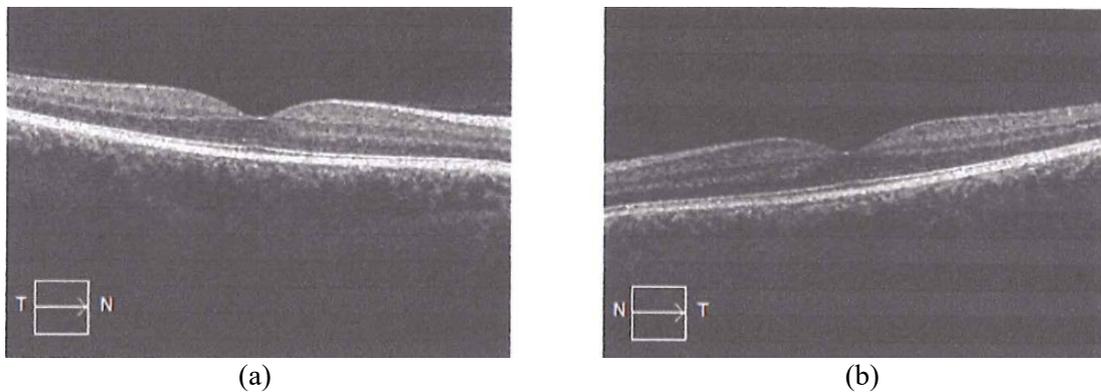


**Figura 2.15.** Instrumento clínico CIRRUS HD-OCT 5000. Fuente: Imagen de elaboración propia.

Sin necesidad de contacto alguno entre el ojo y el instrumento, éste proporciona imágenes tomográficas axiales transversales (*B-scans*) con alta resolución en las direcciones horizontal y vertical con las que construye una imagen tridimensional (denominada “cubo”). En este trabajo, las imágenes se han registrado de tal forma que están centradas bien en la zona de la

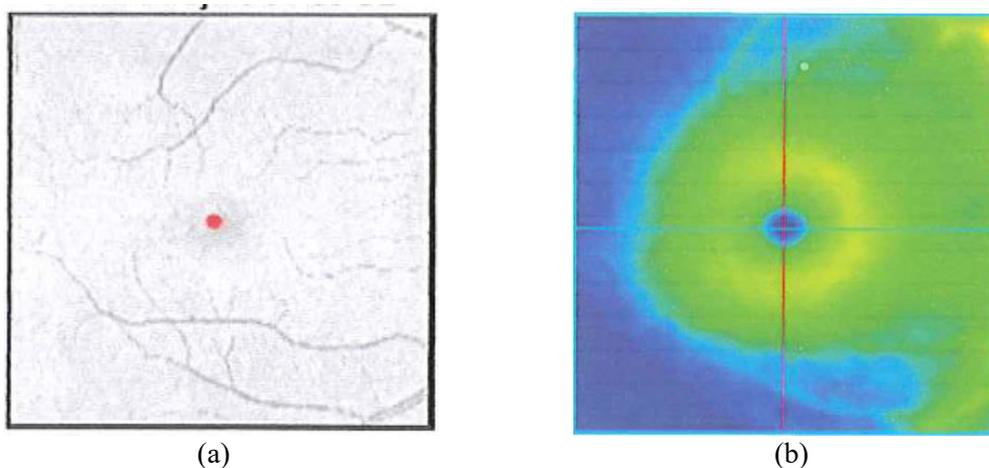
fóvea, bien en la cabeza del nervio óptico o papila. Para estas últimas, el paciente ha de dirigir su mirada en una dirección excéntrica.

La Figura 2.16 presenta un ejemplo de las imágenes OCT de la zona macular de los dos ojos de un paciente sano donde se puede observar la típica depresión foveal.



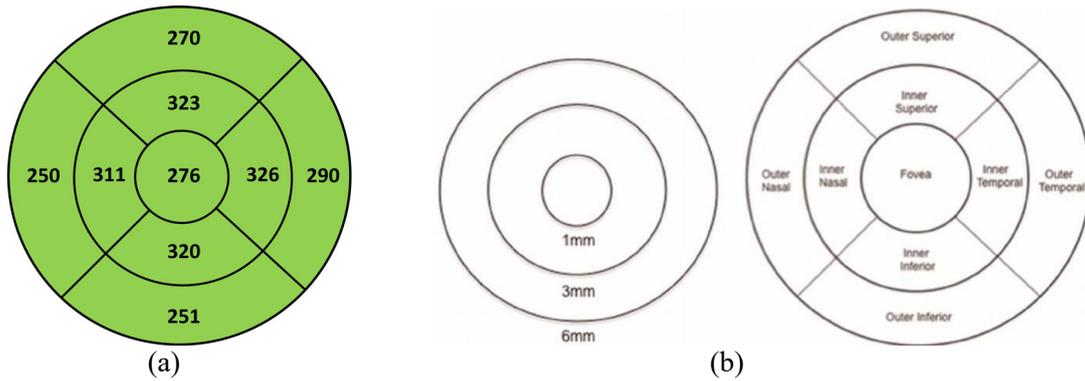
**Figura 2.16.** Ejemplo de imágenes OCT de zona macular central de un paciente sano: OD (a); OI (b).

A partir de las imágenes OCT, el instrumento reconstruye y proporciona de forma automática tanto las imágenes del fondo de ojo como el mapa de grosor retiniano (i.e., distancia entre la membrana limitante interna y el epitelio pigmentario). Un ejemplo del mismo paciente se muestra la Figura 2.17.

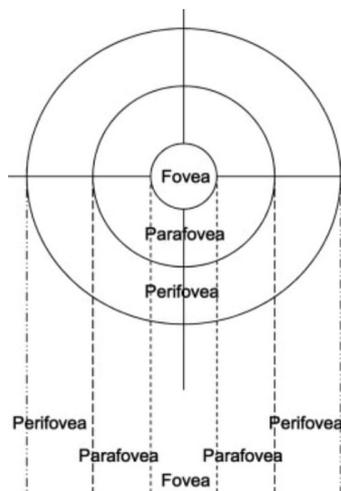


**Figura 2.17.** Imagen del fondo de ojo (a) y mapa de grosor retiniano (b) en el OD del mismo paciente sano.

El *software* del instrumento es versátil, con una gran variedad de visualizaciones y parámetros. En particular, en este ensayo clínico se ha usado el mapa zonal de anillos de espesores retinianos (Figura 2.18). En él se distinguen 3 zonas concéntricas: (1) la zona circular central de 1 mm de diámetro que corresponde a la fovea; (2) el anillo parafoveal entre 1 y 3 mm; y (3) el anillo perifoveal con diámetros interno y externo de 3 y 6 mm respectivamente (Figura 2.19). En el caso del anillo parafoveal, el espesor utilizado aquí es la media de los 4 valores (Superior Interno, Inferior Interno, Nasal Interno y Temporal Interno).



**Figura 2.18.** Esquemas de los anillos zonales de espesor retiniano. (a) Ejemplo real en un ojo sano; (b) tamaño, distribución y nomenclatura de las distintas sub-zonas en un OI. Fuente: (a) Datos propios; (b) [https://www.zeiss.fr/].



**Figura 2.19.** Nomenclatura clínica usada para el mapa de anillos zonales.

Además, en este trabajo también se ha utilizado el dato aportado por el valor de la fila inferior de la Tabla 2.4. Es el valor correspondiente al denominado “cubo macular” o “valor estándar” utilizado habitualmente por los oftalmólogos en la práctica clínica. En esta tomografía macular el instrumento utiliza la información de una zona de  $6 \times 6 \text{ mm}^2$  cubierta por 128 B-scans horizontales, donde cada uno de ellos está formado por 512 A-scans.

ILM - RPE	OD	OS
Grosor del subcampo central ( $\mu\text{m}$ )	276	282
Cubo de volumen ( $\text{mm}^3$ )	9,9	10
Cubo grosor prom. ( $\mu\text{m}$ )	274	276

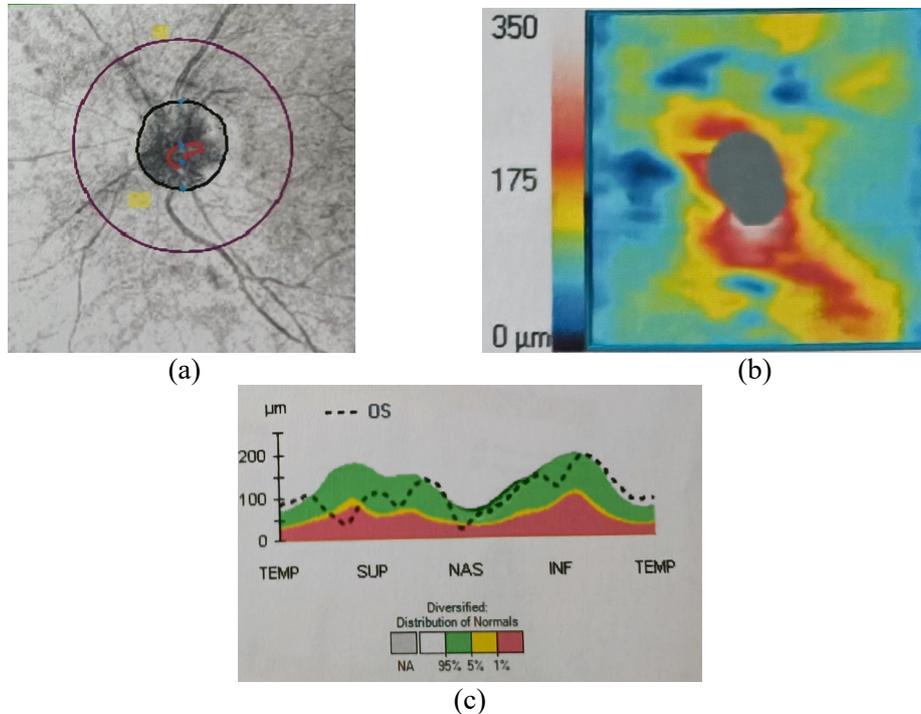
**Tabla 2.4.** Tabla resumen de datos OCT proporcionados por el propio *software* del instrumento.

Según el criterio clínico seguido en este ensayo, los rangos de valores considerados “normales” (i.e., de ojos sanos) para cada zona utilizada han sido los siguientes:

- Fóvea central:  $[250, 300] \mu\text{m}$
- Parafóvea:  $[300, 350] \mu\text{m}$

- Cubo macular: [265, 300]  $\mu\text{m}$

A partir de las imágenes OCT de la cabeza del nervio óptico, el instrumento ofrece gran variedad de medidas. También reconstruye tanto imágenes de fondo como los mapas de espesor de la capa de fibras nerviosas (Figura 2.20).



**Figura 2.20.** Ejemplo de imagen de fondo de ojo (a) y mapa de espesor de la capa de fibras nerviosas retinianas en la zona de la papila (b) reconstruidos a partir de imágenes OCT. (c) Valores de espesor de fibras nerviosas.

Al igual que para la zona macular, para la zona papilar el instrumento muestra una tabla con varios parámetros promedio (Tabla 2.5). En este caso el valor utilizado para el ensayo clínico ha sido el de la primera fila de dicha tabla: espesor promedio de la capa de fibras nerviosas. Este valor (para cada ojo) es el promedio de espesor a lo largo del círculo morado que rodea la papila (Figura 2.20a) y está representado con la línea discontinua de la Figura 2.20c. El criterio clínico para que los valores del grosor de las capas de fibras nerviosas considerados como normales es el intervalo [81, 110]  $\mu\text{m}$ .

	OD	OS
Average RNFL Thickness	84 $\mu\text{m}$	90 $\mu\text{m}$
RNFL Symmetry	65%	
Rim Area	1.54 $\text{mm}^2$	1.40 $\text{mm}^2$
Disc Area	2.07 $\text{mm}^2$	1.98 $\text{mm}^2$
Average C/D Ratio	0.49	0.54
Vertical C/D Ratio	0.56	0.51
Cup Volume	0.044 $\text{mm}^3$	0.040 $\text{mm}^3$

**Tabla 2.5.** Tabla resumen para la zona de la cabeza del nervio óptico.

### **2.5.3 Microperimetría y sensibilidad retiniana**

La microperimetría es una prueba clínica para medir la sensibilidad de la zona macular (véase el Capítulo 1). Sirve para correlacionar la morfología de la retina con su función fisiológica y así detectar cambios debidos a patologías, traumas o lesiones [Laishram, 2017; Pfau, 2021]. Es un test de diagnóstico no invasivo que combina la imagen del fondo de ojo, con el mapa de sensibilidad retiniana y con el análisis de la estabilidad de fijación de mirada, lo que permite controlar y registrar la actividad de fijación del paciente mientras se mide el campo visual.

Esta técnica es apropiada para diagnosticar y hacer un seguimiento no sólo en pacientes con RP, sino también con degeneración macular asociada a la edad, edema macular, retinopatía diabética y distrofia macular, entre otras [Midena, 2006].

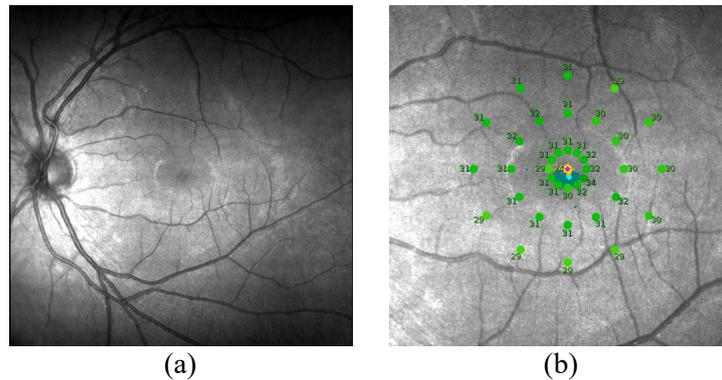
En este trabajo, las medidas de la microperimetría se llevaron a cabo con el microperímetro MAIA (*Macular Integrity Assessment*, CenterVue). El instrumento clínico es ideal tanto para evaluar la sensibilidad retiniana en la zona macular, como para analizar y entender la capacidad de fijación de cada paciente. Además, permite localizar con más precisión puntos ciegos que no se pueden observar en una campimetría convencional.

El dispositivo proporciona esencialmente un mapa de la función celular retiniana (en relación con la imagen de fondo de ojo) junto con las áreas de fijación del paciente que compara con una base de datos estandarizada considerada como “normal”. Las pruebas se pueden realizar independientemente de la AV (incluso con visión central muy baja), no es necesaria midriasis y dispone de un sistema de autoenfoque (de -15 a +10 D).

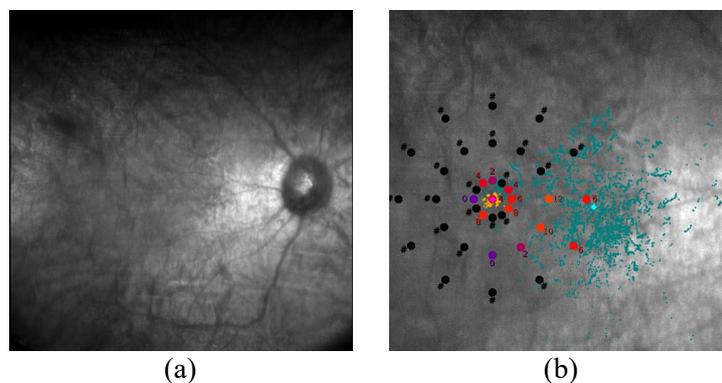
A través de un procedimiento de *eye tracking* (o de seguimiento del ojo) este instrumento detecta la posición de la fijación del paciente y compensa automáticamente los movimientos oculares durante la realización del examen. De esta forma, la sensibilidad retiniana de cada área de la macula es evaluada en el mismo punto retiniano en cada exploración. De forma simultánea, el sistema también evalúa la capacidad del paciente para mantener centrado el punto de fijación y los micromovimientos de re-fijación que realiza.

El instrumento clínico proporciona imágenes, mapas y datos que son útiles para el diagnóstico. Algunos de ellos se describen a continuación. El primero de la batería de resultados que el dispositivo muestra, es una imagen del fondo de ojo registrada con el sistema de barrido láser (SLO, del inglés *Scanning Laser Ophthalmoscope*) que permite la visualización de dicho fondo de ojo y la localización de posibles anomalías. Los ejemplos de las Figuras 2.21a y 2.22a corresponden a un ojo normal y uno con RP respectivamente. Una

simple visualización de las imágenes del fondo de ojo deja claras las diferencias entre la retina de un ojo sano y otro con RP.



**Figura 2.21.** Imagen de un fondo de ojo (a) y mapa de sensibilidad retiniana (b) en un paciente normal.



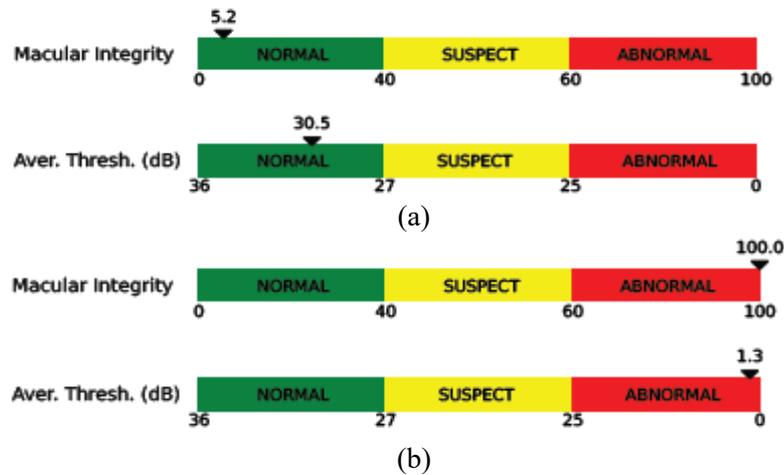
**Figura 2.22.** Imagen de un fondo de ojo (a) y mapa de sensibilidad retiniana (b) en un paciente con RP.

El mapa de sensibilidad retiniana se presenta superpuesto sobre una imagen aumentada de la zona macular (Figuras 2.21b y 2.22b). Estos mapas de sensibilidad son también claramente diferentes. Mientras en el ojo sano todos los puntos de testeo espacial aparecen en color verde, en el caso del ojo con RP éstos pasan a ser de color rojo y negro, lo que indica reducción o ausencia de sensibilidad macular.

Como se puede apreciar en las dos figuras precedentes, la versión estándar del procedimiento experimental proyecta una malla de 37 puntos distribuidos de forma radial, que cubren un área de  $10^\circ$  (Figura 2.21b). El sistema de iluminación consta de un LED blanco que produce un rango de luminancias entre 1.3 hasta  $318.3 \text{ cd/m}^2$ , con un rango dinámico 36 a 0 dB (Figura 2.23).

A partir de este mapa de sensibilidad espacialmente resuelto, el propio *software* genera una escala de Integridad Macular (del inglés *Macular Integrity*) y otra de Umbral Promedio (de su término en inglés *Averaged Threshold*), con un código asociado, tanto numérico como de color, en relación a la base de datos considerada como normal. Como se aprecia en la Figura 2.23, la retina del paciente se puede considerar como normal (verde), sospechosa

(amarillo) o anormal (roja). Los rangos de los valores numéricos de ambos parámetros están acotados.

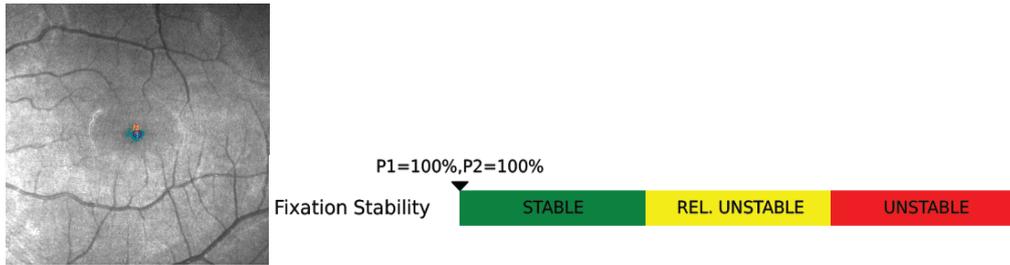


**Figura 2.23.** Escalas de integridad macular y umbral retiniano promedio para una retina normal (a) y una afectada de RP (b).

Por convenio, en este ensayo con CMN-MOs se han utilizado los parámetros: umbral promedio (o sensibilidad retiniana), integridad macular y estabilidad de fijación foveal (del inglés *Fixation Stability*). En el caso particular que se muestra en la Figura 2.23, el valor del umbral retiniano pasa de ser 30.5 dB (verde) en el ojo sano a 1.3 dB en el ojo con RP de uno de los pacientes involucrado en el estudio (rojo).

Por su parte, las Figuras 2.24 y 2.25 muestran los resultados proporcionados por el instrumento para evaluar la fijación foveal. Éstos están divididos en dos partes. En la parte izquierda se representa la imagen del área macular sobre la que se han superpuesto las zonas de fijación. Junto a ella y en escala de colores se muestra la escala de fijación en %. Dichas figuras corresponden a un ojo normal (Figura 2.24) y a uno con RP (Figura 2.25). Las dos zonas de análisis concéntricas representadas en la Figura 2.25 se denominan P1 (anillo interno) y P2 (anillo externo).

En una retina normal, los *spots* del *tracking* de fijación (puntos verdes superpuestos) aparecen concentrados en la zona foveal. Por el contrario, en una retina con RP éstos aparecen dispersos y cubriendo gran parte de la mácula. Este hecho se ve reflejado en las escalas de color a la derecha de ambas figuras. Mientras que la estabilidad de fijación en el ojo normal es del 100% indicando que se trata de un ojo sano [García-Navarro, 2015], en el caso de un paciente con RP, este valor baja hasta un 40 % en la zona P2 y un 11% en la P1.



Se considera como fijación estable o normal cuando P1 está entre 100 y 75%. Será inestable o anormal si P2 es menor al 75%. Si el paciente está en el rango intermedio, la fijación será relativamente inestable (P1 menor del 75% y P2 mayor del 75%) [Morales, 2016].



---

# *CAPÍTULO 3*

---

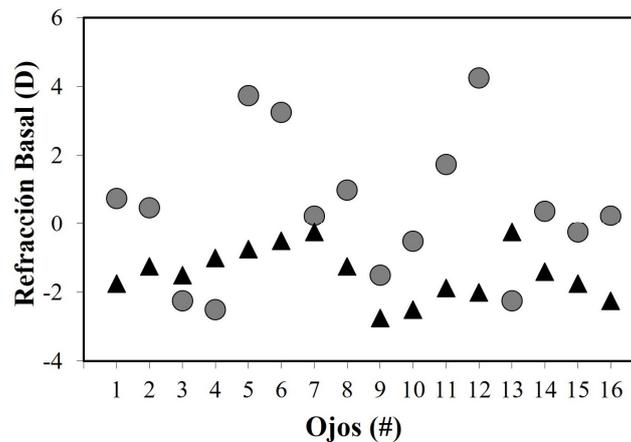
## **Resultados I. Agudeza visual**

En este capítulo se presentan los resultados correspondientes a la AV decimal tanto en lejos como en cerca (sin corrección y con corrección). De forma complementaria también se recogen los de refracción ocular y PIO. En la medida de la AV se comienza con los datos basales obtenidos en la primera visita (antes de la inyección de CMN-MOs) y se analizan cómo éstos se modifican cuando el paciente lleva puesta su mejor corrección. A continuación, se analizan los cambios que se producen en la AV tras la inyección de CMN-MOs, durante el periodo que dura el presente ensayo clínico. Estas variaciones en la AV permitirán estimar la influencia de dicho tratamiento en una potencial mejora de la función visual.

*(Esta página se ha dejado intencionadamente en blanco)*

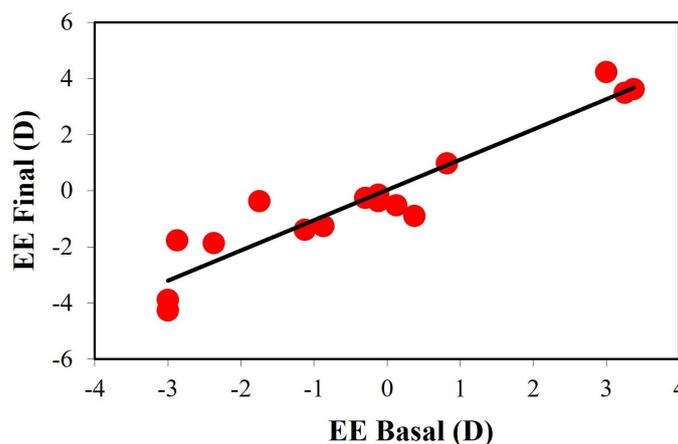
### 3.1. Refracción ocular y presión intraocular

En la Figura 3.1 se presentan los valores de refracción (esfera y cilindro) medidos en la visita basal para los dos ojos de todos los pacientes. Las diferencias entre pacientes en la esfera (círculos grises) son mucho mayores que en el cilindro (triángulos negros). Mientras que la primera se sitúa entre -2.50 D hasta +4.25 D, en el cilindro (negativo) el rango va de 0.00 a -3.00 D. El cálculo de la esfera equivalente (EE) no muestra diferencias notables entre ojos contralaterales salvo en los pacientes #6 (ojos 11 y 12) y #7 (ojos 13 y 14), con anisometropías de 2.44 D y 2.08 D respectivamente.



**Figura 3.1.** Valores de esfera (círculos grises) y cilindro (triángulos negros) para ambos ojos de todos los pacientes involucrados en el estudio, medidos durante la visita basal. Se han numerado los ojos de forma correlativa, de tal forma que los números impares corresponden a ODs y los pares a OIs. Cada par de ojos correlativos (impar+par) corresponde a un paciente.

Por otra parte, la relación entre las EEs medidas en la visita basal y tras completar el tratamiento con CMN-MOs se muestra en la Figura 3.2.

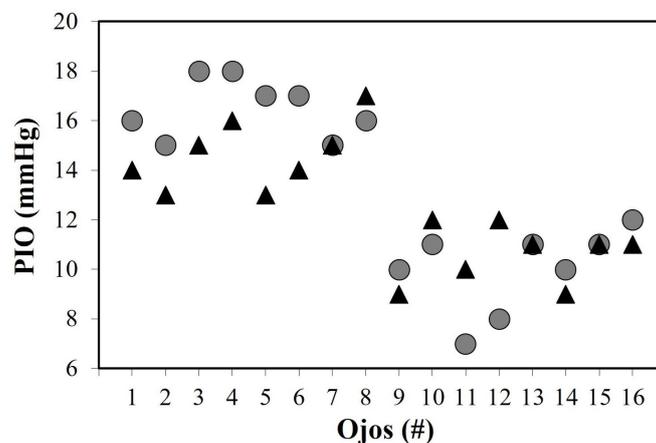


**Figura 3.2.** Comparación de la refracción ocular (EE) antes y después del tratamiento. La línea continua representa el mejor ajuste lineal ( $EE_{final}=1.08*EE_{basal}+0.03$ ;  $R=0.95$ ).

Hay una relación lineal estadísticamente significativa en la refracción ( $p<0.0001$ ) con una pendiente cercana a la unidad. No se aprecian cambios en la refracción comparando los

valores antes (media:  $-0.29 \pm 2.12$  D) y después del tratamiento (media:  $-0.28 \pm 2.42$  D). Aunque es preciso analizar en detalle lo que ocurre con la AV (véanse los siguientes apartados), la inyección de CMN-MOs parece no tener influencia sobre los valores de la refracción independientemente de si se trata de un ojo inyectado con CMN-MOs o con placebo.

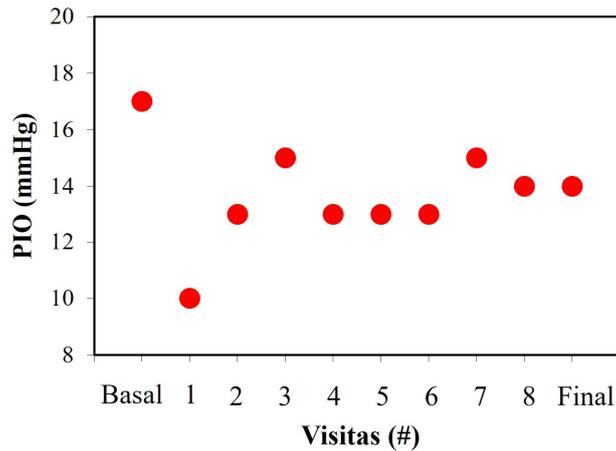
Los datos de PIO para todos los ojos medidos en la visita basal y en la final se han representado en Figura 3.3. No se han encontrado diferencias significativas entre los ojos con placebo y los inyectados en ninguna de las dos visitas. Los valores medios respectivos fueron  $13.3 \pm 3.6$  y  $13.3 \pm 3.7$  mmHg en la visita basal, y  $12.4 \pm 2.5$  y  $12.5 \pm 2.5$  mmHg en la final. Los rangos en la primera visita están entre 7 y 18 mmHg, y son similares a los obtenidos en la última (entre 9 y 17 mmHg). No se han encontrado diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.0001$ , t-test).



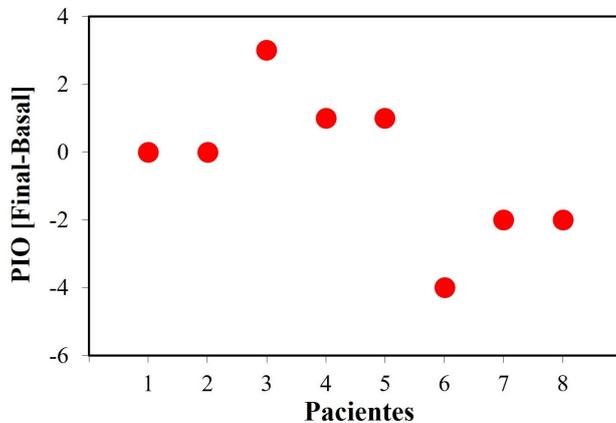
**Figura 3.3.** Valores de PIO basales (círculos grises) y finales (triángulos negros) para ambos ojos de todos los pacientes involucrados en el estudio. El orden de representación es el mismo que en la figura anterior.

Como ejemplo representativo, la Figura 3.4 presenta la evolución tras la inyección de los valores de PIO en el ojo tratado de uno de los pacientes (#3). Se observa que hay una disminución notable de la PIO en la visita #1, seguido por una moderada estabilización a lo largo de las diferentes visitas.

En la Figura 3.5 se presentan las variaciones de PIO entre la visita final y la basal para todos los ojos inyectados con CMN-MOs que han formado parte del presente estudio. Las variaciones se sitúan entre +3 y -4 mmHg.



**Figura 3.4.** Evolución de la PIO en el ojo tratado con CMN-MOs de uno de los pacientes del estudio (#3).

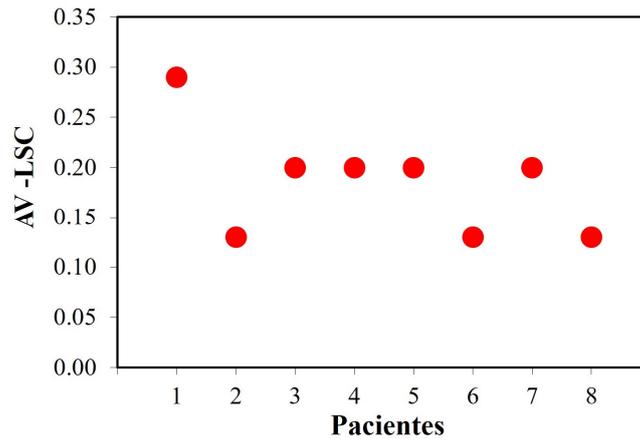


**Figura 3.5.** Variación de la PIO (en mmHg) entre la visita final tras el tratamiento y la basal para los ojos tratados con CMN-MOs.

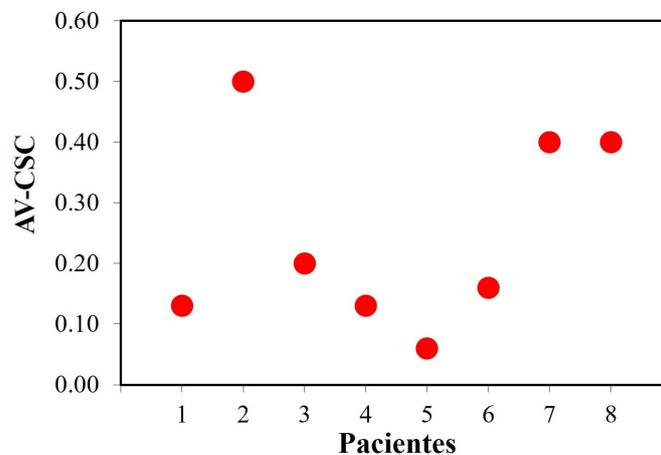
### 3.2. Agudeza visual en la visita basal

La Figura 3.6 muestra los valores individuales de AV en lejos sin corrección (LSC), medidos en la visita basal, para todos los ojos que serán posteriormente inyectados con CMN-MOs. Se puede observar que existe cierta variabilidad inter-individual. Los valores están en el rango entre 0.13 y 0.29 (media:  $0.19 \pm 0.07$ ), lo que da muestra de que la patología afecta notablemente a la AV. Puesto que ninguno de los pacientes prestaba una  $AV < 0.10$ , no están dentro del rango considerado como ceguera legal (véase apartado 1.2.1).

De forma similar, en la Figura 3.7 se presentan las AVs en cerca sin corrección (CSC). La variabilidad inter-individual es mayor que en visión de lejos (entre 0.06 y 0.50). En 4 de los 8 ojos esta AV-CSC es mayor o la misma que la AV-LSC (en media aumenta hasta  $0.27 \pm 0.17$ ).



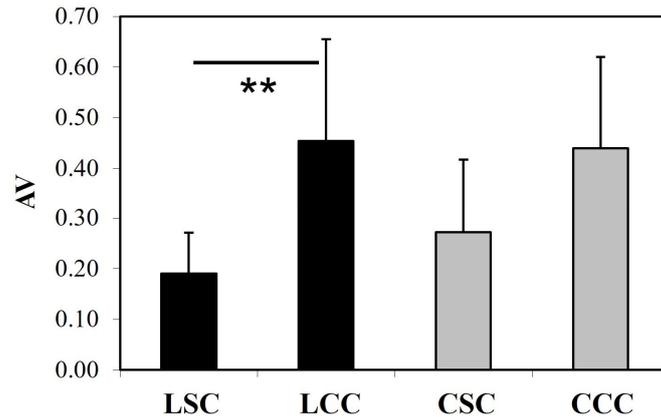
**Figura 3.6.** Valores de AV en LSC medidos en la visita basal para los ojos que posteriormente se inyectaron con CMN-MOs.



**Figura 3.7.** Valores de AV en CSC para los todos los ojos que serán inyectados.

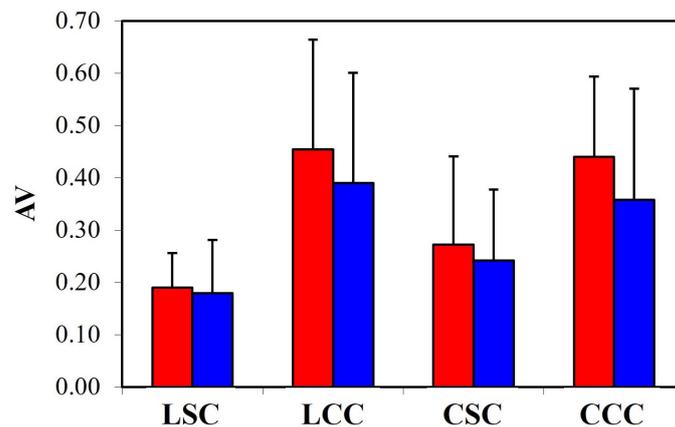
A los pacientes que llevan habitualmente corrección de lejos en gafa (N=5), se les volvió a medir la AV (AV en lejos con corrección, AV-LCC). En todos ellos mejora llegando a valores entre 0.20 y 0.67 (téngase en cuenta que el intervalo de AV-LSC es [0.13, 0.29]). De igual forma se operó para el caso de visión de cerca con corrección (CCC). En esta situación también hay un aumento de la AV tras la corrección (entre 0.25 y 0.63), con variabilidad inter-individual en un rango similar a la obtenida en visión de lejos.

En la gráfica de la Figura 3.8 se puede observar cómo cambian las AVs con la corrección tanto de lejos como de cerca. Los valores que se han representado son las medias para todos los ojos que serán inyectados tras la visita basal. A pesar de ser pacientes con RP, hay que destacar la diferencia de los valores de AV en condiciones sin corrección y con corrección. En particular, el aumento en la AV es de 2.4x para lejos y 1.6x para cerca. Las AVs son estadísticamente diferentes en visión de lejos (barras negras,  $p=0.003$ ), pero no en visión de cerca (barras grises,  $p=0.15$ ).



**Figura 3.8.** Valores medios de AV en lejos (barras negras) y cerca (barras grises), con y sin corrección (visita basal). Las barras de error indican la desviación estándar. (\*\*:  $p=0.003$ ).

A efectos meramente comparativos y con el objetivo de conocer si los ojos a los que posteriormente se les inyectaron las CMN-MOs parten de una situación diferente a los que no, en la Figura 3.9 se muestran los valores medios de AV para las diferentes condiciones experimentales, pero separando los ojos que serán posteriormente inyectados con CMN-MO (símbolos rojos) de los que recibieron placebo (símbolos azules). No se encontraron diferencias significativas entre ellos, lo cual *a priori* indica que los resultados que se obtengan al finalizar el ensayo en términos de AV serían en principio independientes de si el ojo elegido para ser inyectado hubiese sido uno u otro. Como ya se indicó en el Capítulo 2, el ensayo fue doble ciego, es decir, el paciente en ningún momento era consciente de qué ojo fue inyectado con CMN-MOs o placebo.



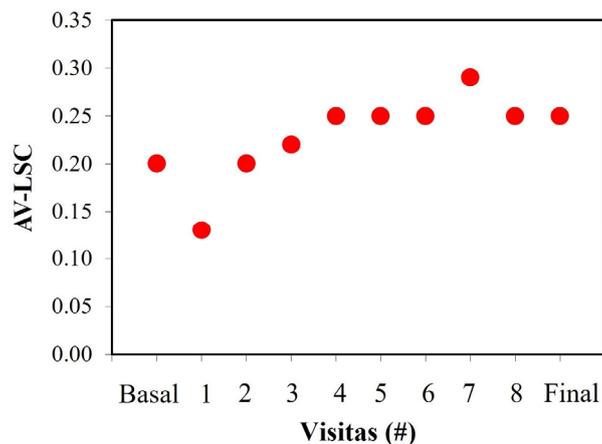
**Figura 3.9.** AVs basales promedio para los ojos que serán posteriormente tratados (barras rojas, Figura 3.8) o no (placebo, barras azules).

### 3.3. Evolución de la agudeza visual tras la inyección

En este apartado se muestran los valores de AV para las distintas condiciones tras la inyección de CMN-MOs. Como ya se indicó en el capítulo anterior, a partir de la visita basal hay 9 visitas que se han utilizado para seguir el tratamiento: #1 al siguiente día, #2 a los 8, #3 al mes (~30 días), #4 a los 2 meses (~60 días), #5 a los 3 meses (~90 días), #6 a los 4 meses (~120 días), #7 al medio año (180 días), #8 a los 9 meses (~270 días) y #9 a los 360 días (~1 año, visita final).

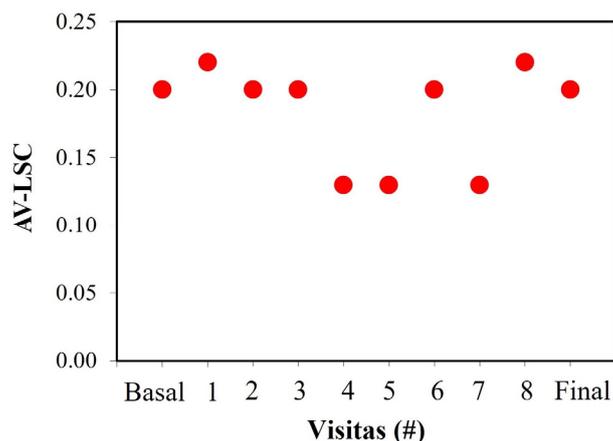
#### 3.3.1. Agudeza visual en lejos sin y con corrección

Los resultados de AV-LSC en un ejemplo representativo de ojo inyectado (paciente #5) se muestran en la Figura 3.10. En este paciente se observa que, aunque la AV-LSC se reduce en la visita #1 con respecto a la visita basal (disminuye de forma puntual de 0.20 a 0.13), ésta va aumentando progresivamente con el tiempo hasta estabilizarse en torno a un valor de 0.25 a partir de la visita #4. Esto representa un incremento del 25% en la AV-LSC al comparar los valores finales y basales.



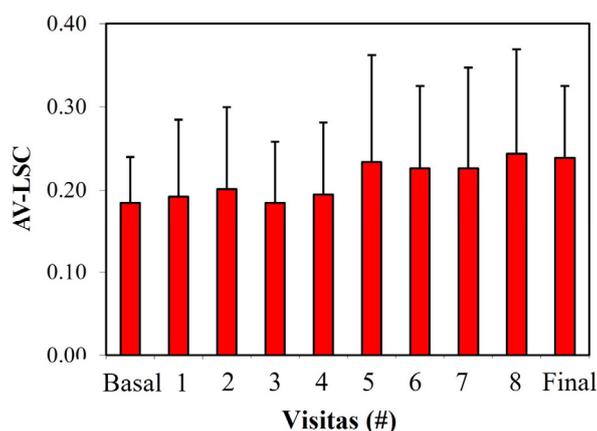
**Figura 3.10.** Evolución de la AV-LSC en el ojo inyectado de uno de los pacientes (#5) que sufre de RP. Como referencia también se ha incluido el valor de la AV en la visita basal.

Sin embargo, no en todos los pacientes existe un aumento de la AV-LSC tras haber transcurrido un año desde el tratamiento. Hemos de indicar que en algunos de los ojos tratados (N=3), la AV-LSC, aunque va cambiando con el tiempo, en la última visita tiene el mismo valor que en la primera (véase, por ejemplo, la Figura 3.11). Esto es importante porque, a pesar de no haber habido mejora, el avance de la patología (al menos en lo que AV se refiere) no ha ido a más durante el año que ha transcurrido tras el tratamiento.



**Figura 3.11.** Evolución de la AV-LSC en el ojo inyectado con CMN-MOs del paciente #7 del presente estudio.

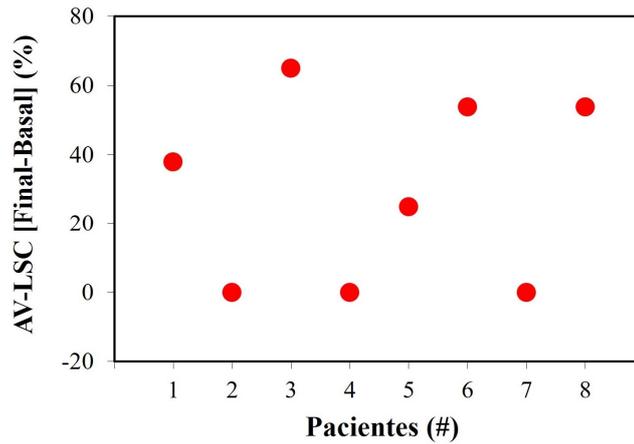
Los valores promedio de AV-LSC para los ojos inyectados de todos los pacientes a lo largo del periodo de estudio se muestra en la Figura 3.12. En media, la AV-LSC pasa de  $0.19 \pm 0.07$  a  $0.24 \pm 0.09$ , lo que representa un incremento medio del 26%.



**Figura 3.12.** Valores medios de la AV-LSC de los ojos inyectados con CMN-MOs de todos los pacientes y para todas las visitas.

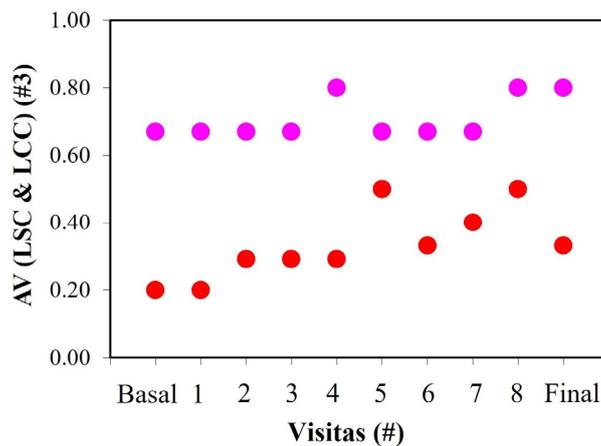
La Figura 3.13 agrupa los cambios en AV-LSC entre la visita final y la basal. Las mejoras individuales en AV-LSC oscilan entre 0 (misma AV antes y después del tratamiento) y un 65%. Es decir, en 3 ojos la AV-LSC no mejoró, pero en los otros 5 se encontraron incrementos en un rango que va desde un mínimo del ~20% hasta un máximo del 65%.

Las medidas de AV se repitieron a los mismos intervalos de tiempo también con corrección en gafa, tanto de lejos como de cerca (véase el siguiente apartado), en los casos en los que los pacientes las tenían prescritas previamente a la intervención. Hemos de recalcar que, el protocolo establecido no contemplaba la optimización de la AV, por ser éste un ensayo de seguridad y no de eficacia. Por tanto, la medida se realizó de tal forma que los pacientes portaban la misma prescripción que llevaban en la visita basal, lo cual implica que cualquier mejoría se debe al efecto de las CMN-MOs y no de la corrección óptica.



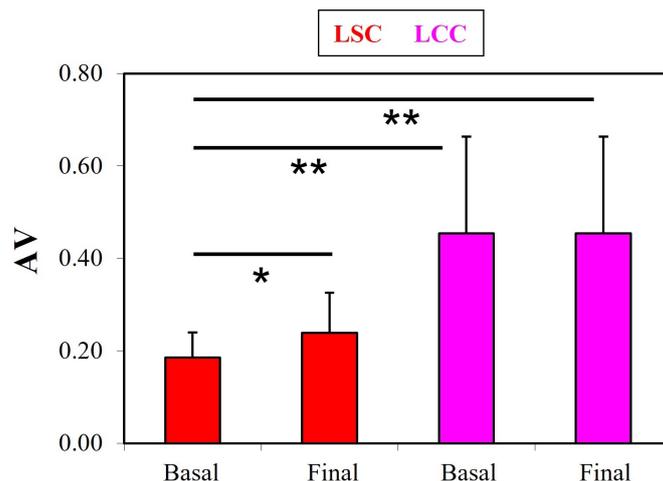
**Figura 3.13.** Cambios en la AV-LSC (en %) al finalizar el tratamiento con inyección de CMN-MOs cuando se comparan los valores de la visita final con la basal.

La Figura 3.14 muestra la evolución de la AV-LCC (magenta) comparada con la AV-LSC (rojo) en uno de los pacientes (#3). A pesar de la no optimización de la AV-LCC con una nueva prescripción, en todas las visitas se observa un cambio cuando se compara con la AV-LSC. Para este paciente, la AV-LCC presenta una mejoría, pasando de 0.67 en la visita basal a 0.80 en la final.



**Figura 3.14.** Ejemplo representativo de la evolución de AV-LSC (rojo) y AV-LCC (magenta) en el ojo tratado con CMN-MOs en uno de los pacientes (#3).

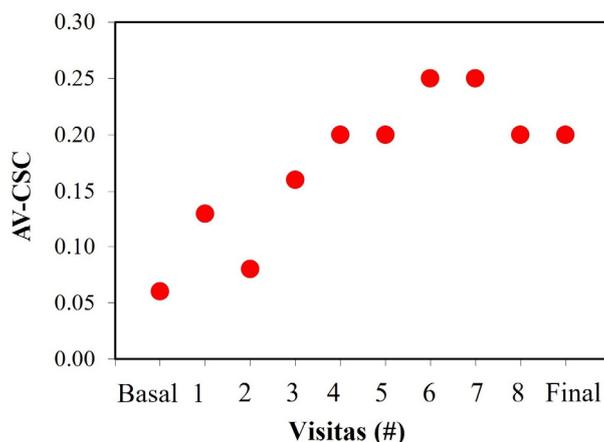
En la gráfica de la Figura 3.15 se comparan los valores medios de AV sin y con corrección, tanto en la visita basal como en la final. En media, la AV-LSC mejora tras el tratamiento en un 26% (la diferencia fue significativa [ $p=0.05$ ]) y cuando ésta se corrige con gafa sube hasta un 88%. Sin embargo, en la AV-LCC no hay diferencias significativas antes y después del tratamiento ( $p=0.08$ ), posiblemente porque la corrección usada en gafa no está optimizada, como ya se comentó anteriormente. Las diferencias entre AV-LSC basal y AV-LCC final son estadísticamente significativas ( $p=0.001$ ).



**Figura 3.15.** Valores medios de AV-LSC (en rojo) y AV-LCC (en magenta), antes (visita basal) y después del tratamiento (visita final). Los datos de la visita basal son los mismos que se mostraron en la Figura 3.8. (\*:  $p=0.05$ ; \*\*:  $p=0.001$ ).

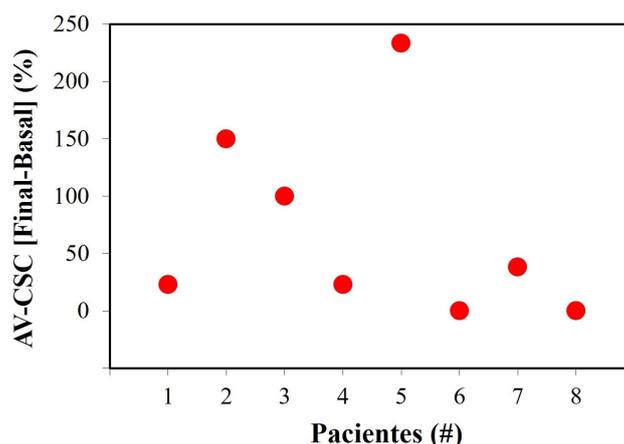
### 3.3.2. Agudeza visual en cerca sin y con corrección

La Figura 3.16 presenta la evolución de la AV-CSC en el ojo inyectado de uno de los pacientes (#5). El valor cambia de 0.06 en la visita basal hasta alcanzar 0.20 en la final, lo que representa un incremento mayor de 3x.



**Figura 3.16.** Evolución de la AV-CSC en el ojo inyectado con CMN-MOs de uno de los pacientes (#5) involucrados en el presente estudio.

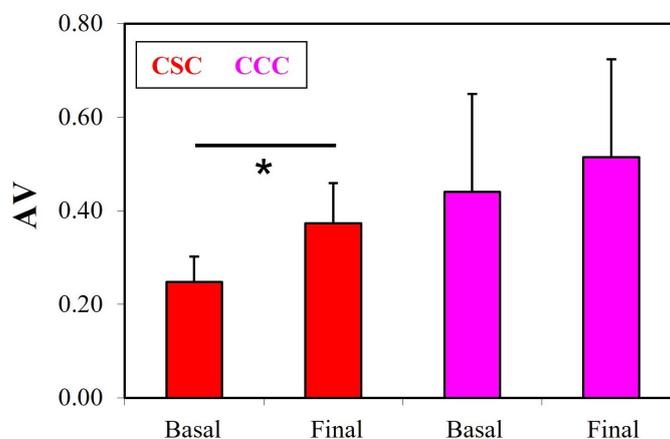
De forma similar a lo que se apuntaba arriba sobre la visión de lejos, en visión de cerca también ocurre que la AV-CSC en algunos ojos no mejora al año del tratamiento, sino que se mantiene. Esto queda representado en la Figura 3.17 que engloba los cambios de la AV-CSC entre el final del periodo bajo estudio y la visita basal. En este caso dichos valores se sitúan el rango  $[0, 233]$  %. Los valores medios teniendo en cuenta todos los ojos inyectados pasan de  $0.25 \pm 0.16$  a  $0.37 \pm 0.11$ .



**Figura 3.17.** Mejora (en %) en la AV-CSC de los ojos inyectados comparando los valores entre la visita final y la basal.

Como cabe esperar, al corregir esta visión de cerca tras el tratamiento, también mejora la AV. Aunque la edad no es un punto a tener en cuenta en nuestro pacientes (la máxima fue de 54 años), hay que tener en cuenta que desde el punto de vista oftalmológico la mejora en cerca siempre es más compleja que en lejos.

Los valores medios de AV-CSC y AV-CCC para las visitas basal y final tras el tratamiento se muestran en la Figura 3.18 (junto con los basales de la Figura 3.8). En particular, la AV-CSC media mejora tras el tratamiento en un 48% y la diferencia es estadísticamente significativa ( $p=0.03$ ). Por su parte, en la visita basal (véase también la Figura 3.8) la corrección producía una mejora del 76%. Las diferencias entre CSC y CCC tras el tratamiento son del 38%. No se han encontrado diferencias significativas entre las AV-CCC antes y después del tratamiento. Pero conviene no olvidar que la corrección en cerca fue la usada por los pacientes antes del tratamiento y que al igual que en visión de lejos, en este caso tampoco se optimizó.



**Figura 3.18.** Valores medios de AV-CSC (en rojo) y AV-CCC (en magenta), en la visita basal y en la final. Los datos de la visita basal ya se presentaron en la Figura 3.8. Las barras de error indican la desviación estándar. (\*:  $p=0.03$ ).

### 3.4. Discusión

En la RP, al igual que en otras patologías retinianas, el denominador común es la pérdida progresiva de células, tales como fotorreceptores o ganglionares. Esto lleva en la mayoría de los casos a una reducción irreversible de la visión. Aunque, a día de hoy no hay cura para la RP, las células madre podrían potencialmente usarse tanto como neuro-protección como para reemplazo celular [Siquiera, 2011a].

Desde hace unos años, la inyección intravítrea de CMN-MOs ha sido la base de varios ensayos clínicos para el tratamiento de la RP (véase apartado 1.3 de la Introducción), como el que se presenta en esta Tesis Doctoral.

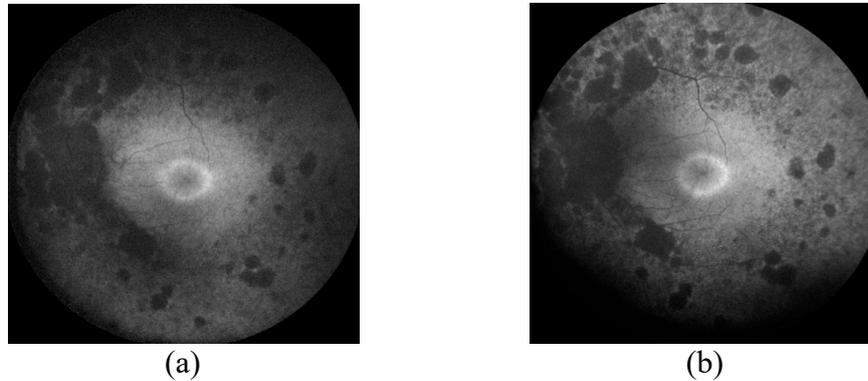
Tomando como base los trabajos en modelos animales del grupo de Martin Friedlander (The Scripps Research Institute, La Jolla, CA) y de Louis Smith (Children's Hospital, Boston, MA) [Otani, 2004; Smith, 2004], en 2008, Jonas *et al.* utilizaron una inyección intravítrea de CMN-MOs en un paciente con atrofia retiniana por efecto de la retinopatía diabética [Jonas, 2008]. A la semana de la intervención no hubo signos ni de inflamación ni de infección. En un estudio posterior de los mismos autores (3 pacientes con glaucoma y retinopatía diabética) el resultado fue similar pasado 1 mes [Jonas, 2010]. El ensayo clínico de Siquiera y colaboradores duró 10 meses, tras los cuales ninguno de los 5 pacientes involucrados (3 con RP y 2 con distrofia de conos y bastones) tuvo efectos adversos asociados a la inyección [Siqueira, 2011b; Siqueira, 2011c].

Por el contrario, en uno de los 3 pacientes involucrados en el ensayo de Satarian *et al.* con células madre mesenquimales se observó proliferación de tejido fibroso en el vítreo que condujo a un desprendimiento de retina traccional (a los 3 meses) y a la formación de una catarata (al año) [Satarian, 2017]. En un grupo más numeroso de pacientes con RP (N=14), Tuekprakhon y co-autores no observaron efectos adversos serios tras la inyección de células madre mesenquimales durante el año que duró el estudio [Tuekprakhon, 2021]. Las incidencias consideradas no-graves por los responsables del ensayo incluyeron una sinequia posterior, un pequeño edema macular cistoide, un leve desprendimiento coroideo y un desplazamiento de una lente intraocular. Tras finalizar el ensayo, a 12 de los pacientes se les realizaron revisiones periódicas (entre 1.5 y 7 años) y solamente tuvo lugar un caso severo (al 4º mes del año 3): una hemorragia vítrea que necesitó de vitrectomía.

La inyección intravítrea de CMN-MOs CD34+ usadas en dos estudios diferentes no provocaron ni inflamación ni hiperproliferación en ninguno de los pacientes a pesar de tener

un gran abanico de patologías (RP, oclusión vascular retiniana, agujero macular, degeneración macular no exudativa) [Park, 2014; Siqueira, 2021].

Como ejemplo, en la Figura 3.19 se muestran imágenes de fondo de ojo en uno de los pacientes involucrados en este ensayo clínico, una registrada durante la visita basal y la otra a los 90 días de haber recibido la inyección de CMN-MO (visita #5).



**Figura 3.19.** Ejemplo de imágenes del fondo de ojo de uno de los pacientes con RP registradas con auto-fluorescencia. (a) Visita basal; (b) Visita #5.

### 3.4.1. Refracción y presión intraocular

Previamente a medir la AV, se procedió a refraccionar ambos ojos de los pacientes tanto en la visita basal como en la final. En lo que respecta a la refracción inicial, el valor medio para la EE fue de  $-0.29 \pm 2.12$  D, lo que a primera vista indica una leve miopía (el 63% tienen una EE negativa). Sin embargo, el análisis por separado de la esfera y el cilindro muestra que en 13 de los 16 ojos (81%) el astigmatismo es mayor de 0.50 D (Figura 3.1). Además, en la esfera existe una gran variabilidad inter-individual, con un rango que va desde  $-2.50$  a  $+4.25$  D.

Estos resultados están en concordancia con estudios recientes que han mostrado valores medios de EE de  $-0.45 \pm 2.20$  D, así como que un 86% de ojos de los pacientes con RP tenían cilindros por encima de 0.50 D [Cedrún Sánchez, 2018]. Publicaciones anteriores coinciden en que en ojos con RP la refracción ocular predominante suele ser miopía y astigmatismo [Berson, 1980; Berson, 1993a; Pagon, 1988; Sieving, 1978]. Sin embargo, la prevalencia del astigmatismo era menor que la encontrada aquí (sólo el 47% presentaban astigmatismos por encima de 0.50 D [Sieving, 1978]).

Al finalizar el tratamiento con CMN-MOs la refracción ocular permanece prácticamente constante (Figura 3.2) (EE promedio:  $-0.28 \pm 2.42$  D).

Por otra parte, los valores de PIO de la visita final no se diferencian significativamente de los registrados en la visita basal y todos se consideran dentro de la normalidad. Es interesante destacar que aparece un descenso brusco de la PIO al día siguiente de la inyección, que luego

se estabiliza con el paso de los meses. Esta estabilización con el tiempo también ha sido reportada por otros autores (1 mes tras la intervención) [Jonas, 2010]. Por el contrario, en otro ensayo se describe un aumento de la PIO tras la inyección que también se estabilizó con el tiempo [Tuekprakhon, 2021]. En uno de los pacientes del ensayo también aumentó la PIO, pero se estabilizó con tratamiento farmacológico.

### 3.4.2. Agudeza visual en la visita basal

Como enfermedad retiniana que es, la RP afecta a la AV del paciente que la padece. Mientras que su incidencia es baja en estadios iniciales, ésta disminuye rápidamente en estadios avanzados [Pagon, 1988]. Si el campo visual es  $>15^\circ$  y la AV  $>0.6$ , la RP está en un estadio I. Cuando la afección progresa y la AV  $\sim 0.05$  y el campo visual  $<5^\circ$ , estamos ante una RP en estadio IV [García Martín, 2015]. Los pacientes son declarados como ciegos legales si su AV está por debajo de 0.1 [Berson, 1993a]. Las razones de esta disminución en la AV se fundamentan por la muerte de fotorreceptores, pero también por patologías asociadas la RP como edema macular o agujeros maculares, entre otros.

En una muestra de 999 pacientes con RP (mayores de 45 años), más del 50% tenían una AV  $>0.5$  y solamente en un 25% la AV fue menor o igual a 0,1. Esto implica que incluso en presencia de RP, puede que la retina conserve intacta la zona foveal central y por tanto la AV no siempre se vea afectada de forma significativa [Grover, 1999]. Los resultados fueron similares en un estudio con un grupo de pacientes menos numeroso [Berezovsky, 2003]. Sin embargo, dicha AV sí que puede verse afectada por la aparición de edema [Fishman, 1977a].

La combinación de OCT y AV realizada en 9 ojos de pacientes con RP reportó una AV media de 0.43 (rango, entre 0.1 y 1) y que los valores de AV estaban débilmente correlacionados con el espesor retiniano de la zona macular central [Witkin, 2006]. En un estudio posterior con 118 ojos, Lupo *et al.* encontraron que la AV media era de  $0.95 \pm 0.07$  si la patología no había producido cambios morfológicos en la zona macular, de  $0.72 \pm 0.22$  con presencia de edema macular clínico, y bajaba hasta  $0.50 \pm 0.20$  si había tracción vítreo-macular [Lupo, 2011].

En nuestra muestra de pacientes la AV-LSC promedio en la visita basal fue de  $0.19 \pm 0.07$ , con valores entre 0.13 y 0.29, lo que da muestras de que la patología está en un estadio avanzado y es coherente con publicaciones previas. En visión cercana, la AV-CSC basal media fue de  $0.27 \pm 0.17$  con un rango de valores individuales mayor que en visión de lejos ([0.06, 0.50]). No se encontró ninguna dependencia con la edad a pesar de que la maculopatía depende mucho de ésta.

Cuando corregimos la visión de lejos, el rango de AV-LCC se situó entre 0.20 y 0.67, con un valor promedio de  $0.45 \pm 0.21$ , que implica un aumento  $>2x$ . En el caso de visión cercana, la AV-CCC media fue de  $0.44 \pm 0.15$ , que representa un  $1.6x$  con respecto a la AV-CSC. Las diferencias en LCC con respecto a LSC fueron estadísticamente significativas, pero en cerca, no.

En esta visita basal no se encontraron diferencias significativas entre los ojos que serían inyectados y los que no. Es de interés hacer hincapié en este hecho puesto que a pesar de que los resultados recogidos en el presente trabajo sólo se centran en los ojos inyectados, la elección (como ya se ha comentado anteriormente) fue al azar y el ensayo fue doble ciego.

### 3.4.3. Agudeza visual en la visita final

En diferentes ensayos con células madre se han realizado medidas de AV. Sin embargo, no siempre se obtuvieron resultados satisfactorios. En ninguno de los ensayos con CMN-MOs que realizaron Jonas *et al.* se encontraron cambios en la AV [Jonas, 2008; Jonas, 2010]. Éstos se llevaron a cabo en pacientes con glaucoma y degeneración macular por retinopatía diabética, pero no con RP. En 2011, Siqueira *et al.* realizaron un estudio (fase I) en 3 pacientes con RP a los que se administró una única inyección de CMN-MOs. Observó una mejora en la AV (1 línea en el test ETDRS) que se detectó en la semana 1 y se mantuvo hasta el final de ensayo (40 semanas) [Siqueira, 2011b; Siqueira, 2011c]. Todos los participantes en el estudio de Tuekprakhon y colaboradores (N=14) aumentaron su AV a los pocos meses de la inyección [Tuekprakhon, 2021]. Aunque volvieron a valores basales al año, éstos permanecieron estables varios años después del final del estudio.

En el ensayo de Park *et al.*, con 6 pacientes que sufrían de distintas patologías retinianas, la AV tuvo variaciones inter-individuales, pero en ninguno caso disminuyó al finalizar el estudio (6 meses) [Park, 2014]. En un caso clínico de un paciente con RP y agujero macular, se ha reportado un incremento de la AV (de 0.05 a 0.13) a los 3 meses [Siqueira, 2021].

En un ensayo clínico en fase III, Kahraman *et al.* transplantaron células mesenquimales de cordón umbilical en el área supracoroidal de 124 ojos (82 pacientes) con RP [Kahraman, 2020]. A los 6 meses el 46% de los ojos experimentaron una mejora en la visión (de 0.04 a 0.08 en media), el 42% permaneció estable y el 12% empeoró. De forma similar, en un ensayo de 12 meses con 32 pacientes que sufrían de RP, se usaron el mismo tipo de células mesenquimales de cordón umbilical (administradas de forma intravenosa) y se obtuvo que el 90.6% de los pacientes mejoraron su AV [Zhao, 2020].

En nuestra muestra de pacientes con RP avanzada se han estudiado los cambios en la AV en diferentes condiciones de visión tras la inyección de CMN-MOs. La AV-LSC en la visita final aumentó en 5 ojos y se mantuvo estable en los 3 restantes. En media, hay un aumento del 26%, pasando  $0.19 \pm 0.07$  a  $0.24 \pm 0.09$  (diferencia significativa), que sube hasta  $0.45 \pm 0.21$  cuando se corrige con gafa. Este resultado tras un año de tratamiento es clave puesto que durante ese tiempo la patología parece estabilizarse o mejorar en términos de AV. Además, es de destacar que, dada la baja AV-LSC con la que parten estos pacientes, cualquier posible mejora representa un hito en este tipo de ensayos clínicos. El comportamiento en visión cercana es similar: la AV-CSC en la visita final se mantuvo estable en 2 ojos y aumentó en los 6 restantes. En media, hay un aumento del 48%.

Todos estos estudios previos arriba citados se han centrado en medidas de AV en visión de lejos. En nuestro ensayo clínico no sólo hemos encontrado mejoras en visión de lejos, sino también en cerca. A pesar de que esta mejora no ocurre en todos los pacientes, en aquellos en los que no tiene lugar, se mantiene durante al menos el tiempo que dura el estudio. Esto representa un gran beneficio para estos pacientes que padecen una RP en un estadio avanzado, puesto que para ellos cualquier mejora, por pequeña que sea, hace que su calidad de vida aumente.



---

# CAPÍTULO 4

---

## **Resultados II. Sensibilidad al contraste y visión cromática**

En este segundo bloque de resultados se muestran los valores de SC así como los referidos a la visión del color. Al igual que se hizo con la AV, los datos basales de la primera visita servirán de referencia para explorar los cambios que se producen tras la inyección de CMN-MOs.

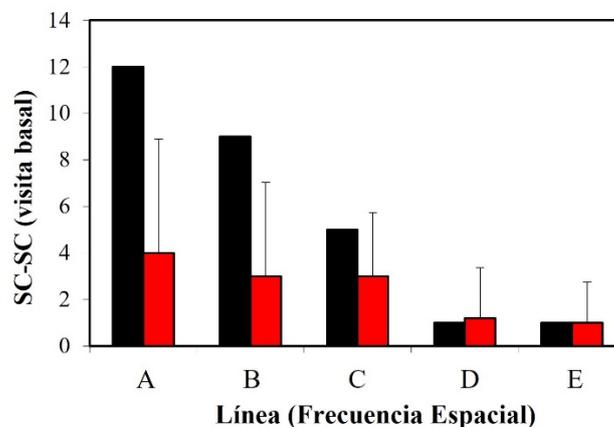
Para que pueda servir como referencia (véase apartado 2.4.2), los valores de SC considerados normales para la línea A (que corresponde a una frecuencia espacial de 1.5 ciclos/grado) se sitúan entre 35 y 70. Para la línea B (3 ciclos/grado) el rango es 44-170 y para la C (6 ciclos/grado), 70-185. En el caso de las líneas D (12 ciclos/grado) y E (18 ciclos/grado) los valores estarían respectivamente entre 15 y 125, y entre 4 y 40.

En lo que respecta a la visión cromática, las medidas se han llevado a cabo con los dos tipos de test ya referidos en el Capítulo 2, el test de Ishihara y el test de Velhagen-Broschmann.

*(Esta página se ha dejado intencionadamente en blanco)*

## 4.1. Sensibilidad al contraste en la visita basal

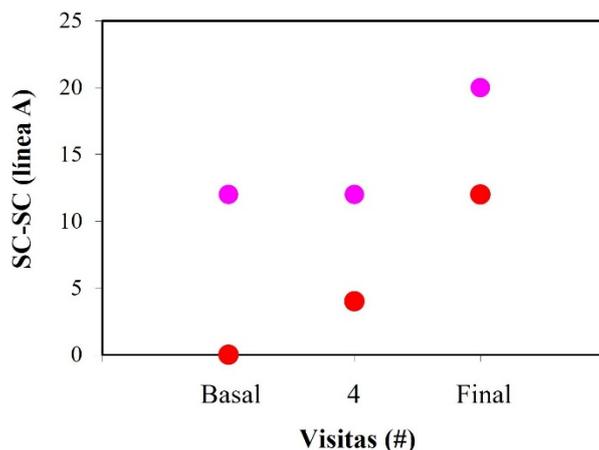
Las barras negras de la Figura 4.1 muestran, como ejemplo representativo, los valores de SC sin corrección (SC-SC) medidos en la visita basal para uno de los pacientes (#7) en el ojo que sería inyectado posteriormente con CMN-MOs. Se puede observar cómo la SC decae con la frecuencia espacial, pasando de 12 a 1. Incluso para frecuencias espaciales bajas (1.5 ciclos/grado), los valores están muy por debajo de los considerados como “normales” (rango 35-70). En el resto de los ojos involucrados en el presente estudio el comportamiento es similar. Este hecho se ve reflejado en los datos con barras rojas, que representan los valores medios para todos los pacientes y frecuencias. En promedio, los valores bajan de  $4 \pm 5$  hasta  $1 \pm 2$ .



**Figura 4.1.** Valores de SC-SC para uno de los pacientes con RP (barras negras) obtenidos en la visita basal para todas las frecuencias espaciales utilizadas en el estudio. Las barras rojas corresponden a los valores medios de la SC-SC para todos los pacientes. Las barras de error representan las correspondientes desviaciones estándar.

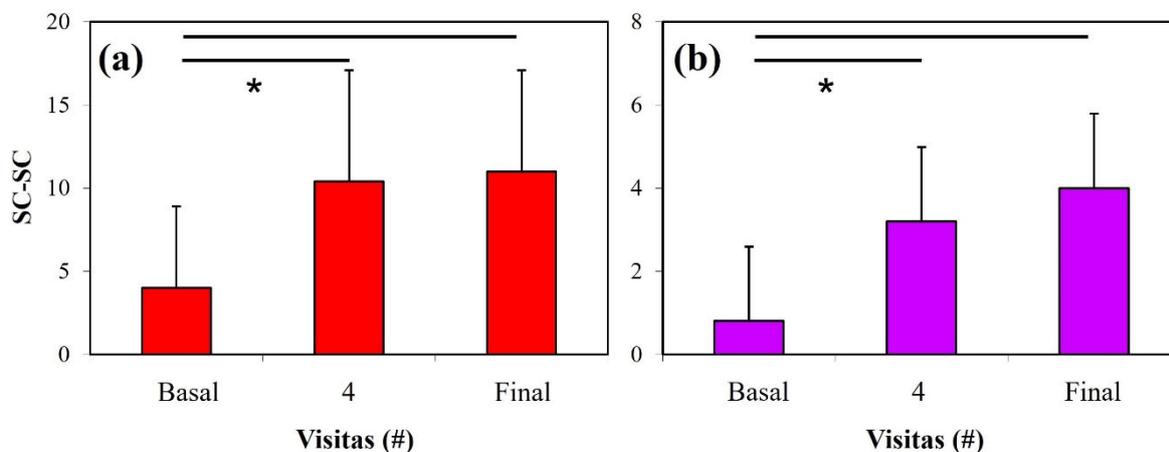
## 4.2. Evolución de la sensibilidad al contraste tras la inyección

Como ya se indicó en el Capítulo 2, la SC se analizó en visita basal, a los 2 meses (visita #4) y al año (visita final). La Figura 4.2 presenta, para dos pacientes, los valores individuales de SC-SC en el ojo inyectado para la línea A (1.5 ciclos/grado) en las diferentes visitas. Se han escogido estos dos pacientes (#5 y #7) pues representan los valores extremos de la SC-SC en la visita basal (12 y 0 respectivamente). Como cabe esperar, los resultados tras finalizar el tratamiento dan muestras de que existe cierta recuperación de la SC, pero el efecto de la patología sigue siendo más que patente.



**Figura 4.2.** Evolución temporal de la SC-SC en los ojos inyectados de dos pacientes (#5, rojo; #7, magenta).

En el paciente #7 se observa que la SC-SC se mantiene hasta los 2 meses y aumenta hasta 20 en la visita final, lo que representa un incremento del 67%. Sin embargo, en el paciente #5 hay un incremento progresivo, pasando de 0 a 12 tras haber transcurrido un año desde el tratamiento. Estos dos comportamientos son los que se han encontrado en todos los ojos inyectados para las diferentes frecuencias espaciales, es decir, en algunos sujetos hubo cambios progresivos durante el tiempo que duró el ensayo, mientras que en otros los cambios se producen entre los 2 meses y la visita final.



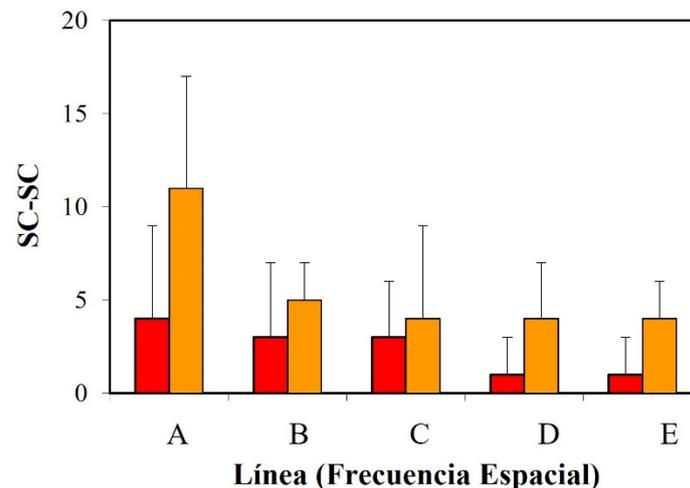
**Figura 4.3.** Valores medios de la SC-SC para las líneas A (a) y E (b) de los ojos inyectados de todos los pacientes y para las diferentes visitas. (\*:  $p \leq 0.05$ ).

En la Figura 4.3 se presentan los valores promedio de SC-SC para las líneas A y E (baja y alta frecuencias espaciales respectivamente) en todos los ojos inyectados a lo largo del periodo de estudio. Nótese la diferencia entre los ejes de ordenadas de ambas gráficas. En media, la SC-SC pasa de  $4 \pm 5$  a  $11 \pm 6$  en el caso de la línea A. Aun así, el valor final sigue estando notablemente por debajo de los valores estándar de pacientes sanos. Para la frecuencia más alta utilizada, la SC-SC aumenta de  $1 \pm 2$  a  $4 \pm 2$ , valor éste último que está en la cota inferior de lo

considerado como “normal”. El análisis estadístico (t-test) muestra diferencias significativas entre la visita basal y la intermedia, así como entre la basal y la final, tanto para la línea A ( $p=0.05$ ) como para la E ( $p=0.03$ ).

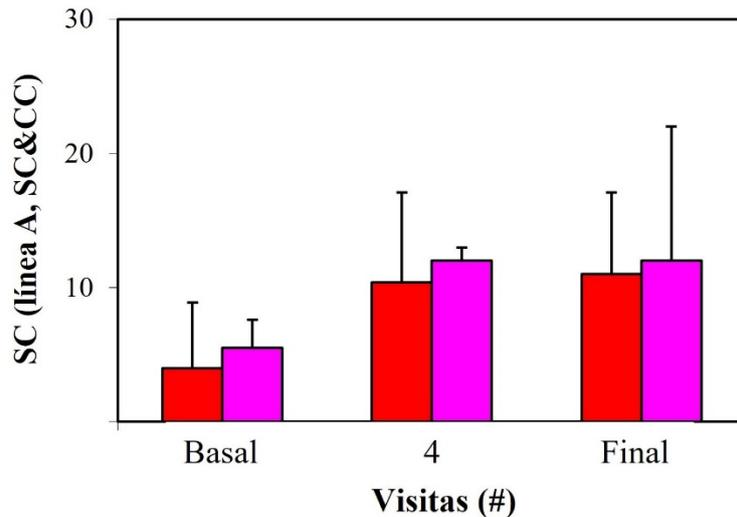
Para mostrar el comportamiento general, la Figura 4.4 agrupa los valores medios de SC-SC de las visitas basal y final para todas las líneas (de la A a la E). Como ya se dijo antes (véanse Figuras 4.1 y 4.3) al aumentar la frecuencia, la SC-SC en la visita basal fue disminuyendo, yendo desde un valor medio de 4 (línea A) hasta 1 (línea E).

Para todas las frecuencias espaciales se ha encontrado un incremento mantenido entre ambas visitas (basal y final). Se puede observar que el cambio más drástico a lo largo del seguimiento de un año corresponde a la frecuencia más baja (línea A, que aumenta de 4 a 11). Para el resto, la SC-SC al finalizar el tratamiento tiene un valor de en torno a 4, que corresponde al rango patológico o fuera de la normalidad.



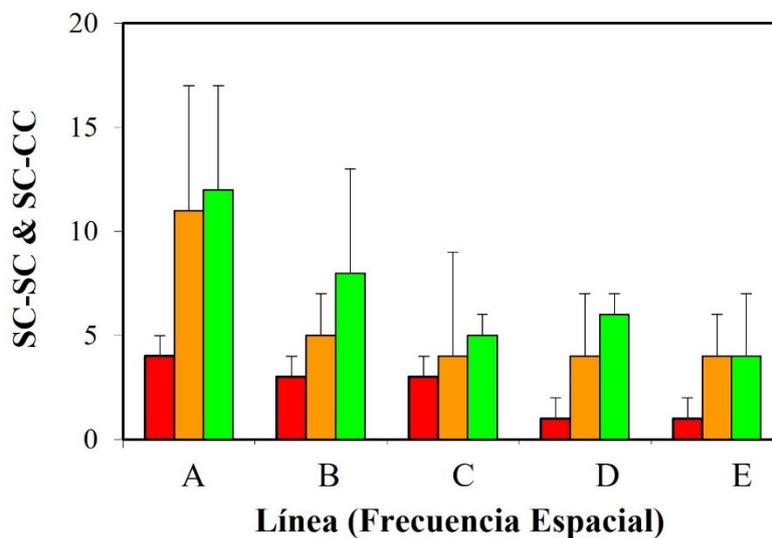
**Figura 4.4.** Valores medios de SC-SC para todas las frecuencias espaciales medidas en la visita basal (rojo) y en la final tras el tratamiento (naranja). Las barras de error representan la desviación estándar para todos los ojos tratados.

La SC se midió también con corrección en gafa (SC-CC) en las mismas visitas. Como ejemplo representativo, en la Figura 4.5, se comparan los valores medios de SC para la línea A, sin y con corrección para todos ojos inyectados y todas las visitas. A diferencia de lo que ocurría con la AV, la gafa es capaz de mejorar de la SC de forma puntual, pero en ningún caso la mejora es significativa. Aunque en media, la SC-SC casi se triplica ( $\times 2.75$ ) tras el tratamiento, cuando se corrige con gafa (SC-CC) en la visita final, solamente hay un aumento moderado (9%) con respecto a la SC-SC medida en dicha visita. Esto implica que la mejora es básicamente debida al tratamiento.



**Figura 4.5.** Comparación de valores promedio de SC sin (rojo) y con (magenta) corrección para la línea A, en todos los ojos inyectados con CMN-MOs y para todas las visitas. Las barras rojas son las mismas que en la Figura 4.3a.

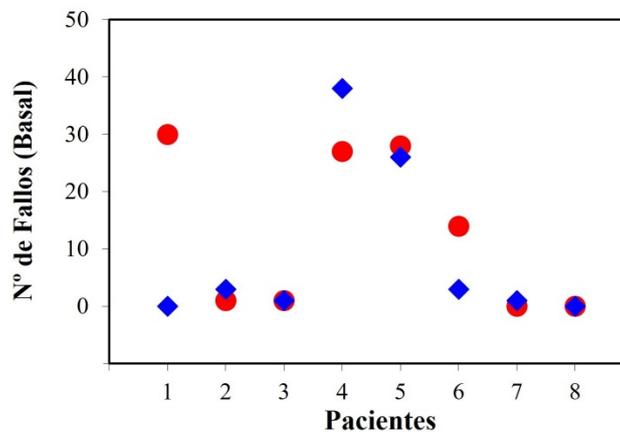
Finalmente, y para establecer una comparativa global, en la Figura 4.6 se representan las SC medias para las cinco frecuencias medidas en la visita basal y final sin corrección y en la final con corrección. Una simple visualización muestra que el cambio que se produce con el tratamiento es el de interés, mucho más que el que proporciona la ayuda visual. Este hecho es de esperar, porque hemos de recordar que dicha corrección no se optimizó y por tanto los pacientes portaban la misma prescripción que en la visita basal.



**Figura 4.6.** Valores promedio de SC para las cinco frecuencias espaciales utilizadas. Rojo: visita basal sin corrección; naranja: visita final sin corrección; verde: visita final con corrección. Las barras de error indican lo mismo que en las gráficas anteriores.

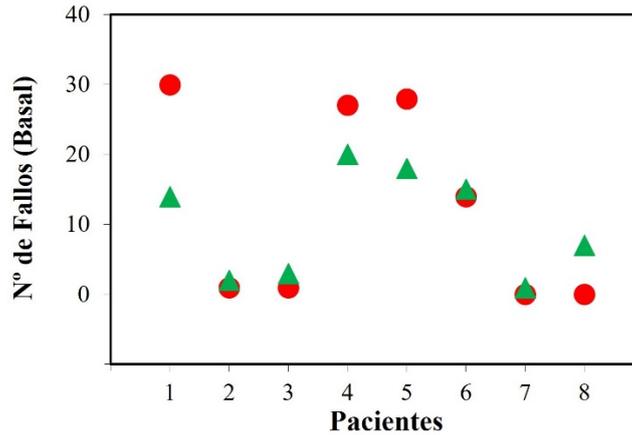
### 4.3. Visión cromática en la visita basal

En la Figura 4.7 se muestran los resultados de las medidas de visión del color en ambos ojos de todos los pacientes en la visita basal, utilizando el test de Ishihara. Para una mejor comprensión de los efectos de la RP sobre la visión del color se ha decidido representar el número de láminas en las que el paciente no es capaz de ver el objeto representado. Es lo que hemos denominado “número de fallos” (véase el apartado 2.4.3). Se han separado los ojos que serán posteriormente inyectados con CMN-MOs (en rojo) y los que no (en azul). Aunque estos últimos ya sabemos que no son objeto de este estudio, es interesante comprobar si hay (o no) diferencias en la visión del color entre ojos contralaterales. En el primer grupo, cuatro tienen una visión del color normal, pero el resto falló entre 14 y 30 láminas, lo que es un signo palpable de cómo puede afectar la RP a la visión del color. Por otra parte, en el grupo de ojos que recibirán una inyección placebo (que se decidió de forma aleatorizada centralizada) solamente hay dos con claros problemas de visión cromática y cuyos ojos contralaterales también los tienen. Hay que destacar que solamente hay uno de los pacientes (el #1) en el que se ha encontrado una gran discordancia entre ojos contralaterales. En definitiva, la mitad de los ojos inyectados presenta inicialmente anomalías en la visión del color.



**Figura 4.7.** Número de fallos en el test de Ishihara. Los datos corresponden a los ojos de todos los pacientes que posteriormente serían tratados con CMN-MOs (rojo) y a los que recibirían una inyección de placebo (azul).

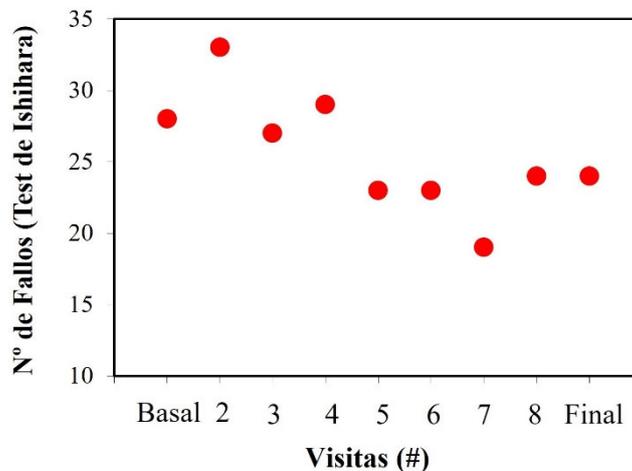
Para esta visita basal, la Figura 4.8 compara los resultados obtenidos usando el test de Ishihara y el de Velhagen-Broschmann. Se muestran los datos para los ojos que recibirán las CMN-MOs. Las diferencias entre ambos métodos oscilan entre 1 y 16, donde el valor máximo corresponde de nuevo al paciente que más deficiencia cromática presentó (el #1). Además, y como es de esperar, tanto los ojos sin deficiencia en la visión del color como los más afectados son los mismos con ambos métodos.



**Figura 4.8.** Comparación de los resultados en la visita basal obtenidos con los tests de Ishihara (círculos rojos) y de Velhagen-Broschmann (triángulos verdes) en los ojos que posteriormente recibirán la inyección de CMN-MOs. Los datos de los símbolos rojos son los mismos que los de la figura anterior.

#### 4.4. Evolución de la visión cromática tras el tratamiento

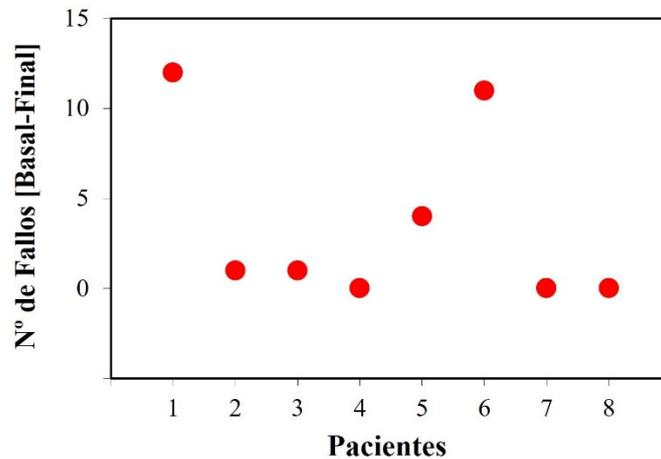
La Figura 4.9 presenta un ejemplo representativo de la evolución de la visión del color (test de Ishihara) en el de ojo inyectado con CMN-MOs de uno de los pacientes (el #5). A pesar de las pequeñas variaciones inter-visita, de forma general se observa una disminución progresiva del número de fallos con el tiempo que discurre entre la visita basal y la final.



**Figura 4.9.** Evolución temporal del número de fallos utilizando el test de Ishihara en el ojo inyectado con CMN-MOs de uno de los pacientes con RP (#5). Se ha de recordar que en la visita #1 no se realizó el test del color y por tanto no está incluida.

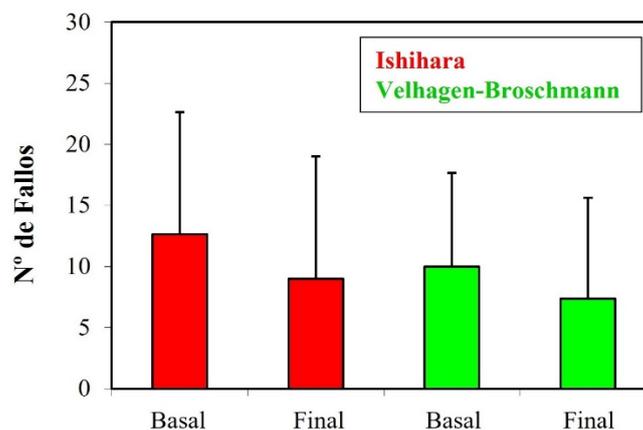
La mejora en la discriminación cromática con el tratamiento tuvo lugar en todos los ojos que presentaron deficiencias en la visita basal. Dicha mejora se presenta en la Figura 4.10. La gráfica muestra la diferencia en número de fallos entre la visita basal y la final usando las láminas del test de Ishihara. De esta forma, un valor positivo indica que el paciente ha tenido menos fallos al realizar el tests en la visita final que en la basal, lo cual va asociado a una mejora en su visión cromática. Aunque un valor nulo indica que no ha habido mejoría tras el

tratamiento, en este caso los ojos con valores más bajos (#2, #3, #7 y #8) son los que no presentaban anomalías en la visión del color en la visita basal. Por el contrario, en el paciente #4 no se observa ninguna mejoría.



**Figura 4.10.** Diferencia entre el número de fallos (test de Ishihara) entre las visitas basal y final en los ojos tratados. Un valor positivo indica una mejora en la discriminación cromática.

El uso del test de Velhagen-Broschmann arrojó resultados similares sin diferencias significativas comparado con el de Ishihara en ambas visitas. En la Figura 4.11 se comparan, los valores medios del número de fallos para ambos tests, tanto en la visita basal como en la final. En media, con ambas pruebas se observa la mejora en la visión cromática tras el tratamiento con CMN-MOs, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa ( $p=0.29$  y  $0.26$ , respectivamente).



**Figura 4.11.** Valores medios de número de fallos usando el test de Ishihara (barras rojas) y el de Velhagen-Broschmann (barras verdes) entre las visitas basal y final en los ojos tratados.

## 4.5. Discusión

### 4.5.1. Sensibilidad al contraste

En 1972 Bodis-Wollner introdujo las medidas de SC en la práctica clínica para comparar la curva de SC entre pacientes con ciertas patologías oculares y sujetos normales [Bodis-Wollner, 1972]. A día de hoy y ya pasados 50 años de aquello, no se entiende un examen visual completo sin medidas de SC, en particular en pacientes que presentan cualquier tipo de patología retiniana.

Los test de SC aportan información, no sólo sobre resolución visual, sino también sobre el comportamiento del sistema visual a bajas frecuencias espaciales. De hecho, ya desde las primeras medidas en entornos clínicos se encontraron anomalías en las frecuencias espaciales bajas en ojos glaucomatosos [Atkin, 1979] y en las altas en pacientes con diferentes maculopatías [Sjöstrand, 1977].

En pacientes con RP, Wolkstein *et al.* reportaron curvas de SC (medidas con patrones de franjas senoidales [Arden, 1978]) por debajo de las correspondientes a sujetos sanos en las que las pérdidas en las zonas de altas frecuencias eran más acusadas [Wolkstein, 1980]. Usando la misma técnica en un grupo de 11 pacientes con RP, la reducción de la SC fue independiente de la AV, pero resultó ser dependiente del grado de patología, yendo desde valores normales en casos de RP moderada con visión periférica funcional, hasta pérdidas elevadas cuando la RP era severa [Hyvärinen, 1981]. Al comparar un grupo más numeroso de pacientes con RP (N=40 con AV>0.5) con uno control (N=30), los primeros mostraron una bajada sustancial en la SC especialmente a altas frecuencias [Lindberg, 1981].

En lugar de usar test de franjas, Spellman *et al.* usaron el test de letras de Regan para SC [Spellman, 1989] en 14 pacientes con RP y 14 con visión normal de edades similares. A pesar de que los primeros no fueron capaces de identificar letras con contrastes medios y bajos, concluyeron que este tipo de test tiene unas prestaciones limitadas. Posteriormente se usó el test de SC de Pelli-Robson para examinar la relación entre la AV foveal y la SC para optotipos con “letras grandes” en pacientes con RP (N=20) y controles (N=15) también con edad similar [Alexander, 1995]. En el grupo con patología se encontró una relación significativa entre la pérdida de AV y la bajada de SC. En el grupo control, la variabilidad entre sujetos fue mucho más alta, tanto para la SC como para la AV. Otro estudio en 53 ojos de 30 pacientes con RP encontró una correlación entre la AV a frecuencias de 1.5, 3.0 y 6.0 ciclos/grado, que no existía para 12.0 y 18.0 ciclos/grado [Akeo, 2002]. El seguimiento clínico de 103 pacientes con RP en diferentes visitas dejó patente el hecho de que las medias de SC (con el test de Pelli-Robson en

este caso particular) son determinantes para mejorar el diagnóstico en la progresión (o no) de la patología [Iodha, 2004].

El presente estudio es coherente con dichas publicaciones, puesto que nuestro pequeño grupo de pacientes con RP también presenta una baja SC notablemente por debajo de la correspondiente a personas sanas. Como ejemplo pueden compararse los valores de la visita basal de la Figura 4.1 con los de la Tabla 2.3. Además, teniendo en cuenta los resultados de AV presentados en el Capítulo 3, no se ha encontrado ninguna relación entre las AV basales y la SC para ninguna de las frecuencias espaciales. Esto está en línea con lo encontrado por algunos autores a altas frecuencias [Hyvärinen, 1981; Akeo, 2002], pero contrasta con lo reportado por otros [Alexander, 1995]. En cualquier caso es difícil comparar directamente estudios en los que varía el tamaño de la muestra, la edad de ésta o la etapa en la que se encuentra la patología, entre otros.

Es de sobra conocida la mejora en la SC con la corrección visual en sujetos sanos [Villegas, 2002; Sapkota, 2020]. Puesto que la SC es menor con la presencia de patologías retinianas [Atkin, 1979; Ortiz, 2010; Pagon, 1988; Sjöstrand, 1977], el uso de mecanismos de aumento del contraste favorecería la actividad diaria de los pacientes. Sin embargo, en el presente estudio la corrección inicial con gafa no conduce a una mejora significativa en la SC, lo cual puede ser razonable, ya que dicha corrección visual únicamente está prescrita a partir de una maximización de la AV con alto contraste.

Por otra parte, más recientemente se han comparado los resultados de SC en pacientes con RP (N=22) en condiciones de iluminación mesópicas y escotópicas utilizando un test de Pelli-Robson. Se reportó una mayor reducción de la SC en condiciones mesópicas con respecto a las fotópicas, lo que se relacionó con la ausencia de la función escotópica de los bastones perifoveales de la retina [Bittner, 2020]. Nuestras medidas se realizaron en condiciones fotópicas y el protocolo clínico no incluía medidas con diferentes niveles de iluminación.

Puesto que la respuesta temporal a los cambios de contraste depende de la cinética de recuperación de los bastones, el análisis espaciotemporal de la SC puede ser una herramienta rápida y apropiada para el diagnóstico temprano en patologías de degeneración retiniana y más concretamente para evaluar la alteración funcional de los bastones. Esta disfunción se suele medir utilizando electro-retinogramas y medidas de campo visual periférico, pero raramente con test de SC. Así, Pulos y colaboradores reportaron que la SC en los pacientes con RP (N=8) es menor que en sujetos normales (N=13) para todas las frecuencias espaciales y temporales analizadas [Pulos, 1988]. Además, experimentos en un modelo animal de ratón transgénico indican que medidas de SC temporal son útiles en la detección temprana de disfunciones en los

bastones asociadas a diferentes enfermedades degenerativas de la retina, en particular la RP [Pasquale, 2021].

De forma similar a como ya se expuso con la AV, la clave de este trabajo es analizar si la inyección de CMN-MOs es capaz de producir una mejora en la SC tras el tratamiento. Aunque, la evolución temporal de cada paciente es diferente (Figura 4.2), se ha encontrado un aumento en la SC entre la visita final y la basal (Figuras 4.3 y 4.4). Como es de esperar, el porcentaje de mejora depende a su vez de la frecuencia espacial. Aunque los valores siguen estado en el rango de valores patológicos (o en el límite), los resultados muestran que el tratamiento en este grupo de pacientes mejora la SC y por tanto podría frenar la progresión de la patología al menos durante ese periodo de 1 año.

Estos resultados, aunque muy positivos para el ensayo clínico, no se han podido comparar con otros estudios de estas características, puesto que no se han encontrado medidas de este tipo en las fuentes bibliográficas consultadas. Solamente Akeo *et al.* han mostrado una mejora en la SC a 3.0, 6.0, 18.0 ciclos/grado en pacientes con RP usando Idebenona (droga con potente acción antioxidante empleada en el tratamiento experimental de enfermedades neuromusculares), que poco o nada tiene que ver con el presente tratamiento [Akeo, 1993].

#### **4.5.2. Visión cromática**

Desde el punto de vista de la salud visual, el conocimiento y análisis de las afecciones cromáticas es esencial para entender el funcionamiento del sistema visual. En presencia de patologías retinianas, estas anomalías en la visión del color se hacen cruciales, especialmente a la hora de establecer diagnósticos clínicos y prestar ayuda eficiente a los pacientes.

La RP es una de las patologías en las que las anomalías cromáticas son prevalentes, puesto que se produce una pérdida progresiva tanto del número de fotorreceptores, como de la función fisiológica de éstos [Berson, 1994; Merin, 1976]. Para detectar defectos en la visión del color se suelen utilizar test clínicos visuales específicos que esencialmente son versiones simplificadas de métodos psicofísicos [King-Smith, 1991]. En el presente trabajo se ha utilizado tanto el test de Ishihara como las láminas de Velhagen-Broschmann. El primero de ellos consta de una serie de láminas donde aparecen un conjunto de círculos de distintos colores y tamaño con un patrón o número que el paciente debe reconocer. El segundo es similar y está formado también por círculos de distintos tamaños que “esconden” letras y números que el paciente debe distinguir del fondo. Estas láminas permiten diferenciar entre distintos tipos de deficiencias en la visión de los colores, aunque son particularmente adecuadas para diagnosticar deficiencias

en el azul y el rojo-verde [Kuchenbecker, 2010]. Ninguno de los dos métodos requiere un coste excesivo de inversión ni calibración alguna.

Desde hace tiempo se sabe de las deficiencias en la visión del color en pacientes con RP [Fishman, 1981; Weleber, 1994; Young, 1980]. Sin embargo, aunque la detección del tipo de pérdida no es directa, diferentes técnicas han ayudado en la discriminación. Omar y colaboradores compararon los resultados de un test de parpadeo umbral (de su término en inglés, *flicker threshold test*) y uno de láminas pseudo-isocromáticas estándar en un grupo de 21 pacientes con RP y 21 control (edad y sexo similares entre ambos grupos). Aunque ambas pruebas fueron capaces de determinar deficiencias tanto azul-amarillo como rojo-verde en los pacientes con RP, el primero de ellos fue más efectivo (de acuerdo a una serie de parámetros planteados por los autores) [Omar, 2005]. Concluyen que con RP no hay diferencias significativas de pérdida de sensibilidad cromática entre las diferentes zonas del espectro visible, pero que dicha deficiencia se hace más evidente con el progreso de la patología, hecho que ya se había reportado anteriormente [Tyler, 1984].

Pinckers *et al.* analizaron el efecto del edema macular cistoide de pacientes con RP sobre la visión de color. Este tipo de edemas se produce por la acumulación de fluido intrarretiniano en la mácula que da lugar a imágenes quísticas. El estudio reporta que este tipo de edema afecta a la AV pero no a la visión del color [Pinckers, 1993]. En esencia la aparición del edema es inversamente proporcional al aumento en las deficiencias cromáticas.

Knighten y colaboradores utilizaron el test de Farnsworth D-15 (formado por fichas de colores numeradas donde el paciente debe ordenarlas según las tonalidades de color) para clasificar y cuantificar la visión del color en pacientes con RP. Encontraron relaciones significativas entre la AV y varios parámetros experimentales de medida de la anomalía a la visión del color. Concluyen que este test puede utilizarse como método de medida para detección de RP en etapas tempranas [Knighten, 2014]. Más recientemente, utilizando el test de Farnsworth, Tortajada y Valverde han mostrado que la anomalía cromática azul-amarillo es la prevalente en sujetos jóvenes que padecen RP, pero que no todos ellos manifiestan deficiencia cromática [Tortajada, 2020].

Entre los pacientes con RP involucrados en el presente estudio cuatro de ellos no presentaron deficiencias en la visión del color, hecho que coincide con lo reportado por Tortajada y Valverde [Tortajada, 2020].

Las pruebas de visión cromática realizadas en este ensayo clínico no tenían como objetivo analizar en qué zonas del espectro tiene lugar la deficiencia, sino más bien estudiar si tras el tratamiento tiene lugar una mejoría en la visión cromática del paciente. Los resultados muestran

que en el transcurso de un año tras la inyección intravítrea de las CMN-MOs, solamente en uno de los ojos no se produce mejoría (paciente #4). Hay que destacar también que, durante este tiempo los ojos sin anomalías en la visión del color permanecen como tal, lo cual podría ser un signo de que el tratamiento contribuye a la estabilidad de la afectación retiniana.

---

# CAPÍTULO 5

---

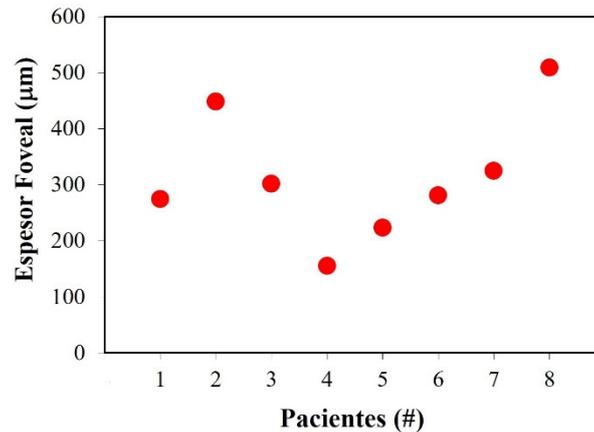
## Resultados III. Espesor retiniano medido con OCT

En este capítulo se muestran y analizan los resultados correspondientes a las medidas del espesor retiniano en la zona macular, donde se analizarán el subcampo central (i.e. zona foveal central) y el periférico (i.e. anillo parafoveal que la rodea). Se ha utilizado el sistema comercial de imagen OCT ya descrito. También se analizará el espesor de la capa de fibras nerviosas que rodean la cabeza del nervio óptico. De forma similar a lo expuesto en los capítulos precedentes, se analizarán los posibles efectos de la inyección de CMN-MOs en las visitas sucesivas. Las variaciones en los espesores de las distintas zonas estudiadas permitirán estimar el efecto del tratamiento. Como ya se indicó en la sección de Métodos, se consideran normales los espesores en el rango [250, 300]  $\mu\text{m}$  para la fóvea central y [300, 350]  $\mu\text{m}$  para la zona parafoveal. Además, puesto que se ha utilizado el *software* incluido en el propio instrumento, como criterio general para este trabajo se ha considerado que los espesores se mantienen constantes cuando la variación encontrada es menor de un  $\pm 5\%$ .

*(Esta página se ha dejado intencionadamente en blanco)*

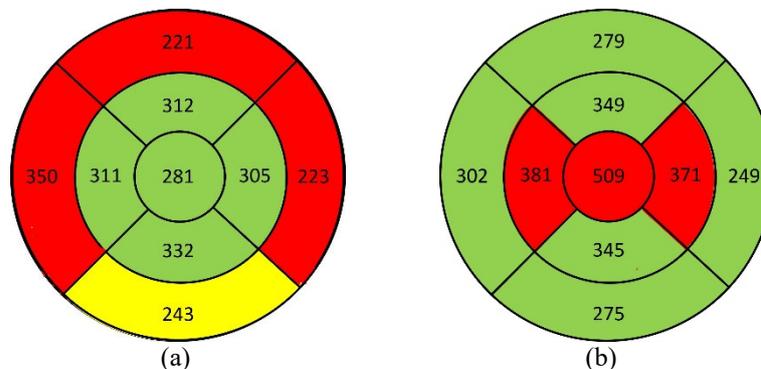
## 5.1. Espesores foveal y parafoveal en la visita basal

La Figura 5.1 presenta los valores individuales de espesor foveal de todos los pacientes medidos en la visita basal. Los datos corresponden a los ojos que serán posteriormente inyectados con CMN-MOs. Se puede observar la variabilidad inter-individual, con espesores que van desde 155 a 509  $\mu\text{m}$ .



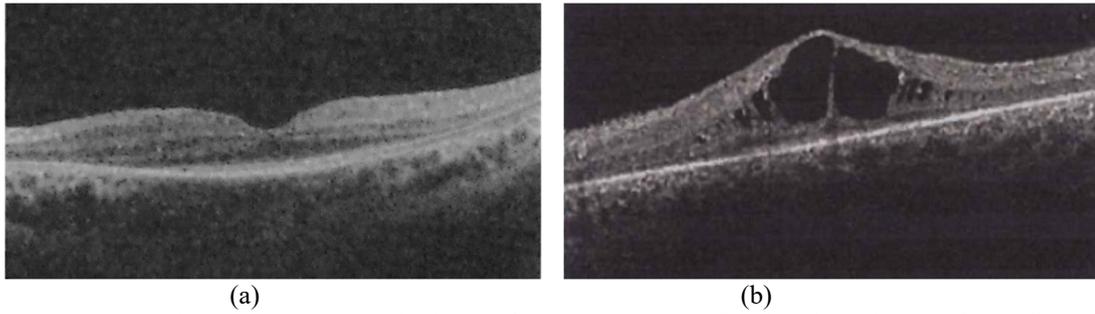
**Figura 5.1.** Espesores de la fovea central medidos con OCT en la visita basal en los ojos que posteriormente se inyectaron con CMN-MOs.

A modo de ejemplo, la Figura 5.2 muestra la distribución zonal de espesores proporcionados por el instrumento correspondientes a los pacientes #6 y #8, con espesor central normal (281  $\mu\text{m}$ , sombreado en verde) y anómalo (509  $\mu\text{m}$ , sombreado en rojo), respectivamente.



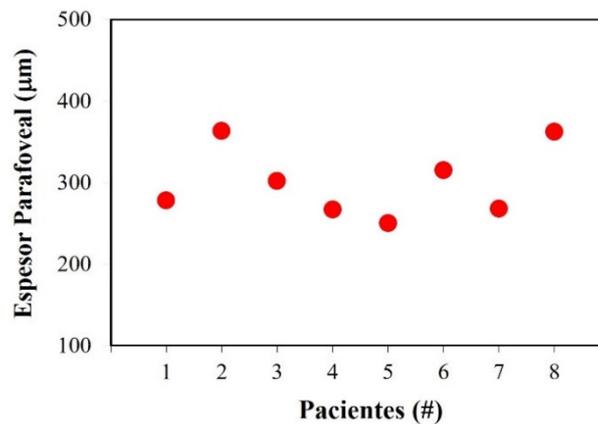
**Figura 5.2.** Distribución zonal de espesores medidos en la visita basal para los pacientes #6 (a) y #8 (b). El valor central es el representado en la gráfica de la Figura 5.1.

Así, 2 de los 8 ojos con RP están notablemente por encima del rango considerado como normal. Yendo un paso más allá y analizando las imágenes OCT, se pueden apreciar que dichos ojos presentan edemas centrales, como muestra el ejemplo la Figura 5.3b.



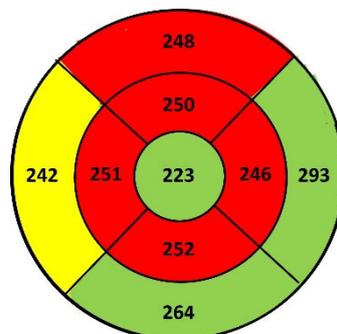
**Figura 5.3.** Imágenes OCT de dos pacientes (#6 (a); #8 (b)) involucrados en el estudio y registradas en la visita basal. Se puede apreciar un grosor normal en (a) y la presencia de un edema macular en (b).

De forma similar, en la Figura 5.4 se presentan los espesores parafoveales para los mismos ojos que en la Figura 5.1. Para esta zona, los valores se situaron en el rango entre 250 y 363  $\mu\text{m}$ , lo que implica que solamente 2 ojos se pueden considerar que están dentro de la “normalidad”, atendiendo al criterio ya citado.



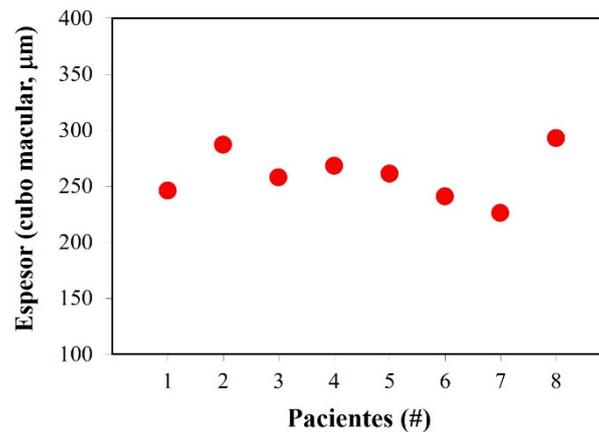
**Figura 5.4.** Valores de espesor parafoveal obtenidos en la visita basal en los ojos posteriormente inyectados de los 8 pacientes.

En el mapa zonal de espesores para el paciente #5 (Figura 5.5) se puede observar cómo el anillo de la zona parafoveal está marcado en rojo, lo que es indicativo de que el espesor retiniano en esa zona puede estar asociado a cierta patología. Sin embargo, la zona foveal central corresponde a un valor normal (color verde central).



**Figura 5.5.** Distribución zonal de espesores retinianos en el paciente #5 medidos en la visita basal. Mientras que la zona foveal central corresponde a valores normales, la parafoveal no.

Para completar la información recabada en la visita basal, en la Figura 5.6 se recogen los valores del “cubo macular” (véase el apartado 2.5.2) que integra una zona macular de 6x6 mm<sup>2</sup>. Es una zona de mayor extensión donde el valor obtenido tiene en cuenta tanto la zona central foveal como la periférica. Para los 8 pacientes con RP, los valores proporcionados por el propio *software* del instrumento están entre 226 y 293 μm. Teniendo en cuenta que una retina se considera normal si los espesores para este protocolo de medida están en la horquilla [265, 300] μm, esto implica que para este parámetro, sólo 3 ojos están en ese rango.

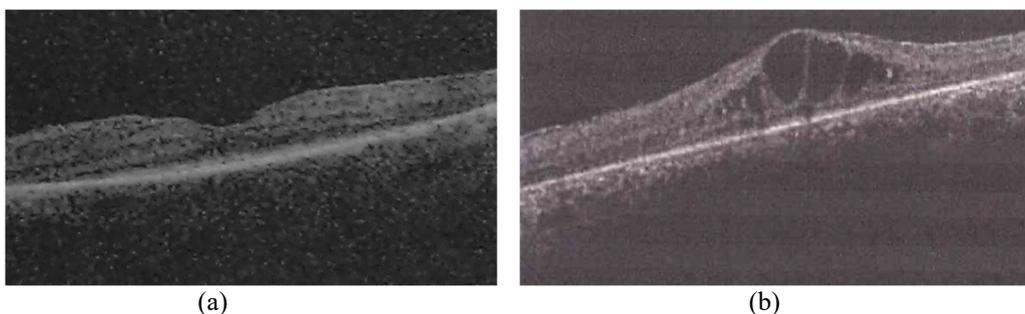


**Figura 5.6.** Valores de espesor en el cubo macular (i.e. parámetro “estándar”) en la visita basal, para todos los ojos de los 8 pacientes inyectados posteriormente.

## 5.2. Evolución del espesor foveal central tras la inyección

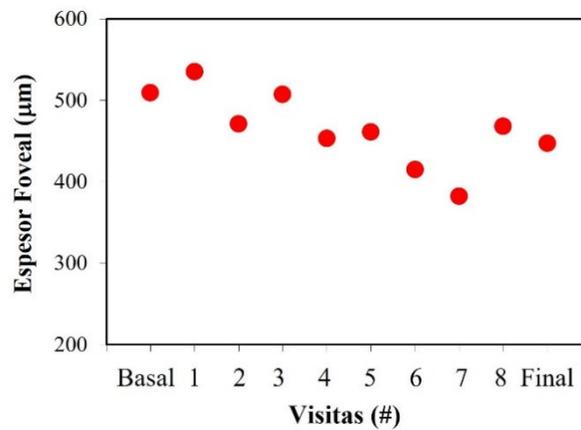
### 5.2.1. Espesor foveal central

Tras la inyección de CMN-MOs se registraron imágenes OCT en 9 visitas en los intervalos de tiempo ya descritos en el Capítulo 2. Las imágenes OCT correspondientes a la visita final tras el tratamiento en los mismos pacientes que se mostraron anteriormente se pueden observar en la Figura 5.7.



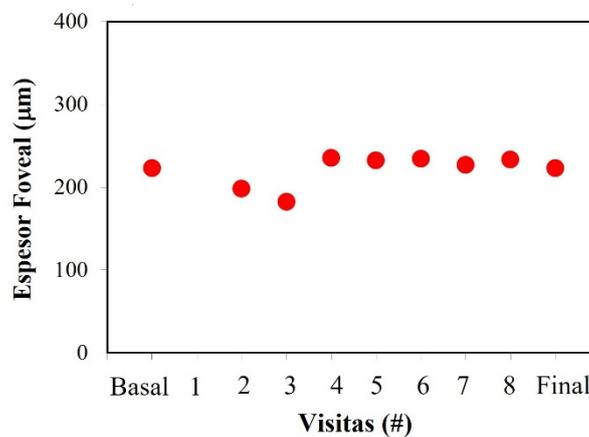
**Figura 5.7.** Imágenes OCT en los pacientes #6 (a) y #8 (b) registradas en la visita final. En (a) se puede apreciar que al año de la inyección, el grosor ha permanecido prácticamente constante (Figura 5.3a) y que en (b) persiste el edema macular, aunque se ha reducido de forma moderada con respecto a la visita basal (Figura 5.3b).

La evolución temporal del espesor foveal central en uno de los pacientes que presentaba edema macular (#8) se muestra en la Figura 5.8, donde se observa una disminución progresiva del edema. En particular se reduce de 509 a 447  $\mu\text{m}$ , lo que representa un 12%. A pesar de esto, el edema persiste claramente (véase la Figura 5.7b).



**Figura 5.8.** Evolución del espesor foveal central en el ojo inyectado de uno de los pacientes (#8) que sufre de RP y presenta edema macular en la visita basal.

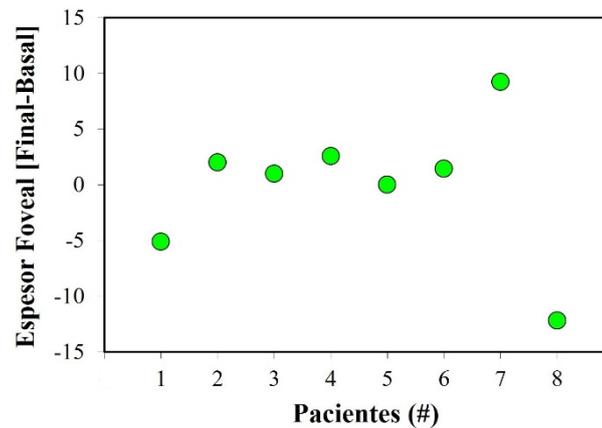
Por el contrario, en el paciente de la Figura 5.9 (#5) que mostraba valores normales en la visita basal, el espesor central prácticamente se mantiene constante durante el transcurso del año que dura el ensayo. Esto es importante puesto que la patología, al menos en términos de espesor foveal central, no ha empeorado durante ese periodo de tiempo.



**Figura 5.9.** Evolución temporal de los valores de espesor foveal central en el ojo inyectado con CMN-MOs del paciente #5.

Estos dos comportamientos son los que se han encontrado en todos los ojos inyectados salvo en uno de ellos (#7) donde ha aumentado de 325 a 355  $\mu\text{m}$  entre la visita basal y el final del ensayo. Al final del tratamiento 5 de los 8 ojos muestran valores de espesor foveal central dentro del rango considerado como normal. La Figura 5.10 agrupa, para todos los pacientes, los

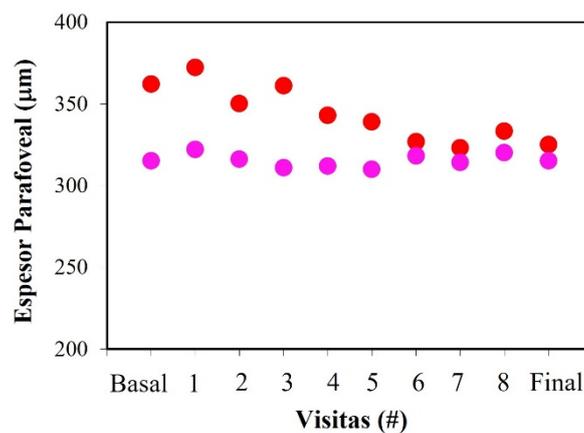
cambios en % de dicho espesor, cuando se comparan los obtenidos en la visita final con los de la basal. Los valores oscilan entre un -12 y un 9%.



**Figura 5.10.** Cambios en el espesor foveal central (en %) al finalizar el tratamiento con inyección de CMN-MOs comparados con los valores de la visita basal.

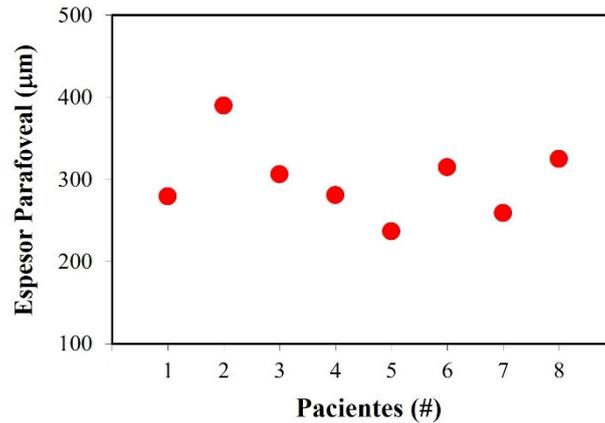
### 5.2.2. Espesor parafoveal

Como ejemplos representativos, en la Figura 5.11 se presenta la evolución del espesor parafoveal durante el tiempo que dura el ensayo en los ojos tratados de dos pacientes (#6 y #8). Mientras que en uno de los ojos el espesor se reduce (#8), en el otro se mantiene prácticamente constante (#6). Esto dos tipos de comportamiento son similares a los reportados en el apartado anterior para la fovea central.



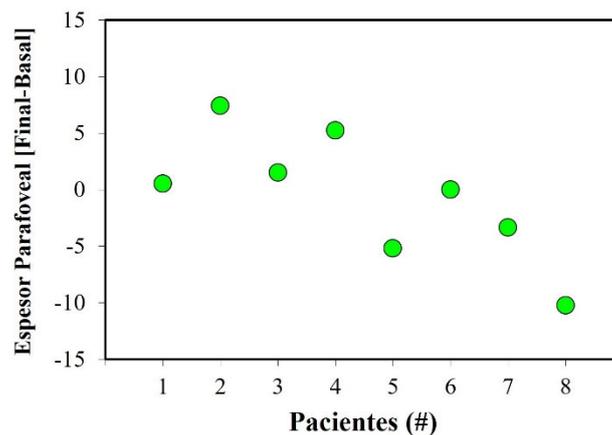
**Figura 5.11.** Evolución temporal entre las visitas basal y final del espesor parafoveal en el ojo inyectado de dos pacientes (#8, rojo; #6, magenta).

La Figura 5.12 presenta los valores individuales de espesor parafoveal de todos los pacientes medidos en la visita final. Tras el tratamiento, los espesores van desde un mínimo de 237  $\mu\text{m}$  hasta un máximo de 390  $\mu\text{m}$ . De los 8 ojos involucrados, solo 3 están en rango “normal” al año de haber recibido la inyección de CMN-MOs.



**Figura 5.12.** Espesores parafoveales medidos a partir de las imágenes OCT de la visita final en todos los pacientes.

Los cambios (en %) en los espesores parafoveales entre la visita final (Figura 5.12) y la basal (Figura 5.4) para los 8 ojos del estudio se han representado en la Figura 5.13. Los valores están en el rango entre un -10 y un 7%.



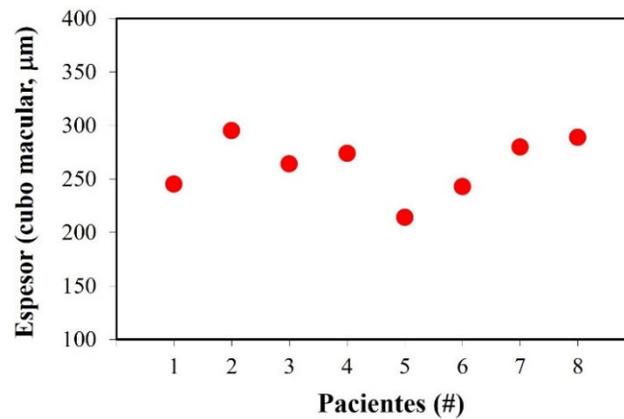
**Figura 5.13.** Cambios en el espesor parafoveal (en %) resultado de comparar los valores al finalizar el tratamiento y los obtenidos en la visita basal.

### 5.2.3. Espesor estándar (cubo macular)

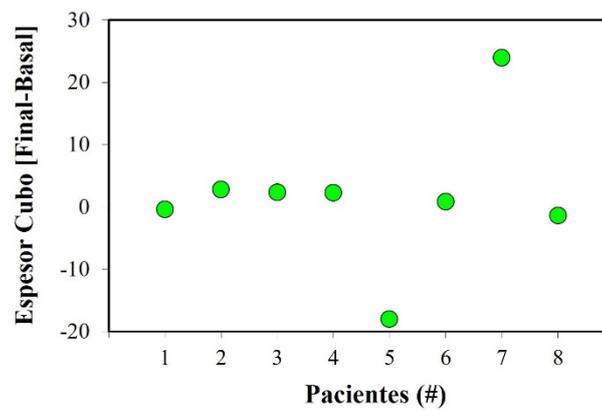
En la Figura 5.14 se muestran, para todos los ojos inyectados, el valor del espesor retiniano en el cubo macular en la visita final. Como cabe esperar, la evolución entre esta visita y la basal sigue las mismas tendencias que en dos apartados anteriores. Así, al acabar el ensayo, los espesores se sitúan en el rango entre 214 y 295 µm, con lo cual 5 de los 8 ojos inyectados se podrían considerar como normales utilizando este parámetro.

Las diferencias (en %) de estos espesores entre la visita final y la basal se presentan en la Figura 5.15 y se sitúan entre un -18 y un 24%. La gráfica muestra que en 6 de los 8 ojos (75%) el espesor retiniano estándar permanece prácticamente constante ( $\pm 5\%$ ) y en uno de ellos se reduce casi un 20%. Sin embargo, en uno de los pacientes (#7) hay un incremento que pasa de

226  $\mu\text{m}$  (inferior al mínimo considerado normal) a 280  $\mu\text{m}$  (dentro del intervalo de “normalidad”).

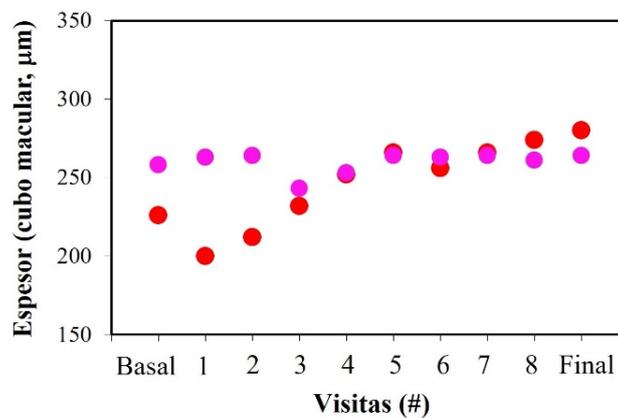


**Figura 5.14.** Espesores del cubo macular en la visita final para los ojos inyectados.



**Figura 5.15.** Cambios (en %) en el espesor estándar al comparar la visita final con la basal.

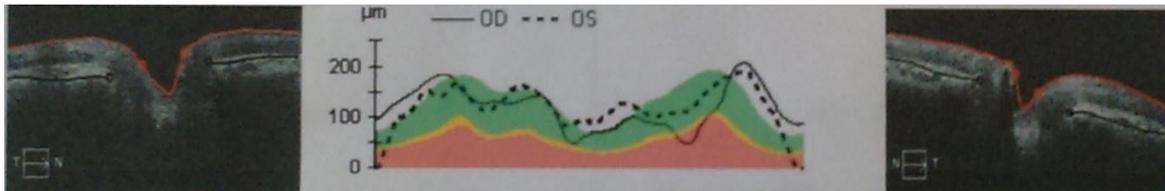
La evolución de este paciente #7 visita a visita se presenta en la Figura 5.16, junto con la de otro (#3) en el que el espesor se mantiene aproximadamente sin cambios entre las visitas basal y final.



**Figura 5.16.** Evolución temporal del espesor del cubo macular tras la inyección intravítrea de CMN-MOs en dos pacientes (#7, rojo; #3, magenta).

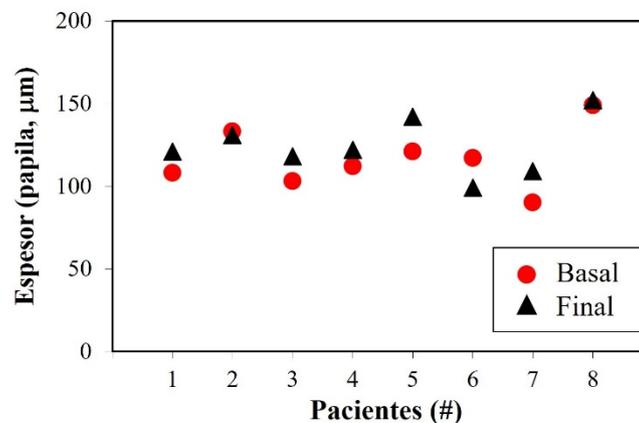
### 5.3. Evolución del espesor de la capa de fibras nerviosas en la papila

Como ejemplo, para uno de los pacientes con RP (#5), la Figura 5.17 presenta las imágenes OCT de la papila de ambos ojos correspondientes a la visita basal, junto con los perfiles de espesor de la capa de fibras nerviosas alrededor de dicha cabeza del nervio óptico (véase apartado 2.5.2). En este caso, el ojo que fue sometido a tratamiento y analizado en este trabajo fue el OD.



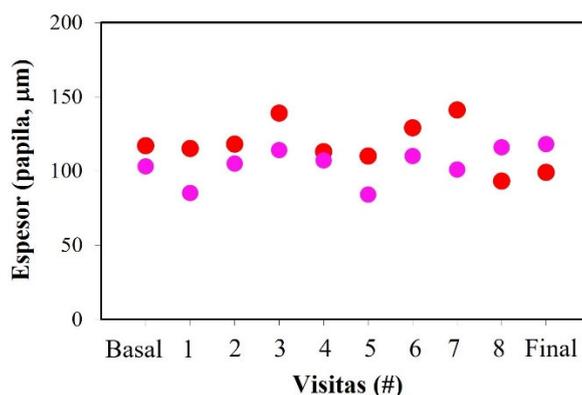
**Figura 5.17.** Imágenes OCT de la cabeza del nervio óptico del paciente #5. En la parte central se muestra el perfil de espesor retiniano en la zona peripapilar (véase Figura 2.20).

La Figura 5.18 muestra, para las visitas basal y final, el espesor de la capa de fibras nerviosas alrededor de la cabeza del nervio óptico en todos los ojos tratados con CMN-MOs. En la visita basal dichos espesores van desde 90 a 149  $\mu\text{m}$ . Teniendo en cuenta el rango considerado como normal desde el punto de vista clínico ( $[81, 110] \mu\text{m}$ ), la mitad de los ojos inyectados con CMN-MOs se sitúan dentro de estos valores.



**Figura 5.18.** Espesor de la capa de fibras nerviosas que rodean la papila medidos en la visita basal (círculos) y en la final (triángulos).

En lo que respecta a la visita final, los espesores estuvieron en el intervalo  $[99, 152] \mu\text{m}$ . Esta Figura 5.18 permite además una comparación directa de las dos visitas, lo que aporta información sobre el efecto de las CMN-MOs. Se puede observar que en todos los ojos menos en uno (#6) el espesor de la capa de fibras nerviosas aumenta o se mantiene. La evolución temporal de este sujeto #6 para cada visita, junto con la de otro representativo (#3) se pueden ver en la Figura 5.19. Mientras que en el primero (#6, símbolos rojos) el espesor se reduce de 117 a 99  $\mu\text{m}$ , en el segundo (#3, símbolos magenta) aumenta de 103 a 118  $\mu\text{m}$ .



**Figura 5.19.** Evolución temporal del espesor de la capa de fibras nerviosas peripapilares tras la inyección intravítrea de CMN-MOs en dos pacientes (#6, rojo; #3, magenta).

## 5.4. Discusión

A día de hoy la OCT es una de las herramientas más potentes utilizadas en la práctica clínica. Desde su invención en 1991 [Huang, 1991] sus aplicaciones no han hecho más que crecer, puesto que la mejora en la calidad de las imágenes que proporciona ha llevado a un aumento de la resolución a pasos agigantados. La facilidad para interpretar las imágenes OCT y la información útil que se obtiene de ellas han cambiado las estrategias de diagnóstico usadas por los oftalmólogos. Las medidas morfológicas no invasivas de la zona macular y en particular la posibilidad de medir espesores retinianos hace que esta técnica sea de gran utilidad en el diagnóstico en pacientes con distintos tipos de patologías retiniana y en especial en aquellos que padecen RP [Mitamura, 2012].

Con la RP tiene lugar una muerte progresiva de fotorreceptores que llevaría a un adelgazamiento de la retina que puede medirse con OCT. Sin embargo, esta apoptosis puede que no produzca ninguna alteración en la zona macular o por el contrario que no llegue a producir un edema o incluso atrofia macular [Lupo, 2011]. Algunos estudios han reportado que entre el 10% y el 20% de los pacientes con RP sufren edema macular [Fishman, 1977a; Fishman, 1977b]. Aunque la presencia de este edema va asociada a una reducción en la AV, su tratamiento y posible resolución no siempre trae consigo un incremento en la AV [Sandberg, 2008]. La localización predominante de este tipo de edemas es la capa nuclear interna de la zona parafoveal [Yeo, 2020].

En nuestra muestra de 8 pacientes, 2 de ellos presentan edema macular (#2 y #8), no sólo en el ojo tratado con CMN-MOs sino también en el contralateral (no incluido en este estudio clínico). Estos ojos tienen los valores de AV más bajos encontrados (0.13 -véase los resultados de AV del Capítulo 3-).

Gran variedad de estudios se han centrado en analizar la morfología de la retina en ojos con RP utilizando OCT y relacionándolo con diferentes parámetros visuales. Sin embargo, no todos son coincidentes. Sandberg *et al.* relacionaron tanto la reducción de espesor (debido a la pérdida de células) como el aumento (debido a la presencia de edema) en pacientes con RP con baja AV [Sandberg, 2005]. Por su parte, Witkin y colaboradores también reportan una reducción en el espesor de la capa de fotorreceptores en retinas con RP [Witkin, 2006], pero no encontraron diferencias significativas entre el espesor foveal central en pacientes normales y con RP, aunque sí una relación moderada entre este parámetro y la AV. Algunos autores han propuesto incluso el espesor macular (lo que en este trabajo hemos denominado espesor estándar) como un método objetivo de diagnóstico de RP [Tamaki, 2011].

Por otra parte, en pacientes con RP y AVs mayores de 0.5 se encontró que el espesor foveal central está relacionado de forma significativa con la SC y con la visión del color [Yioti, 2012]. Sin embargo, otros autores no encontraron ninguna relación entre los parámetros medidos a partir de imágenes OCT y la AV [Oishi, 2012]. Teniendo en cuenta los valores de AVs basales mostrados en el Capítulo 3 y representándolos frente a los espesores foveales de la Figura 5.1, no se ha encontrado ninguna relación significativa entre ambos.

En pacientes con RP, las deficiencias o pérdidas en la integridad/continuidad de la capa de fotorreceptores que visualiza la OCT y las reducciones en el espesor retiniano se correlacionaron con la AV obtenida con la mejor corrección [Matsuo, 2007] y con la progresión de la patología [Hood, 2011a; Mitamura, 2012]. Cuando la retina con RP conserva intacta la zona central pero no la periférica se producen disrupciones en diferentes capas de la retina que van de la fovea hacia el área parafoveal [Hood, 2011b]. Por todo ello, el uso de la OCT junto con otras pruebas clínicas (oftalmológicas y/o optométricas) es fundamental para el diagnóstico del avance (o no) de la RP.

Entre los pacientes del presente estudio, solamente dos de ellos presentan valores considerados normales, tanto en la fovea central como en la parafoveal en la visita basal (Figuras 5.1 y 5.4). El número sube a tres si tenemos en cuenta el valor del cubo macular, aunque es de interés destacar que todos los demás ojos tienen un espesor por debajo de la normalidad. Esto está en línea con los resultados de la literatura citados arriba, pues con RP la retina puede, bien presentar edema, bien ver reducido su espesor por pérdida celular.

En cuanto a la capa de fibras nerviosas de la cabeza del nervio óptico, 4 de los 8 ojos están por encima del intervalo considerado normal. Este dato es también coherente con lo reportado por Anastasakis *et al.* que encontró que con RP el espesor de la capa de fibras peripapilares puede ser más grueso, menos o permanecer igual que en una retina sana [Anastasakis, 2012].

Por otra parte, tras la inyección de CMN-MOs, hemos de analizar sus posibles efectos en términos de espesor retiniano medido con OCT. Entre la visita basal y la final, la fovea central de todos los ojos básicamente mantiene su grosor o se reduce (salvo en el paciente #7 donde hay un aumento del 9%). La reducción corresponde a uno de los pacientes con edema, en el que a pesar de reducirse en un 12%, está aún lejos de desaparecer (véase Figura 5.7b). Para el espesor parafoveal, el comportamiento es similar. Aunque al final del ensayo algunos espesores se siguen considerando como patológicos, estos resultados muestran el beneficio que aporta el uso de la inyección intravítrea en términos de ralentizar/frenar (al menos durante 1 año) la disminución de espesor retiniano como consecuencia de la pérdida de fotorreceptores.

Hay que indicar que desde el punto de vista oftalmológico la disminución del edema es beneficiosa, pero también en algunos casos el aumento del grosor retiniano sin llegar a producir edema lo puede ser.

En un ensayo clínico en fase 1 realizado en 5 pacientes (3 de ellos con RP y sin edema) se utilizaron imágenes OCT registradas a intervalos temporales de 1, 7, 13, 18, 22 y 40 semanas tras una única inyección de CMN-MOs [Siqueira, 2011b]. El parámetro usado fue el espesor macular central proporcionado por el propio instrumento (OCT Stratus Model 3000; Carl Zeiss), calculado como un promedio en una zona circular de 1 mm de diámetro centrada en la foveola. Los valores estuvieron en el rango [51, 169]  $\mu\text{m}$  (variabilidad inter-individual elevada) y no se observaron cambios significativos durante todo ese tiempo. Los autores afirmaron que quizás este parámetro no sea lo suficientemente preciso para el corto tiempo que duró el estudio. El ensayo clínico de nuestro trabajo ha durado un año y los resultados obtenidos en los pacientes sin edema son comparables a los reportados por Siqueira y colaboradores.

Los autores realizaron otro ensayo posteriormente (fase 2) en el que estudiaron el caso de un paciente con RP y edema macular [Siqueira, 2013]. El edema había comenzado 2 años antes y a pesar del tratamiento estándar usado, el paciente no había tenido ningún signo de mejora. La inyección con CMN-MOs consiguió resolver el edema completamente a la semana (el espesor foveal medido con OCT se redujo de 335 a 246  $\mu\text{m}$ ) y el resultado se mantuvo durante un mes. Este resultado difiere de lo obtenido aquí, donde en un paciente se reduce el espesor y en el otro permanece prácticamente estable. Si bien es cierto, que los datos numéricos no son directamente comparables, hay que tener en cuenta que los grosores iniciales de los edemas del presente trabajo eran mucho mayores, 448 y 509  $\mu\text{m}$ , y el del citado, 335  $\mu\text{m}$ .

En el estudio de Satarian *et al.* en 3 pacientes con RP avanzada, las OCTs (Spectralis, Heidelberg Engineering) tras la inyección células madre mesenquimales se tomaron a los 3, 6

y 12 meses. Midieron los espesores de la zona macular y peripapilar, además del espesor coroideo sub-foveal [Satarian, 2017]. En la visita basal, la OCT mostró un adelgazamiento severo de la zona central de la mácula, pérdida de fotorreceptores, atrofia de la retina externa y una notable reducción tanto del espesor de las fibras nerviosas que rodean la papila como del grosor coroideo central. El análisis de las imágenes OCT tomadas en los tiempos marcados tras el tratamiento no se observaron cambios en los espesores en ninguna de las zonas de interés. Un resultado similar se ha reportado en un ensayo más reciente [Siquiera, 2021].

En este punto es interesante destacar que usando el parámetro clínico definido como espesor estándar o cubo macular el diagnóstico es más prometedor: en 6 de los 8 ojos estudiados, las CMN-MOs hacen que el grosor de la retina permanezca básicamente estable. Sin embargo, esta Tesis Doctoral no tiene como objetivo encontrar el mejor parámetro para demostrar que la técnica funciona sino, analizar los resultados de forma objetiva para arrojar un poco más de luz sobre la técnica y su posible aplicabilidad. Teniendo en cuenta que la RP lleva a una reducción progresiva del espesor retiniano y que en nuestros pacientes no ha habido un empeoramiento sistemático durante el tiempo que ha durado el ensayo, esto da muestras del posible éxito de la técnica.

El análisis de los resultados de la capa de fibras nerviosas peripapilares conduce a una conclusión similar. Sin embargo, como ya se ha apuntado anteriormente la escasez de publicaciones con este tipo de ensayos (o similares) limita las comparaciones y discusiones, que de otra forma podrían ser más extensas y críticas.

---

# CAPÍTULO 6

---

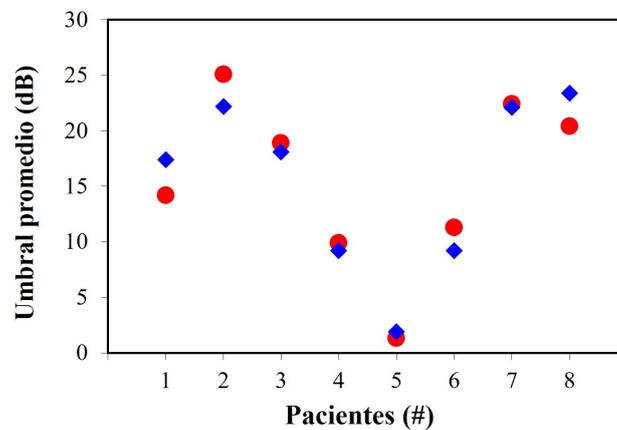
## Resultados IV. Microperimetría

En este último bloque de resultados se presentan los que corresponden a las medidas de microperimetría (i.e., sensibilidad retiniana en la zona macular). Se comienza con los datos basales obtenidos en la primera visita para, a continuación, analizar los cambios que se producen tras la inyección de CMN-MOs, durante el periodo que dura el estudio. Estas variaciones de sensibilidad macular se medirán en términos de los 3 parámetros ya definidos en el Capítulo 2: el umbral retiniano o umbral promedio (AT, *Averaged Threshold*), la integridad macular (MI, *Macular Integrity*) y la estabilidad en la fijación (FS, *Fixation Stability*). Para AT, los valores considerados normales están entre 36 y 28 dB, los sospechosos entre 27 y 26 dB, y los patológicos entre 25 y 0 dB. En el caso de la MI, los rangos son respectivamente [0, 40], [41, 60] y [61, 100] %. En la FS, se considera normal o estable un valor P1 entre 100 y 75%, sospechoso patológico si P1 es menor del 75% y P2 es mayor del 75% y valor anormal o inestable cuando P2 es menor al 75%.

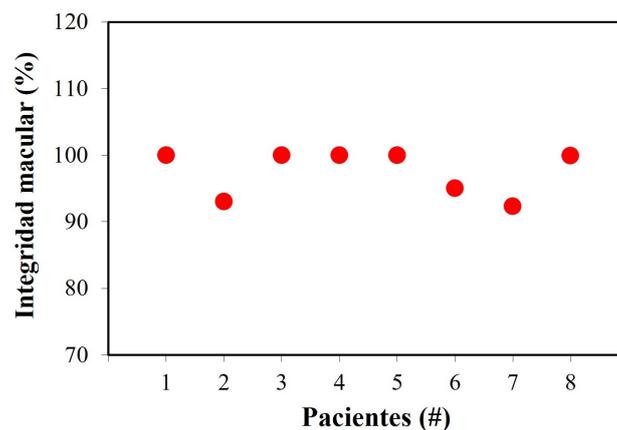
*(Esta página se ha dejado intencionadamente en blanco)*

## 6.1. Microperimetría en la visita basal

La Figura 6.1 muestra los valores individuales de umbral retiniano de todos los pacientes medidos en la visita basal. Aunque ya se dicho en repetidas ocasiones que los ojos que recibieron placebo no fueron objeto de este ensayo clínico, aquí se han representado ambos ojos de cada paciente: los que serán posteriormente inyectados con CMN-MOs (en rojo) y aquellos que llevarán placebo (en azul). No se han encontrado diferencias significativas entre ojos contralaterales, lo cual deja constancia de que una posible mejora tras la inyección no dependerá de que se inyecte un ojo u otro. Aunque existe cierta variabilidad entre los sujetos (valores entre 1.3 y 25.1 dB), en esta visita basal todos los valores umbral están en el rango considerado como patológico y por tanto tienen afectada la sensibilidad retiniana en la zona macular por estar afectados de RP.



**Figura 6.1.** Valores de umbral retiniano en ambos ojos de todos los pacientes involucrados en el estudio. Los símbolos rojos corresponden a los ojos que posteriormente se inyectaron con CMN-MOs y los azules a los que recibieron placebo.

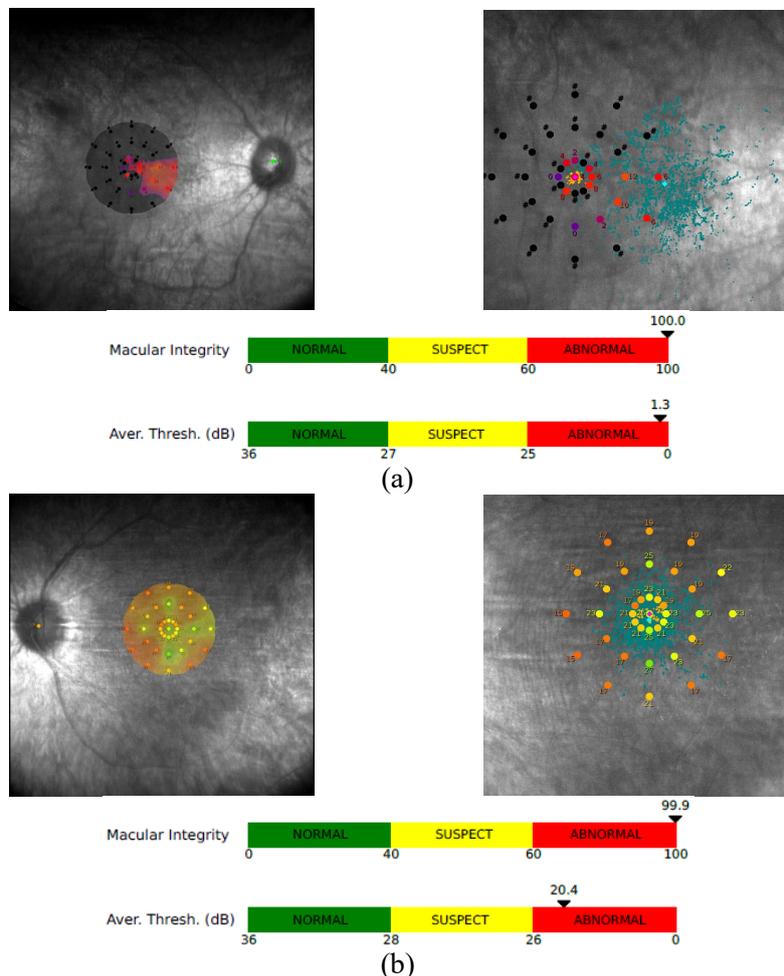


**Figura 6.2.** Valores de integridad macular en la visita basal para los 8 ojos que serán tratados con CMN-MOs.

Los valores de integridad macular para la visita basal están representados en la Figura 6.2. Solamente se presentan los ojos que forman parte del estudio, porque los contralaterales

tuvieron un comportamiento similar, sin diferencias significativas. La variabilidad para este parámetro es menor que para el umbral, pues los valores están entre el 92 y el 100%. Este rango es de nuevo patológico, hecho coherente con lo expuesto en la figura anterior para el umbral retiniano, es decir, todos los ojos incluidos en el estudio tienen alterada la sensibilidad retiniana en la zona macular.

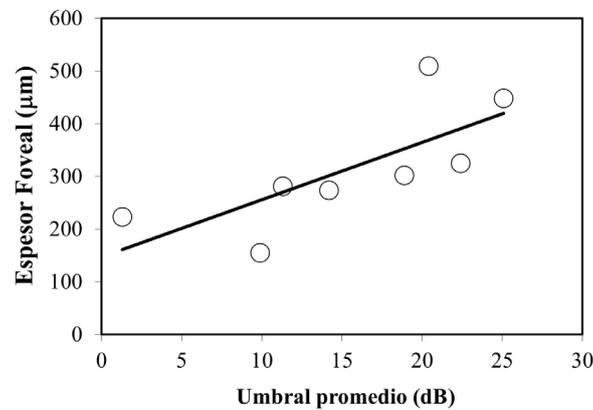
Dos ejemplos representativos de mapas de sensibilidad se presentan en la Figura 6.3. Mientras que uno de ellos tiene un umbral de 1.3 dB (paciente #5) en el otro el valor es de 20.4 dB (paciente #8), siendo ambos patológicos. La diferencia entre dichos valores también se puede observar de forma cualitativa en los colores de la distribución de puntos. Para una mejor comparación, se han incorporados las escalas de colores tanto para el umbral de sensibilidad, como para la integridad macular.



**Figura 6.3.** Imágenes de fondo de ojo y mapas de sensibilidad retiniana (superpuestos), registrados en la visita basal, en dos ojos de pacientes con RP, #5 (a) y #8 (b). Debajo de cada par de imágenes se han incluido las escalas de color para el índice de integridad macular (escala superior) y para el umbral de sensibilidad (escala inferior).

En la Figura 6.4 se muestra la relación entre el umbral de sensibilidad retiniana y el espesor foveal central medido con OCT en la visita basal (Capítulo 5). Se ha encontrado una

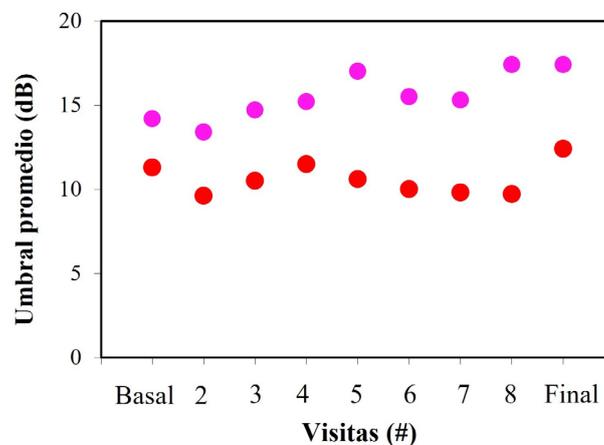
correlación lineal significativa entre ambos parámetros ( $R=0.74$ ,  $p=0.01$ ), que también existe para el espesor parafoveal ( $R=0.66$ ,  $p=0.04$ ). Por el contrario, la AV de los pacientes en esta visita basal no está correlacionada con la sensibilidad.



**Figura 6.4.** Valor del espesor foveal central (EF) medido con OCT, en función del umbral de sensibilidad retiniana (AT) para todos los ojos que serán inyectados. La línea corresponde al mejor ajuste lineal ( $EF=10.86*AT+146.74$ ).

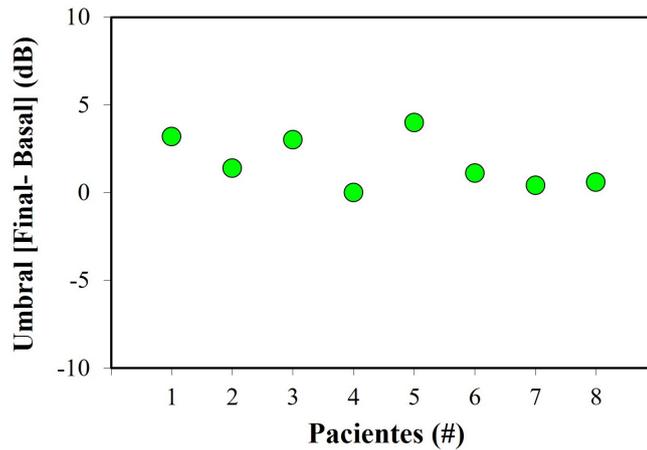
## 6.2. Evolución de la microperimetría tras la inyección

Tanto el umbral de sensibilidad como la integridad macular se midieron en las visitas sucesivas que se realizaron tras la basal. Los intervalos temporales se pueden consultar en la Tabla 2.2. La Figura 6.5 presenta, para dos pacientes, los valores individuales de umbral retiniano de sensibilidad en las diferentes visitas. Aunque se han escogido dos pacientes al azar el comportamiento a lo largo del tiempo que dura el tratamiento es similar: en unos ojos la sensibilidad mejora ligeramente, mientras que en otros se mantiene estable. Es de interés destacar que esta prueba es muy exigente para este tipo de pacientes, por lo que la mejoría no puede ser debida a un efecto de aprendizaje.



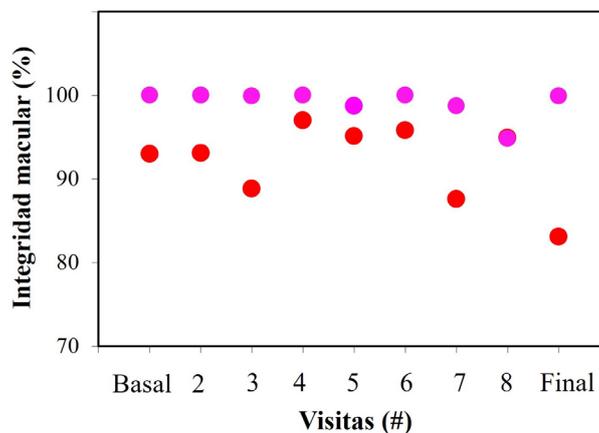
**Figura 6.5.** Evolución temporal del umbral retiniano de sensibilidad en los ojos inyectados de dos pacientes (#1, rojo; #6, magenta). Como referencia también se han incluido los valores de la visita basal (Figura 6.1).

La Figura 6.6 agrupa las diferencias en el umbral de sensibilidad retiniana entre la visita final y la basal para los ojos de todos los pacientes del estudio que recibieron las CMN-MOs. Estas diferencias oscilan entre 0 (se mantiene estable) y 4 dB (incremento de la sensibilidad). Como cabría esperar, a pesar de que en algunos ojos se ha encontrado cierta mejora en el umbral de sensibilidad, los valores siguen estando en la zona patológica (salvo en el paciente #2 donde el umbral final fue 26.5 dB, que se sitúa en el rango de sospechoso patológico).

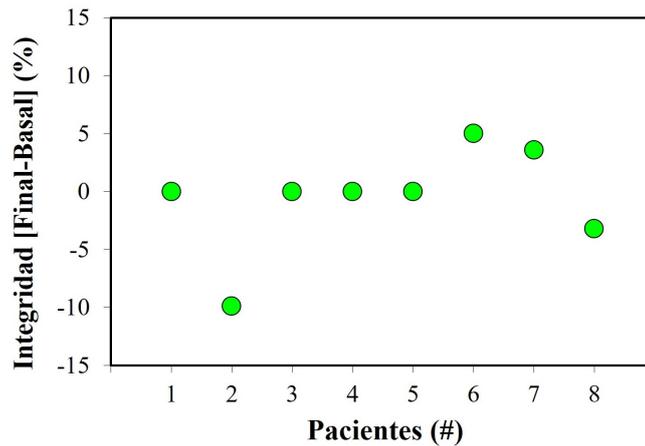


**Figura 6.6.** Diferencias en los valores de umbral de sensibilidad retiniana entre la visita final y la basal para todos los ojos inyectados con CMN-MOs.

Las medidas de integridad macular se realizaron en los mismos intervalos de tiempo. La evolución de dicho parámetro para dos de los ojos tratados se ha representado en la Figura 6.7. De nuevo el comportamiento vuelve a ser similar al encontrado para el umbral de sensibilidad. Mientras que en algunos ojos se mantiene, en otros aparece una mejora moderada de hasta un 10% (es decir, disminuye el valor patológico de la integridad macular). Estas diferencias en los valores de integridad macular entre la visita final y la basal para todos los pacientes del estudio se muestran en la Figura 6.8.

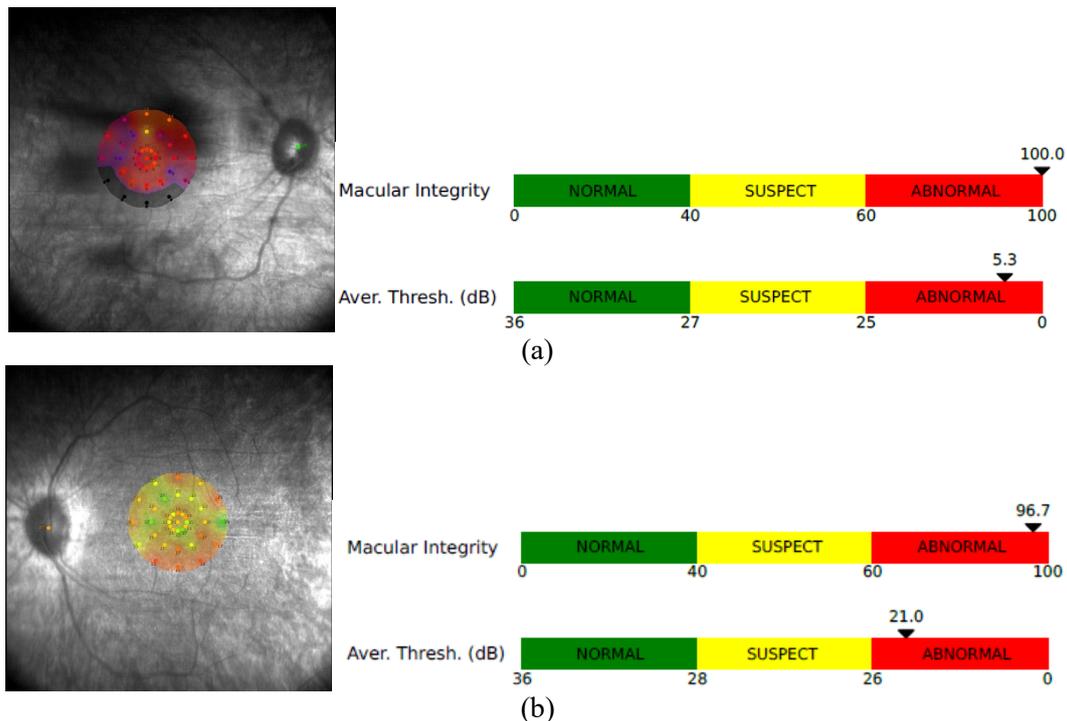


**Figura 6.7.** Ejemplos representativos de la evolución de la integridad macular en dos ojos tratados con CMN-MOs (#2, rojo y #3, magenta).



**Figura 6.8.** Diferencias (%) en los valores de integridad macular entre la visita final y la basal para todos los ojos inyectados con CMN-MOs.

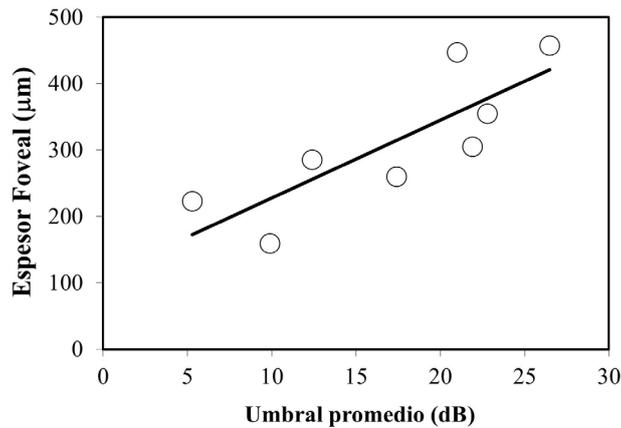
Ejemplos de mapas de sensibilidad retiniana en la visita final para los mismos pacientes que en la Figura 6.3 se presentan en la Figura 6.9 (junto con las escalas de colores). Una comparación directa entre ambas figuras permite observar cómo en el paciente #5 (Figura 6.9a) ha mejorado dicha sensibilidad, mientras que en el paciente #8 (Figura 6.9b) ambos mapas (final vs. basal) son similares.



**Figura 6.9.** Mapas de sensibilidad retiniana correspondientes a la visita final en dos ojos de pacientes con RP, #5 (a) y #8 (b). A la derecha de cada mapa se presenta las escalas de color para la integridad macular (escala superior) y para el umbral de sensibilidad (escala inferior).

En la vista final tras un año de la inyección, la correlación lineal entre el umbral de sensibilidad retiniana y los espesores tanto central como parafoveal siguen existiendo ( $p=0.003$  y  $0.04$ , respectivamente). En la Figura 6.10 se ha representado la primera de ellas.

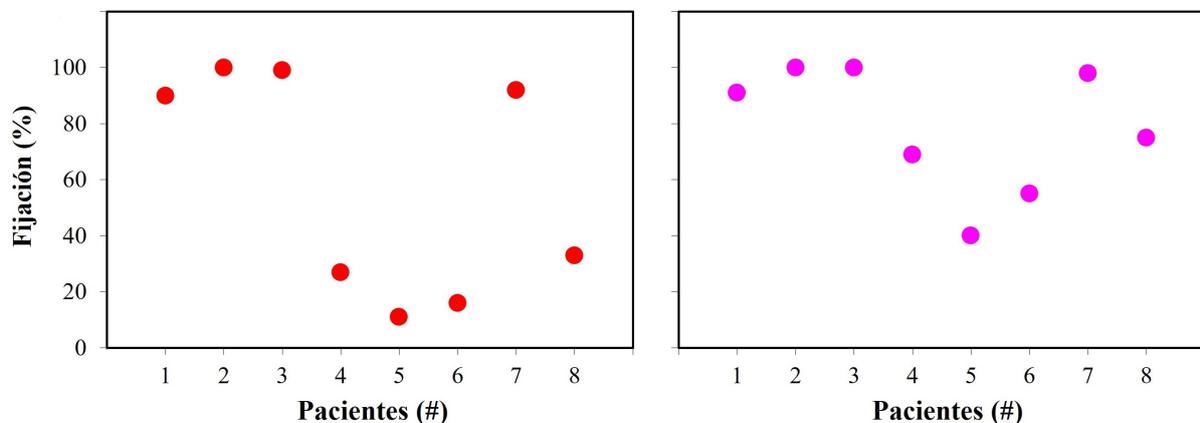
Al igual que en la visita basal, al finalizar el tratamiento tampoco se encontró una correlación entre la AV y la sensibilidad.



**Figura 6.10.** Correlación lineal entre el espesor foveal central (EF) y el umbral de sensibilidad retiniana (AT) en la visita final. La línea corresponde al mejor ajuste lineal ( $EF=11.72*AT+110.35$ ;  $R=0.82$ ).

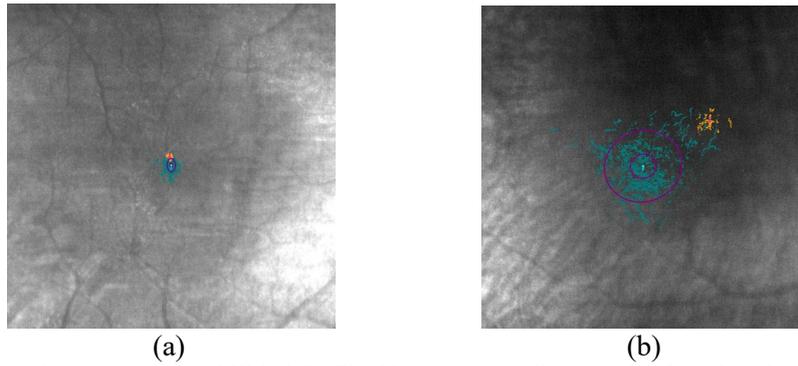
### 6.3. Evolución de la estabilidad de fijación

En la Figura 6.11 se han representado los valores de fijación P1 y P2 registrados en la visita basal. Teniendo en cuenta los criterios ya citados, solamente la mitad de los ojos presentan una fijación estable: #1, #2 #3 y #7.



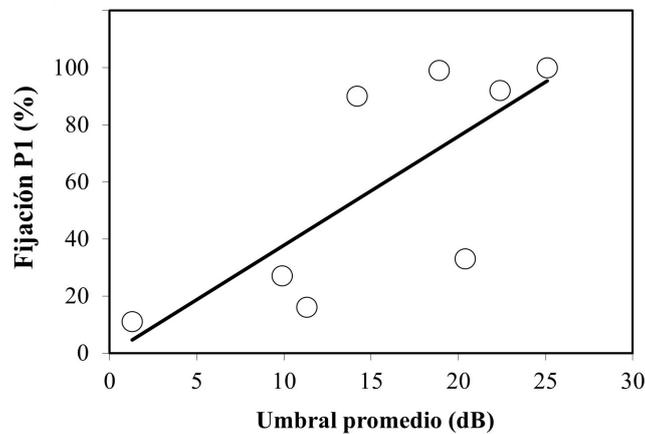
**Figura 6.11.** Valores de estabilidad de fijación en la visita basal para las zonas P1 (símbolos rojos) y P2 (magenta) en los ojos de todos los pacientes que serían posteriormente inyectados con CMN-MOs.

Los mapas de fijación (spots coloreados sobre la imagen del fondo del ojo) registrados en la visita basal para dos de los ojos del estudio se presentan en la Figura 6.12. A pesar de que ambos ojos sufren RP, en uno de ellos la fijación es estable (#2), mientras que claramente no lo es en el otro (#4).



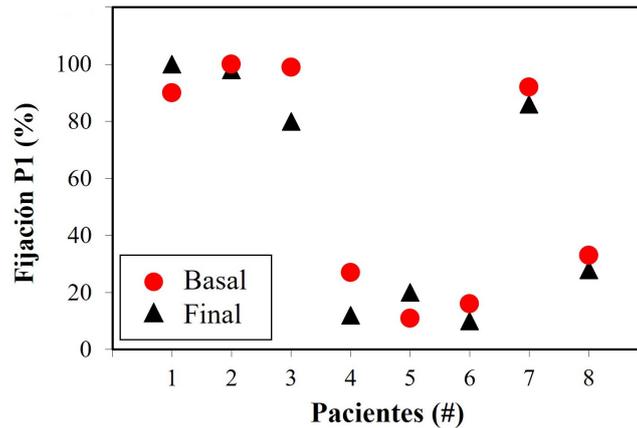
**Figura 6.12.** Mapas de estabilidad de fijación correspondientes a la visita basal en dos ojos de pacientes con RP. (a) Fijación estable (#2); (b) fijación inestable (#4).

La estabilidad en la fijación está directamente relacionada con la sensibilidad retiniana como se puede ver en la Figura 6.13, la cual muestra la correlación lineal ( $R=0.75$ ,  $p=0.03$ ) que existe en el caso de P1.



**Figura 6.13.** Estabilidad en la fijación (FS) en función del umbral de sensibilidad retiniana (AT) en la visita basal. La línea corresponde al mejor ajuste lineal a los datos ( $FS=3.81*AT-0.37$ ).

Para las visitas basal (círculos rojos) y final (triángulos negros), la Figura 6.14 muestra la estabilidad de fijación P1 en todos los ojos tratados con CMN-MOs. El comportamiento al acabar el ensayo varía entre los diferentes pacientes. A pesar de que en 5 ojos el parámetro disminuye, en 2 aumenta y en el restante queda similar. Sin embargo hay que destacar que la inyección de CMN-MOs es capaz de mantener en el rango normal los ojos que ya lo eran en la visita basal, lo cual podría atribuirse a un resultado beneficioso en la estabilización de la porgresión de la enfermedad al menos en ese rango temporal.



**Figura 6.14.** Comparación de estabilidad en la fijación (P1) entre la visita final y la basal para todos los ojos inyectados con CMN-MOs. Los datos de la visita basal (círculos rojos) son los mismos que en la Figura 6.11.

Finalmente añadir que, al igual que en la visita basal, en esta visita final también existe una relación lineal y estadísticamente significativa entre este parámetro y el umbral de sensibilidad retiniana ( $R=0.74$ ,  $p=0.03$ ).

## 6.4. Discusión

Puesto que, en pacientes con RP, la AV solamente se deteriora en estadios avanzados, el uso de técnicas alternativas es de gran utilidad en el análisis de la progresión de la patología [Buckley, 2021]. Así, la sensibilidad retiniana es mejor indicador de la calidad de la función macular que la AV, puesto que aporta información que corresponde a una zona retiniana de mayor extensión que la que se usa en la medida de la AV [Mitamura, 2012]. Es por ello que la microperimetría se convierte en una herramienta útil para este tipo de diagnósticos. La técnica nace de la necesidad de obtener una campimetría centrada en la zona foveal, aspecto clave en pacientes con patologías retinianas con afectación de la mácula en los que esté alterada la fijación foveal o ésta sea inestable. Esto permite realizar pruebas más precisas en pacientes con escotomas centrales debido a que se compensan los movimientos oculares permitiendo la posición correcta de la retina aun perdiendo la fijación [Timberlake, 1982].

Iftikhar *et al.* evaluaron durante un periodo de 1-4 años la progresión de la RP en un total de 75 ojos (de 39 pacientes). Todos los parámetros asociados a la sensibilidad retiniana disminuyeron de forma significativa, incluso en los casos en los que la AV permaneció estable [Iftikhar, 2018]. Reportaron una reducción de 0.6 dB/año en la zona macular central, pero no hubo cambios en la AV ni en la estabilidad de fijación durante el periodo analizado. Estos resultados fueron corroborados por el mismo grupo en un estudio retrospectivo con un número más elevado de ojos (205 de 106 pacientes) [Iftikhar, 2019]. Los valores de

sensibilidad estuvieron en el rango [0.1, 16.3] dB y además encontraron una reducción anual de la sensibilidad de entre 0.3 y 0.7 dB dependiendo de la zona de la retina analizada.

En el presente trabajo se ha utilizado el instrumento comercial MAIA, cuyas medidas han demostrado tener una alta repetitividad en este tipo de pacientes [Buckley, 2020]. En nuestros pacientes, los valores de sensibilidad en la visita basal fueron siempre patológicos y un poco por encima (entre 1.3 y 25.1 dB; Figura 6.1) de los reportados por Iftikhar *et al.* [Iftikhar, 2019]. Sin embargo, hemos de tener en cuenta que el instrumento empleado no fue el mismo (Nidek MP-1, Nidek Technologies) que el usado aquí. Utilizando también el microperímetro Nidek MP-1 en 118 ojos de 59 pacientes con RP, Lupo *et al.* mostraron valores entre 10.2 y 19.3 dB cuando restringieron las medidas a una zona central macular de 4° [Lupo, 2011].

Además, a diferencia de lo encontrado por algunos autores [Iftikhar, 2018], nuestro estudio no muestra correlación alguna entre el umbral de sensibilidad y la AV. Quizás una de las razones sea el tamaño reducido de muestra (N=8, comparado con N=106). Por el contrario, la sensibilidad retiniana sí estuvo correlacionada con el espesor tanto foveal ( $p=0.01$ ; Figura 6.4) como con el parafoveal ( $p=0.04$ ), hecho que es coherente con resultados publicados previamente [Lenassi, 2012; Mitamura, 2012].

El MAIA también proporciona con una escala en %, el parámetro definido como integridad macular, que básicamente informa sobre cómo es el resultado para un ojo determinado está fuera de la “normalidad” (comparado con la base de datos interna de la que dispone el propio instrumento clínico). Aunque este valor es similar al *mean defect* del Nidek MP-1, no se ha encontrado literatura que muestre los correspondientes valores en pacientes con RP ni con ese instrumento ni con el usado aquí. Como es de esperar, en los ojos afectados de RP y por tanto patológicas involucrados en el presente ensayo los valores fueron elevados (entre el 92 y el 100%; Figura 6.2) y muy lejos de la normalidad.

Conviene hacer hincapié que, en nuestra muestra de 8 pacientes, aun siendo todos ojos muy patológicos, la mitad de ellos tiene una estabilidad de fijación normal ( $P1>75\%$ ), mientras que en el resto la fijación es claramente inestable ( $P2<25\%$ ). De hecho, merece la pena observar la similitud de los mapas de la Figura 6.12a (ojo con RP) y de la Figura 2.24 (ojo sano).

Tras la inyección de CMN-MOs se midió la sensibilidad retiniana en varias visitas hasta el año. Es interesante destacar que durante ese periodo no hubo reducción del umbral de sensibilidad, sino que en 3 ojos se mantuvo y en los otros 5 aumentó (hasta 4 dB en uno de ellos). Los cambios en la integridad macular y en la estabilidad en la fijación no son tan evidentes, algo que es esperable, dado que ambos son parámetros relacionados con la

afectación de los enfermos de RP. Sin embargo, teniendo en cuenta que en la literatura se han reportado reducciones en la sensibilidad de hasta 0.7 dB/año [Iftikhar, 2019], nuestro resultado muestra el posible beneficio de este tipo de tratamiento en pacientes con RP en estadios muy avanzados.

Además, puesto que la microperimetría es capaz de detectar pequeños cambios en la sensibilidad retiniana a lo largo del tiempo, ésta es una herramienta útil para diagnosticar y analizar la progresión de la RP.

Hasta donde la autora de esta Tesis Doctoral sabe, estudios con CMN-MOs que incluyan este tipo de medidas escasean. Solamente en la fase 2 del ensayo clínico de Siqueira *et al.* se midió la sensibilidad retiniana en un caso de RP con edema macular cistoide a la semana de inyectar las células madre [Siqueira, 2013]. Los autores encontraron un aumento de 12.5 a 17.4 dB en el umbral de sensibilidad retiniana de dicho paciente. Este valor es similar a la cota superior (4 dB) de cambios en la sensibilidad encontrada en los pacientes de nuestro estudio. Mehat *et al.* también usaron células madre humanas en 12 pacientes afectados de Stargardt, pero en ese caso fueron embrionarias y derivadas del epitelio pigmentario de la retina [Mehat, 2018]. Ellos no observaron ninguna mejora en la sensibilidad retiniana un año después del trasplante.

---

# CAPÍTULO

# 7

---

## Conclusiones

En este último capítulo se recoge un resumen de los resultados así como las conclusiones de esta Tesis Doctoral, teniendo como base los resultados del ensayo clínico en fase I con CMN-MOs en pacientes que sufren RP en estado avanzado. Los resultados más significativos son los siguientes:

- Existe gran variabilidad inter-individual en los valores de refracción ocular, pero al finalizar el tratamiento son similares a los inicialmente medidos antes de comenzar el ensayo clínico.
- Los valores de PIO de la visita final no se diferencian significativamente de los registrados en la visita basal y todos se consideran dentro de la normalidad.
- En nuestra muestra de pacientes la AV-LSC se sitúa entre 0.13 y 0.29, valores asociados a RP en un estadio avanzado. Al finalizar el ensayo dicha AV aumentó en 5 ojos y se mantuvo estable en los 3 restantes. Estos datos sugieren que tras un año de tratamiento la AV puede estabilizarse o mejorar. En media, la mejora es de un 26% (diferencia significativa) y llega hasta un 87% adicional cuando se corrige con gafa (AV-LCC).
- Con la AV-CSC ocurre algo similar: aumentó en 6 ojos y se mantuvo estable en los 2 restantes. En particular, se ha encontrado una mejora estadísticamente significativa de un 48% en la visita final comparada con la basal.

- La SC inicial es notablemente inferior a la correspondiente a personas sanas. Se observa un ligero incremento tras la inyección de CMN-MOs en todas las frecuencias, aunque más marcado a frecuencias bajas. Sin embargo, los valores finales siguen estado en el rango patológico.
- Los pacientes con RP pueden o no sufrir anomalías en la visión del color. Al acabar el periodo del ensayo clínico, los que no sufrían dicha anomalía (N=4) permanecen estables y todos los pacientes que sí presentaban anomalías en la visita basal mejoran excepto uno de ellos.
- La RP tiene habitualmente asociados valores anormales de espesor retiniano, tanto en la fovea central como en la zona parafoveal, bien por presencia de edema, bien por pérdida celular. Entre la visita basal y la final, dichos espesores se han mantenido básicamente constantes o se han reducido (en el caso de edema). Solamente en uno de los pacientes se ha detectado un aumento (del 9%).
- La sensibilidad retiniana basal de los pacientes involucrados en este estudio se situó en niveles patológicos y no mostró ninguna correlación con la AV, pero sí con espesor retiniano y con la estabilidad de fijación.
- El umbral de sensibilidad no se redujo durante el tratamiento con CMN-MOs, sino que en 5 ojos aumentó y en 3 se mantuvo estable sin empeorar. Sin embargo, la integridad macular y la estabilidad en la fijación no mostraron ninguna tendencia hacia la mejoría.

Por otra parte, las conclusiones son coherentes con los objetivos propuestos en el Capítulo 1 y son las siguientes:

1. No se aprecian cambios de interés ni en la refracción ocular ni en la PIO en los pacientes afectados de RP tratados con CMN-MOs entre la visita basal y la final.
2. En los ojos tratados con CMN-MOs se produce una mejoría o estabilización tanto en la AV-LSC como en la AV-CSC que se mantiene al final del ensayo.
3. Se aprecia un incremento en los valores medios de SC en todas las frecuencias espaciales que se mantiene al final del año de seguimiento.
4. En los ojos tratados con CMN-MOs que presentaban anomalías en la visión del color en la visita basal se produce una mejora, salvo en uno.
5. Se ha objetivado la disminución del edema macular de un paciente y la estabilización del grosor macular en 6 pacientes. Además, en uno de ellos se aprecia un ligero aumento de dicho grosor.

6. El umbral de sensibilidad macular medido mediante microperimetría en los ojos tratados con CMN-MOs mejoró en 5 pacientes y permaneció estable en 3 de ellos a lo largo del periodo de seguimiento de 1 año.

Las conclusiones aquí expuestas muestran que el tratamiento con una inyección intravítrea de CMN-MOs es factible, fiable y con posibilidades de éxito. Como tratamiento, ha conseguido mantener o mejorar en el tiempo diferentes funciones visuales y parámetros anatómicos de los enfermos afectados de RP. La RP es una patología de tipo degenerativo y, a día de hoy, no tiene cura. Es por ello, que cualquier intento por ralentizar su progresión es un logro y siempre redundaría en beneficio de los pacientes que la sufren. Aunque al final del ensayo algunos parámetros visuales, morfométricos y funcionales analizados se siguen considerando como patológicos, los resultados aquí obtenidos muestran que el tratamiento en este grupo de pacientes podría ralentizar la progresión de la patología al menos durante ese periodo de 1 año. La eficacia de la inyección intravítrea de CMN-MOs en pacientes con RP es prometedora, pero precisa de más estudios para confirmar su utilidad.

En este capítulo final, como óptico-optometrista me gustaría destacar algunas ideas que me han ido surgiendo, no sólo mientras se realizaron las pruebas clínicas, sino también a lo largo de la redacción del presente trabajo. Durante las últimas décadas, el papel de los profesionales de la Optometría en el campo de la salud visual está siendo cada vez más relevante dados los cambios rápidos que afectan a la actividad y el alcance de la práctica optométrica. De hecho, cada vez son más numerosos los optometristas que desarrollan sus tareas en clínicas oftalmológicas y hospitales privados (en los hospitales públicos el número es todavía muy reducido).

Así, la colaboración entre el óptico-optometrista y el oftalmólogo es importante tanto en el día a día como en los ensayos clínicos. La simbiosis es cada vez mayor, pues ambos grupos de profesionales están capacitados para valorar la salud ocular de los pacientes, cada uno en su justa medida. Mientras que el primero está preparado para evaluar aspectos visuales como la refracción ocular, la SC, la sensibilidad motora o el campo visual, el segundo centra su atención en la parte de detección de patologías, en los tratamientos y en las intervenciones quirúrgicas. El óptico-optometrista está formado para detectar anomalías visuales asociadas a posibles patologías y derivar al paciente al oftalmólogo para su valoración.

En esta Tesis Doctoral, la implicación de la autora en el manejo de pacientes con RP en el entorno clínico ha tenido un interés destacable. Su actividad no se ha reducido simplemente a las medidas de AV, SC y anomalía de la visión al color, sino que se ha implicado directamente

en el manejo de instrumentación clínica (PIO, OCT, microperímetro) y en el análisis de los resultados, así como en los procesos de recuperación y tratamiento de los pacientes involucrados en el ensayo. El asumir y estar involucrada en otras funciones (a parte de las puramente optométricas) le han hecho forjarse profesionalmente a otros niveles más ligados a la práctica clínica, todo lo cual ha redundado en beneficio tanto de sus conocimientos profesionales, como de su desarrollo personal.

---

## ***BIBLIOGRAFIA***

---

- [Acton, 2012] J. H. Acton, J. M. Gibson and R. P. Cubbidge, "Quantification of visual field loss in age-related macular degeneration," *PLoS One* 7(6), e39944 (2012).
- [Acton, 2013] J. H. Acton and V. C. Greenstein, "Fundus-driven perimetry (microperimetry) compared to conventional static automated perimetry: similarities, differences, and clinical applications," *Can. J. Ophthalmol.* 48(5), 358-363 (2013).
- [Ahmad, 2001] I. Ahmad, "Stem cells: New opportunities to treat eye diseases," *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 42(12), 2743-2747 (2001)].
- [Akeo, 1993] K. Akeo, K. Hibino, M. Saga, Y. Oguchi and S. Okisaka, "The improvement of contrast sensitivity in retinitis pigmentosa by idebenone," *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 34, ARVO Abstract 1813 (1993).
- [Akeo, 2002] K. Akeo, Y. Hiida, M. Saga, R. Inoue and Y. Oguchi, "Correlation between contrast sensitivity and visual acuity in retinitis pigmentosa patients," *Ophthalmologica* 216(3), 185-191 (2002).
- [Alexander, 1995] K. R. Alexander, D. J. Derlacki, G. A. Fishman, "Visual acuity vs. letter contrast sensitivity in retinitis pigmentosa," *Vision Res.* 35(10), 1495-1499 (1995).
- [Arden, 1978] G. B. Arden and J. J. Jacobson, "A simple grating test for contrast sensitivity: preliminary results indicate value in screening for glaucoma," *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 17(1), 23-32 (1978).

- [Alonso, 1991] L. Alonso, P. Grimaldos, R. Bosch, J. Boix y P. Ivorra, "Retinosis pigmentaria: Hallazgos clínicos, epidemiológicos y distribución genética en 92 afectados," *Arch. Soc. Española Oftalmol.* 61(4), 325-330 (1991).
- [Álvarez García, 2010] P. Álvarez García, J. Guzmán Vargas, H. Alfredo Cruz, J. A. Bolívar Fontecha, L. C. Casas Sandoval, L. C. Montenegro Tejada y N. Remolina Alarcón, "Alteraciones neurotoxicológicas y pruebas de visión cromática en pacientes consumidores de alcohol," *Teoría y Praxis Investigativa* 5(2), 21-28 (2010).
- [Anastasakis, 2012] A. Anastasakis, M. A. Genead, J. J. McAnany and G. A. Fishman, "Evaluation of retinal nerve fiber layer thickness in patients with retinitis pigmentosa using spectral-domain optical coherence tomography," *Retina* 32(2), 358-363 (2012).
- [Arco Comino, 2019] R. M. Arco Comino, "Análisis de la visión del Visión del Color: Tests Digitales versus Tests Tradicionales. Tesis Fin de Master, Universidad Politécnica de Cataluña (2019).
- [Arnhold, 2007] S. Arnhold, Y. Absenger, H. Klein, K. Addicks and U. Schraermeyer, "Transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells rescue photoreceptor cells in the dystrophic retina of the rhodopsin knockout mouse," *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 245(3), 414-422 (2007).
- [Artigas, 1995] J. M. Artigas, P. Capilla, A. Felipe y J. Pujol, "Óptica Fisiológica. Psicofísica de la Visión," Interamericana McGraw-Hill (1995).
- [Atkin, 1979] A. Atkin, I. Bodis-Wollner, M. Wolkstein, A. Moss and S. M. Podos, "Abnormalities of central contrast sensitivity in glaucoma," *Am. J. Ophthalmol.* 88(2), 205-112 (1979).
- [Benes, 1992] S. C. Benes and K. E. McKinney, "Advanced Ophthalmic Diagnostic and Therapeutics," McGraw-Hill Ryerson Limited (1992).
- [Berezovsky, 2003] A. Berezovsky, J. M. Pereira, P. Y. Sacai, S. C. Fantini and S. R. Salomao, "Visual acuity and rod function in patients with retinitis pigmentosa, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 44(13), 3104 (2003).
- [Berson, 1980] E. L. Berson, B. Rosner and E. A. Simonoff, "Risk factors for genetic typing and detection in retinitis pigmentosa," *Am. J. Ophthalmol.* 89(6), 763-775 (1980).
- [Berson, 1993a] E. L. Berson, "Retinitis pigmentosa. The Friedenwald Lecture," *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 34(5), 1659-1676 (1993).

- [Berson, 1993b] E. L. Berson, B. Rosner, M. A. Sandberg, K. C. Hayes, B. W. Nicholson, C. Weigel-DiFranco and W. A. Willett, "Randomized trial of vitamin A and vitamin E supplementation for retinitis pigmentosa," *Arch. Ophthalmol.* 111(6), 761-772 (1993).
- [Berson, 1994] E. L. Berson, "Visual function testing: clinical correlations," *J. Clin. Neurophysiol.* 11(5), 472-481 (1994).
- [Bilbao Porta, 2017] C. Bilbao Porta, "Técnicas de Rehabilitación Visual en Retinosis Pigmentaria," Tesis Doctoral, Universidad de Valladolid (2017).
- [Bird, 1988] A. C. Bird, "Clinical investigation of retinitis pigmentosa," *Austr. New Zeal. J. Ophthalmol.* 16(3), 189-198 (1988).
- [Bittner, 2020] A. K. Bittner and M. C. Ferraz, "Reliability of mesopic measures of visual acuity and contrast sensitivity and their correlation with rod and cone function in retinitis pigmentosa," *Ophthalmic Res.* 63(2), 133-140 (2020).
- [Bodis-Wollner, 1972] I. Bodis-Wollner, "Visual acuity and contrast sensitivity in patients with cerebral lesions," *Science* 178(4062), 769-771 (1972).
- [Bolívar Montesa, 2004]. M. P. Bolívar Montesa, "Estudio de la Sensibilidad Retiniana Central Mediante SLO en la Retina Normal y Patológica," Tesis Doctoral, Universidad de Santiago de Compostela (2004).
- [Bosworth, 2000] C. F. Bosworth, P. A. Sample, C. A. Johnson and R. N. Weinreb, "Current practice with standard automated perimetry," *Semin. Ophthalmol.* 15(4), 172-181 (2000).
- [Boynton, 1992] R. M. Boynton, Human Color Vision. Optical Society of America (1992).
- [Bøyum, 1968] A. Bøyum, "Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of monuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g.," *Scand. J. Clin. Lab. Invest. (Suppl.)* 97, 77-89 (1968).
- [Boudreault, 2016] K. Boudreault, S. Justus, W. Lee, V. B. Mahajan and S. H. Tsang, "Complication of autologous stem cell transplantation in retinitis pigmentosa," *JAMA Ophthalmology* 134(6), 711-712 (2016).
- [Broadway, 2012] D. C. Broadway, "Visual field testing for glaucoma - a practical guide," *Community Eye Health* 25(79-80), 66-70 (2012).
- [Browling, 2016]. B. Browling, Oftalmología Clínica. 8ªed. Elsevier. Barcelona, España (2016).

- [Buckley, 2020] T. M. W. Buckley, J. K. Jolly, M. Menghini, L. Wood L, A, Nanda and R. E. MacLaren, Test-retest repeatability of microperimetry in patients with retinitis pigmentosa caused by mutations in RPGR,” *Clin. Experiment. Ophthalmol.* 48(5), 714-715 (2020).
- [Buckley, 2021] T. M. W. Buckley, J. K. Jolly, A. S. Josan, L. J. Wood, J. Cehajic-Kapetanovic, R. E. MacLaren, “Clinical applications of microperimetry in RPGR-related retinitis pigmentosa: a review,” *Acta Ophthalmol.* 99(8), 819-825 (2021).
- [Caballero, 2007] S. Caballero, N. Sengupta, A. Afzal, K. H. Chang, S. L. Calzi, D. L. Guberski, T. S. Kern and M. B. Grant, “Ischemic vascular damage can be repaired by healthy, but not diabetic, endothelial progenitor cells,” *Diabetes* 6(4), 960-967 (2007).
- [Cedrún Sánchez, 2018] J. E. Cedrún Sánchez, “Retinosis Pigmentaria: Optimización de la Función Visual Mediante Lentes Ópticas Especiales,” Tesis Doctoral, Universidad Complutense de Madrid (2018).
- [Charbord, 2010] P. Charbord, “Bone marrow mesenchymal stem cells: historical overview and concepts,” *Hum. Gene Ther.* 21(9), 1045- 1056 (2010).
- [Coffey, 2017] V. C. Coffey, “Vision accomplished: The bionic eye,” *Optics and Photonics News* 28(4), 24-31 (2017).
- [Coloma-González, 2013] I. Coloma-González, J. Flores-Preciado, E. Amézquita-García, y J. R. Hueso-Abancéns, “Fibrosis capsular posterior y tratamiento con láser YAG-Neodimium: análisis de su repercusión,” *Rev. Mex. Oftalmol.* 87(2), 77-84 (2013).
- [Cooper, 2011] B. Cooper, “The origins of bone marrow as the seedbed of our blood: from antiquity to the time of Osler,” *Proc. (Bayl Univ Med Cent)* 24, 115-118 (2011).
- [Dahlmann-Noor, 2010] A. Dahlmann-Noor, S. Vijay, H. Jayaram, A. Limb and P. T. Khaw, “Current approaches and future prospects for stem cell rescue and regeneration of the retina and optic nerve,” *Can. J. Ophthalmol.* 45(4), 333-341 (2010).
- [Drexler, 2004] W. Drexler, “Ultrahigh-resolution optical coherence tomography,” *J. Biomed. Opt.* 9(1), 47-74 (2004).
- [Dutt, 2009] K. Dutt and Y. Cao, “Engineering retina from human retinal progenitors (cell lines),” *Tissue Eng. Part A* 15(6), 1401-1413 (2009).
- [Fercher, 2003] A. F. Fercher, W. Drexler, C. K. Hitzenberger and T. Lasser. “Optical coherence tomography-principles and applications,” *Rep. Prog. Phys.* 66(2), 239-303 (2003).

- [Fishman, 1977a] G. A. Fishman, M. Fishman and J. Maggiano, "Macular lesions associated with retinitis pigmentosa," *Arch. Ophthalmol.* 95(5), 798-803 (1977).
- [Fishman, 1977b] G. A. Fishman, J. Maggiano and M. Fishman, "Foveal lesions seen in retinitis pigmentosa," *Arch. Ophthalmol.* 95(11), 1993-1996 (1977b).
- [Fishman, 1981] G. A. Fishman, R. S. Young, V. Vasquez and P. Lourenco, "Color vision defects in retinitis pigmentosa," *Ann. Ophthalmol.* 13(5), 609-618 (1981).
- [García Martín, 2015] E. García Martín, L. M. Gil Arribas y M. P. Bambó Rubio, "Retinosis pigmentaria. Avances diagnósticos y terapéuticos," *Thea Información* 73, 1-31 (2015).
- [García-Ayuso, 2022] D. García-Ayuso, J. Di Pierdomenico, D. García-Bernal, M. Vidal-Sanz and M. P. Villegas-Pérez, "Bone marrow-derived mononuclear stem cells in the treatment of retinal degenerations," *Neural Regen. Res.* 17(9), 1937-1944 (2022).
- [García-Navarro, 2015] A. V. García-Navarro, "Mejoras Visuales y Efectos sobre la Retina tras el Tratamiento con Lucentis (Ranibizumab) en Pacientes Diabéticos," Tesis Fin de Master, Universidad de Murcia (2015).
- [German, 2021] O. L. German, H. Vallese-Maurizi, T. B. Soto, N. P. Rotstein, L. E. Politi, "Retina stem cells, hopes and obstacles," *World J. Stem Cells* 13(10), 1446-1479 (2021).
- [Grover, 1999] S. Grover, G. A. Fishman, R. J. Anderson, M. S. Tozatti, J. R. Heckenlively, R. G. Weleber, A. O. Edwards and J. Brown Jr., "Visual acuity impairment in patients with retinitis pigmentosa at age 45 years or older," *Ophthalmology* 106(9), 1780-1785 (1999).
- [Haag-Streit, 2023] Haag-Streit Group, "What is Perimetry?" Chapter 2, 7-23 (2023). [<https://www.haag-streit.com/>].
- [Haas, 1986] A. Haas, J. Flammer and U. Schneider, "Influence of age on the visual fields of normal subjects," *Am. J. Ophthalmol.* 101(2), 199-203 (1986).
- [Hamel, 2006] C. Hamel, "Retinitis pigmentosa," *Orphanet J. Rare Dis.* 1, 40 (pp. 1-12) (2006).
- [Herse, 2005] P. Herse, "Retinitis pigmentosa: visual function and multidisciplinary management," *Clin. Exp. Optom.* 88(5), 335-350 (2005).
- [Health Quality Ontario, 2017] Health Quality Ontario, "Retinal prosthesis system for advanced retinitis pigmentosa: A health technology assessment update," *Ont. Health Technol. Assess. Ser.* 17(13), 1-62 (2017).

- [Hood, 2011a] D. C. Hood, R. Ramachandran, K. Holopigian, M. Lazow, D. G. Birch and V. C. Greenstein, "Method for deriving visual field boundaries from OCT scans of patients with retinitis pigmentosa," *Biomed. Opt. Express* 2(5), 1106-1114 (2011).
- [Hood, 2011b] D. C. Hood, M. Lazow, K. G. Locke, V. C. Greenstein, and D. G. Birch and "The transition zone between healthy and diseased retina in patients with retinitis pigmentosa," *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 52(1), 101-108 (2011).
- [Huang, 1991] D. Huang, E. A. Swanson, C. P. Lin, J. S. Schuman, W. G. Stinson, W. Chang, M. R. Hee, T. Flotte, K. Gregory, C. A. Puliafito and J. G. Fujimoto, "Optical coherence tomography," *Science* 254(5035), 1178-1181 (1991).
- [Hyvärinen, 1981] L. Hyvärinen, J. Rovamo, P. Laurinen, A. Peltomaa, "Contrast sensitivity function in evaluation of visual impairment due to retinitis pigmentosa," *Acta Ophthalmol. (Copenh.)* 59(5), 763-773 (1981).
- [Iftikhar, 2018] M. Iftikhar, S. Kherani, R. Kaur, M. Lemus, A. Nefalar, B. Usmani, N. Junaid, P. A. Campochiaro, H. P. N. Scholl and S. M. Shah, "Progression of retinitis pigmentosa as measured on microperimetry: The PREP-1 study," *Ophthalmol. Retina* 2(5), 502-507 (2018).
- [Iftikhar, 2019] M. Iftikhar, B. Usmani, A. Sanyal, S. Kherani, S. Sodhi, S. Bagheri, E. M. Schönbach, N. Junaid, H. P. N. Scholl and S.M.A. Shah, "Progression of retinitis pigmentosa on multimodal imaging: The PREP-1 study," *Clin. Exp. Ophthalmol.* 47(5), 605-613 (2019).
- [Inaba, 2012] M. Inaba and Y. M. Yamashita, "Asymmetric stem cell division: Precision for robustness," *Cell Stem Cell.* 11(4), 461-469 (2012).
- [Iodha, 2004] N. Iodha, E. Héon, M. Brent, A. Levin, E. Atenafu and C. Westall, "Contrast sensitivity - A useful adjunct in the assessment retinitis pigmentosa," *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 45(13), 5114 (2004).
- [Jacobson, 2010] S. Jacobson and A. Cideciyan, "Treatment possibilities for retinitis pigmentosa," *N. Engl. J. Med.* 363(17), 1669-1671 (2010).
- [Jiang, 2002] Y. Jiang, B. N. Jahagirdar, R. L. Reinhardt, R. E. Schwartz, C. D. Keene, X. R. Ortiz-Gonzalez, M. Reyes, T. Lenvik, T. Lund, M. Blackstad, J. Du, S. Aldrich, A. Lisberg, W. C. Low, D. A. Largaespada, C. M. Verfaillie, "Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow," *Nature* 418(6893), 41-49 (2002).
- [Johnson, 2011] C. A. Johnson, M. Wall and H. S. Thompson, "A history of perimetry and visual field testing," *Optom. Vis. Sci.* 88(1), 8-15 (2011).

- [Jonas, 2008] J. B. Jonas, M. Witzens-Harig, L. Arseniev and A. D. Ho, "Intravitreal autologous bone marrow-derived mononuclear cell transplantation: a feasibility report," *Acta Ophthalmol.* 86(2), 225-226 (2008).
- [Jonas, 2010] J. B. Jonas, M. Witzens-Harig, L. Arseniev and A. D. Ho, "Intravitreal autologous bone-marrow-derived mononuclear cell transplantation," *Acta Ophthalmol.* 88(4), e131-e132 (2010).
- [Kahraman, 2020] N. S. Kahraman and A. Oner, "Umbilical cord derived mesenchymal stem cell implantation in retinitis pigmentosa: a 6-month follow-up results of a Phase 3 trial," *Int. J. Ophthalmol.* 13(9), 1423-1429 (2020).
- [Kani, 1978] K. Kani and Y. Ogita, "Fundus controlled perimetry," *Doc. Ophthalmol. Proc. Ser.* 19, 341-350 (1978).
- [Kaufman, 1992] P. L. Kaufman, "Adler's Fisiology of the Eye," Mosby, 9th ed. (1992).
- [King-Smith, 1991] P. E. King-Smith, "Psychophysical methods for the investigation of acquired colour vision deficiencies," in *Visual And Visual Dysfunction: Inherited and Acquired Colour Vision Deficiencies: Fundamental Aspects and Clinical Studies*, D. Foster (Ed.), Macmillan Press Ltd., London, 38-55 (1991).
- [Knighten, 2014] D. A. Knighten, W. M. Zein, C. A. Cukras and B. G. Jeffrey, "Color vision in retinitis pigmentosa: A quantitative analysis of Farnsworth dichotomous panel D15 test," *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 55(13), 1389 (2014).
- [Kremers, 2016] J. Kremers, R. C. Baraas and N. J. Marshall, ed., "Human Color Vision," Springer (2016).
- [Kriechbaum, 2019] K. Kriechbaum, F. Prager, W. Geitzenauer, T. Benesch, C. Schütze, C. Simader and U. Schmidt-Erfurth, "Association of retinal sensitivity and morphology during antiangiogenic treatment of retinal vein occlusion over one year," *Ophthalmology* 116(12), 2415-2421 (2019).
- [Kuchenbecker, 2010] J. Kuchenbecker, S. Nicklas and W. Behrens-Baumann, "Colorimetric analysis of three editions of the Velhagen-Broschmann pseudoisochromatic colour plates," *Ophthalmologica* 224(1), 47-54 (2010).
- [Laishram, 2017] M. Laishram, K. Srikanth, A. R. Rajalakshmi, S. Nagarajan and G. Ezhumalai, "Microperimetry – A new tool for assessing retinal sensitivity in macular diseases," *J. Clin. Diagn. Res.* 11(7), NC08-NC11 (2017).

- [Lenassi, 2012] E. Lenassi, E. Troeger, R. Wilke and M. Hawlina, “Correlation between macular morphology and sensitivity in patients with retinitis pigmentosa and hyperautofluorescent ring,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 53(1), 47-52 (2012).
- [Li, 1995] Z. Y. Li, D. E. Possin and A. H. Milam, “Histopathology of bone spicule pigmentation in retinitis pigmentosa,” *Ophthalmology* 102(5), 805-816 (1995).
- [Lindberg, 1981] C. R. Lindberg, G.A. Fishman, R. J. Anderson and V. Vasquez, “Contrast sensitivity in retinitis pigmentosa,” *Br. J. Ophthalmol.* 65(12), 855-858 (1981).
- [Lupo, 2011] S. Lupo, P. L. Grenga and E. M. Vingolo, “Fourier-domain optical coherence tomography and microperimetry findings in retinitis pigmentosa,” *Am. J. Ophthalmol.* 151(1), 106-111 (2011).
- [Matsuo, 2007] T. Matsuo and N. Morimoto, “Visual acuity and perimacular retinal layers detected by optical coherence tomography in patients with retinitis pigmentosa,” *Br. J. Ophthalmol.* 91(7), 888-890 (2007).
- [Mehat, 2018] M. S. Mehat, V. Sundaram, C. Ripamonti, A. G. Robson, A. J. Smith, S. Borooah, M. Robinson, A. N. Rosenthal, W. Innes, R. G. Weleber, R.W. J. Lee, M. Crossland, G. S. Rubin, B. Dhillon, D. H. W. Steel, E. Anglade, R. P. Lanza, R. R. Ali, M. Michaelides and J. W. B. Bainbridge, “Transplantation of human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelial cells in macular degeneration,” *Ophthalmology* 125(11), 1765-1775 (2018).
- [Merin, 1976] S. Merin and E. Auerbach, “Retinitis pigmentosa,” *Surv. Ophthalmol.* 20(5), 303-346 (1976).
- [Midena, 2006] E. Midena, “Microperimetry,” *Arch. Soc. Esp. Oftalmol.* 81(4), 183-186 (2006).
- [Midena, 2010] E. Midena, S. Vujosevic and F. Cavarzeran, “Normal values for fundus perimetry with the microperimeter MP1,” *Ophthalmology* 117(8), 1571-1576 (2010).
- [Midena, 2017] E. Midena and E. Pilotto, “Microperimetry in age: related macular degeneration,” *Eye* 31(7), 985-994 (2017).
- [Milam, 1995] A. H. Milam and Z. Y. Li, “Retinal pathology in retinitis pigmentosa: Considerations for therapy,” in *Degenerative Diseases of the Retina*, Plenum Press (pp. 275-284) (1995).

- [Mitamura, 2012] Y. Mitamura, S. Mitamura-Aizawa, T. Nagasawa, T. Katome, H. Eguchi and T. Naito, “Diagnostic imaging in patients with retinitis pigmentosa,” *J. Med. Invest.* 59(1-2), 1-11 (2012).
- [Moraleda, 2004] J. M. Moraleda, F. Ruiz, M. Blanquer y F. Arriba, “¿Qué son las células madre? *Hematología Mol.* 2004(3), 2-5 (2004).
- [Morales, 2016] M. U. Morales, S. Saker, C. Wilde, C. Pellizzari, A. Pallikaris, N. Notaroberto, M. Rubinstein, C. Rui, P. Limoli, M. K. Smolek and W. M. Amoaku, “Reference clinical database for fixation stability metrics in normal subjects measured with the MAIA microperimeter,” *Transl. Vis. Sci. Technol.* 5(6):6 (2016).
- [Musarella, 2010] M. Musarella and I. M. MacDonald, “Current concept in the treatment of retinitis pigmentosa,” *J. Ophthalmol.* 2011, 753547 (pp. 1-8) (2011).
- [Oishi, 2012] M. Oishi, H. Nakamura, M. Hangai, A. Oishi, A. Otani and N. Yoshimura, “Contrast visual acuity in patients with retinitis pigmentosa assessed by a contrast sensitivity tester,” *Indian J. Ophthalmol.* 60(6), 545-549 (2012).
- [Omar, 2005] R. Omar, S. Dainb, and P. Herse, “Color vision deficiency in retinitis pigmentosa,” *International Congress Series* 1282, 684-688 (2005).
- [Ortiz, 2010] C. Ortiz, J. R. Jiménez, F. Pérez-Ocón, J. J. Castro, J. J. Castro and R. González-Anera, “Retinal-image quality and contrast-sensitivity function in age-related macular degeneration,” *Cur. Eye Res.* 35(8), 757-761 (2010).
- [Otani, 2002] A. Otani, K. Kinder, K. Ewalt, F. J. Otero, P. Schimmel and M. Friedlander, “Bone marrow-derived stem cells target retinal astrocytes and can promote or inhibit retinal angiogenesis,” *Nat. Med.* 8(9), 1004-1010 (2002).
- [Otani, 2004] A. Otani, M. I. Dorrell, K. Kinder, S. K. Moreno, S. Nusinowitz, E. Banin, J. Heckenlively and M. Friedlander, “Rescue of retinal degeneration by intravitreally injected adult bone marrow-derived lineage-negative hematopoietic stem cells,” *J. Clin. Invest.* 114(6), 765-774 (2004).
- [Pagon, 1988] R. A. Pagon, “Retinitis pigmentosa,” *Surv. Ophthalmol.* 33(3), 137-177 (1988).
- [Park, 2014] S. S. Park, G. Bauer, M. Abedi, S. Pontow, A. Panorgias, R. Jonnal, R. J. Zawadzki, J. S. Werner and J. Nolta, “Intravitreal autologous bone marrow CD34+ cell therapy for ischemic and degenerative retinal disorders: preliminary phase 1 clinical trial findings,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 56(1), 81-89 (2014).

- [Pasquale, 2021] R. L. Pasquale, Y. Guo, Y. Umino, B. Knox and E. Solessio, “Temporal contrast sensitivity increases despite photoreceptor degeneration in a mouse model of retinitis pigmentosa,” *eNeuro* 8(2), 1-20 (2021).
- [Pfau, 2021] M. Pfau, J. K. Jolly, Z. Wu, J. Denniss, E. M. Lad, R. H. Guymer, M. Fleckenstein, F.G. Holz and S. Schmitz-Valckenberg, “Fundus-controlled perimetry (microperimetry): Application as outcome measure in clinical trials,” *Prog. Retin. Eye Res.* 82, 100907 (27 pp) (2021).
- [Perlman, 2007] J. L. Perlman, C. Delany, R. B. Sothorn, K. Skolnick, D. W. Murray, R. W. Jacobs, J. L. Shue, E. Kaplan, N. C. Friedman, B. A. Nemchausky, M. J. Ryan, and E. L. Kanabrocki, “Relationships between 24h observations in intraocular pressure vs blood pressure, heart rate, nitric oxide and age in the medical chronobiology aging project,” *Clin. Ter.* 158(1), 31-47 (2007).
- [Perz, 2010] M. Perz, “Flicker perception in the periphery,” MSc Thesis, Eindhoven University of Technology (2010).
- [Pinckers, 1993] A. Pinckers, A. Van Aarem and J. E. Keunen, “Colour vision in retinitis pigmentosa. Influence of cystoid macular edema,” *Int. Ophthalmol.* 17(3), 143-146 (1993).
- [Pulos, 1988] E. Pulos, K. Ruther, J. VerHoeve, and G. Bresnick, “Assessment of Spatiotemporal Contrast Sensitivity in Retinitis Pigmentosa,” in *Noninvasive Assessment of The Visual System, Technical Digest Series* (Optica Publishing Group, 1988), paper TuD1.
- [Ramalho-Santos, 2007] M. Ramalho-Santos and H. Willenbring, “On the origin of the term 'Stem Cell',” *Cell Stem Cell.* 1(1), 35-38 (2007).
- [Reidenbach, 2008] H.-D. Reidenbach, “Color and contrast sensitivity after glare from high-brightness LEDs,” *Proc. SPIE* 6844, Ophthalmic Technologies XVIII, 68441R (11 February 2008).
- [Rodríguez González-Herrero, 2017] M. E. Rodríguez González-Herrero, R. Reigadas López, J. Di Pierdomenico, A. V García-Navarro, *et al.*, “Retinosis pigmentaria. Terapia celular”, 078, (2017-I), Ed. Laboratorios Thea (2017).
- [Rohrschneider, 1997] K. Rohrschneider, R. Glück, M. Becker, F. G. Holz, F. E. Kruse, T. Fendrich and H. E. Völcker, “Scanning laser fundus perimetry before laser photocoagulation of well defined choroidal neovascularization,” *Br. J. Ophthalmol.* 81(7), 568-573 (1997).
- [Salmon, 2021] J. S. Salmon, “Kanski. Oftalmología Clínica,” Elsevier, 9ª ed. (2021).

- [Sandberg, 2005] M. A. Sandberg, R. J. Brockhurst, A. R. Gaudio and E. L. Berson, “The association between visual acuity and central retinal thickness in retinitis pigmentosa,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 46(9), 3349-3354 (2005).
- [Sandberg, 2008] M. A. Sandberg, R. J. Brockhurst, A. R. Gaudio and E. L. Berson, “Visual acuity is related to parafoveal retinal thickness in patients with retinitis pigmentosa and macular cysts,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 49(10), 4568-4572 (2008).
- [Sapkota, 2020] K. Sapkota, S. Franco and M. Lira, “Contrast sensitivity function with soft contact lens wear,” *J. Optom.* 13(2), 96-101 (2020).
- [Satarian, 2017] L. Satarian, R. Nourinia, S. Safi, M. R. Kanavi, N. Jarughi, N. Daftarian, L. Arab, N. Aghdami, H. Ahmadih and H. Baharvand, “Intravitreal injection of bone marrow mesenchymal stem cells in patients with advanced retinitis pigmentosa; a Safety Study,” *J. Ophthalmic Vis. Res.* 12(1), 58-64 (2017).
- [Sharma, 2021] A. Sharma and B. G. Jaganathan, “Stem cell therapy for retinal degeneration: The evidence to date,” *Biologics* 15, 299-306 (2021).
- [Shintani , 2009] K. Shintani, D. Shechtman and A. Gurwood, “Review and update: Current treatment trends for patients with retinitis pigmentosa,” *Optometry* 80(7), 384-401 (2009).
- [Sieving, 1978] P. A. Sieving and G.A. Fishman, “Refractive errors of retinitis pigmentosa patients,” *Br. J. Ophthalmol.* 62(3), 163-167 (1978).
- [Singh, 2020] M. S. Singh, S. S. Park, T. A. Albin, M. V. Canto-Soler, H. Klassen, R. E. MacLaren, M. Takahashi, A. Nagiel, S. D. Schwartz and K. Bharti, “Retinal stem cell transplantation: Balancing safety and potential,” *Prog. Retin. Eye Res.* 75, 100779 (32 pp) (2020).
- [Siqueira, 2011a] R.C. Siqueira, “Stem cell therapy for retinal diseases: update,” *Stem Cell Res. Ther.* 2, 50 (10 pp) (2011).
- [Siqueira, 2011b] R. C. Siqueira, A. Messias, J. C. Voltarelli, I. U. Scott and R. Jorge, “Intravitreal injection of autologous bone marrow-derived mononuclear cells for hereditary retinal dystrophy: a phase I trial,” *Retina* 31(6), 1207-1214 (2011).
- [Siqueira, 2011c] R. C. Siqueira, R. Jorge, A. Messias, I. Scott and J. Voltarelli, “Transplantation of autologous bone marrow derived stem cells for retinitis pigmentosa,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 52, 2217 (2011).

- [Siqueira, 2013] R. Siqueira, A. Messias, J. Voltarelli, K. Messias, R. S. Arcieri and R. Jorge, “Resolution of macular edema associated with retinitis pigmentosa after intravitreal use of autologous BM-derived hematopoietic stem cell transplantation,” *Bone Marrow Transplant* 48(4), 612-613 (2013).
- [Siqueira, 2015] R. C. Siqueira, A. Messias, K. Messias, R. S. Arcieri, M. A Ruiz, N. F. Souza, L. C. Martins and R. Jorge, “Quality of life in patients with retinitis pigmentosa submitted to intravitreal use of bone marrow-derived stem cells (Reticell -clinical trial),” *Stem Cell Res. Ther.* 6(1), 29 (5 pp) (2015).
- [Siqueira, 2021] R. C. Siqueira, L. Piron-Ruiz, P. S. Saran, L. Castiglioni, T. S. P. and M. A. Ruiz, “Improvement of the visual field after intravitreal use of bone marrow mononuclear fraction containing CD34 + stem cells in patients with retinitis pigmentosa: A case report,” *J. Transl. Sci.* 7(6), 1-4 (2021).
- [Sjöstrand, 1977] J. Sjöstrand and L. Frisen, “Contrast sensitivity in macular disease: A preliminary report,” *Acta Ophthalmol.* 55(3), 507-514 (1977).
- [Smith, 2004] L. E. H. Smith, “Bone marrow–derived stem cells preserve cone vision in retinitis pigmentosa,” *J. Clin. Invest.* 114(6), 755-757 (2004).
- [Smith, 2006 ] A. Smith, “A glossary for stem-cell biology,” *Nature* 441, 1060 (2006).
- [Spaide, 2008] R. F. Spaide, “The potential of pluripotent cells in vitreoretinal diseases,” *Retina* 28(8), 1031-1034 (2008).
- [Spellman, 1989] D. C. Spellman, K. R. Alexander, G. A. Fishman and D. J. Derlacki, “Letter contrast sensitivity in retinitis pigmentosa patients assessed by Regan charts,” *Retina* 9(4), 287-291 (1989).
- [Steffensen, 1951] E. H. Steffensen and J. Kukora, “ACTH intermedin and cortisone in the treatment of retinitis pigmentosa,” *Am. J. Ophthalmol.* 34(12), 1665-1675 (1951).
- [Sunness, 1997] J. S. Sunness, R. A. Schuchard, N. Shen, G. S. Rubin, G. Dagnelie and D. M. Haselwood, “Landmark-driven fundus perimetry using the scanning laser ophthalmoscope,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 36(9), 1863-1874 (1995).
- [Tamaki, 2011] M. Tamaki and T. Matsuo, “Optical coherence tomographic parameters as objective signs for visual acuity in patients with retinitis pigmentosa, future candidates for retinal prostheses,” *J. Artif. Organs.* 14(2), 140-150 (2011).

- [Taylor-Weiner, 2015] H. Taylor-Weiner and J. Graff Zivin, "Medicine's wild west: unlicensed stem-cell clinics in the United States," *N. Engl. J. Med.* 373(11), 985-987 (2015).
- [Thomson, 1998] J. A. Thomson, J. Itskovitz-Eldor, S. S. Shapiro, M. A. Waknitz, J. J. Swiergiel, V. S. Marshall and J. M. Jones, "Blastocysts embryonic stem cell lines derived from human," *Science* 282(5391), 1145-1147 (1998).
- [Timberlake, 1982] G. T. Timberlake, M. A. Mainster, R. H. Webb, G. W. Hughes and C. L. Trempe, "Retinal localization of scotomata by scanning laser ophthalmoscopy," *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 22(1), 91-97 (1982).
- [Tortajada, 2020] L. Tortajada Isidro and M. N. Valverde Sánchez, "Quantification of color vision in patients with different retinal pathologies," TFM, Universidad Complutense de Madrid (2020).
- [Traquair, 1938]. H. M. Traquair, "An Introduction to Clinical Perimetry," ED. Henry Kimpton, London (1938).
- [Tuekprakhon, 2021] A. Tuekprakhon, S. Sangkitporn, A. Trinavarat, A. R. Pawestri, V. Vamvanij, M. Ruangchainikom, P. Luksanapruksa, P. Pongpaksupasin, *et al.*, "Intravitreal autologous mesenchymal stem cell transplantation: a non-randomized phase I clinical trial in patients with retinitis pigmentosa," *Stem Cell Res. Ther.* 12(1), 52 (15 pp) (2021).
- [Tyler, 1984] C. W. Tyler, W. Ernst and A. L. Lyness, "Photopic flicker sensitivity losses in simplex and multiplex retinitis pigmentosa," *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 25(9), 1035-1042 (1984).
- [Van de Velde, 1990] F. J. Van de Velde, G. T. Timberlake, A. E. Jalkh and C. L. Schepens, "La micropérimétrie statique avec l'ophtalmoscope à balayage laser," *Ophtalmologie* 4, 291-294 (1990).
- [Van de Velde, 1991] F. J. Van de Velde, "Microperimetry with the SLO: Basic concepts," Schepens International Society Meeting, Madrid, 2-9 (1991).
- [Velhagen, 1998] K. Velhagen y D. Broschman, *Manual de Exploración de la Visión Cromática*. Editores Médicos, Madrid, 2ª edición (1998).
- [Villegas, 2002] E. A. Villegas, C. González, B. Bourdoncle, T. Bonnin and P. Artal, "Correlation between optical and psychophysical parameters as a function of defocus," *Optom. Vis. Sci.* 79(1), 60-67 (2002).

- [Weleber, 1994] R. G. Weleber, “Retinitis pigmentosa and allied disorders,” *Retina*, 2nd ed., CV Mosby, 335-466 (1994).
- [Witkin, 2006] A. J. Witkin, T. H. Ko, J. G. Fujimoto, A. Chan, W. Drexler, J. S. Schuman, E. Reichel and J. S. Duker, “Ultra-high resolution optical coherence tomography assessment of photoreceptors in retinitis pigmentosa and related diseases,” *Am. J. Ophthalmol.* 142(6), 945-952 (2006).
- [Wolkstein, 1980] M. Wolkstein, A. Atkin and I. Bodis-Wollner, “Contrast sensitivity in retinal disease,” *Ophthalmology* 87(11), 1140-1149 (1980).
- [Xu, 2020] M. Xu, Y. Zhai and I. M. MacDonald, “Visual field progression in retinitis pigmentosa,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 61(6), 56 (2020).
- [Yannuzzi, 1990] L. A. Yannuzzi, K. A. Gitter and H. Schatz, “La mácula: Texto y atlas,” Médica Panamericana, S. A. (1990).
- [Yeo, 2020] J. H. Yeo, Y. J. Kim and Y. H. Yoon, “Optical coherence tomography angiography in patients with retinitis pigmentosa-associated cystoid macular edema,” *Retina* 40(12), 2385-2395 (2020).
- [Yioti , 2012] G. G. Yioti, C. D. Kalogeropoulos, M. B. Aspiotis and M. I. Stefaniotou, “Contrast sensitivity and color vision in eyes with retinitis pigmentosa and good visual acuity: Correlations with SD-OCT findings,” *Ophthalmic Surg. Lasers Imaging* 43(6), S44-S53 (2012).
- [Young, 1980] R. S. Young and G. A. Fishman, “Color matches of patients with retinitis pigmentosa,” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 19(8), 967-972 (1980).
- [Zhao, 2020] T. Zhao, Q. Liang, X. Meng, P. Duan, F. Wang, S. Li, Y. Liu and Z. Q. Yin, “Intravenous infusion of umbilical cord mesenchymal stem cells maintains and partially improves visual function in patients with advanced retinitis pigmentosa,” *Stem Cells Dev.* 29(16), 1029-1037 (2020).

# ANEXO I

Fase Visita	Selección Basal	Inyección #0	Seguimiento											
			#1 (+1)	#2 (+18)	#2-3 (+15)	#3 (+30)	#4 (+60)	#5 (+90)	#6 (+120)	#7 (+180)	#8 (+270)	#9 (+360)		
Día	[-28, 0]				1	1	1	2	3	4	6	9	12	
Mes de Estudio		I												
Información para el paciente	X	N												
Consentimiento informado	X	Y												
Anamnesis	X	E	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Cuestionario función visual (VFQ-25)	X	C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Criterios de inclusión y exclusión	X	C												
Examen de polo anterior	X	I	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Examen de polo posterior	X	O	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Angiografía fluoresceínica	X	N	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Campimetría	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Retinografía	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Electroretinograma	X			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Potenciales Evocados visuales	X			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Hemograma	X			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Bioquímica	X			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Coagulación	X													
Serología	X													
Test embarazo	X													
ECG	X												X	
RXtórax	X													
Valoración preanestesia	X													
Extracción médula ósea		X												
Inyección intravítrea CMN-MO		X												
Inyección Subconjuntival Placebo		X												
Medicación concomitante	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Acontecimientos adversos	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	

Tabla A1. Cuadro temporal de pruebas clínicas adicionales realizadas a los pacientes.



---

# *ANEXO II*

---

En este Anexo II se presenta el cuestionario VFQ-25 realizado a los pacientes con RP involucrados en este estudio. Dicho cuestionario lo cumplimentaron en las visitas indicadas en la Tabla A1 del Anexo I.

**Número identificador:**

**Fecha:**

---

**VFQ-25**

---

## SECCIÓN A: Funcionamiento Visual

Hora de inicio:

Primero, me gustaría leerle unas declaraciones sobre su vista o sobre los sentimientos que tiene de su vista.

Si usa gafas o lentes de contacto, por favor responda a todas las preguntas como si los llevara puestos, con uno o los dos ojos abiertos, como vea mejor.

A1. Actualmente, diría usted que su vista (usando gafas o lentes de contacto, si es que usted los usa) es excelente, buena, regular, mala, muy mala, o está completamente ciego/a? ENTREVISTADOR: SI EL ENTREVISTADO TIENE VISIÓN EN UN OJO, EL ENTREVISTADO DEBE RESPONDER POR LA VISIÓN GLOBAL EN LA MEJOR SITUACIÓN.

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)

(Marcar una)

- Excelente
- Buena
- Regular
- Mala
- Muy mala
- Completa ceguera

A2. ¿Qué tan seguido se preocupa acerca de su vista? Diría usted que:

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)

(Marcar una)

- Nunca
- Una pequeña parte del tiempo
- Parte del tiempo
- La mayor parte del tiempo
- Todo el tiempo

A3. ¿Cuánto dolor o malestar diría usted que ha sentido en los ojos o alrededor de los ojos (por ejemplo, ardor, picazón, o dolor)? Diría usted que:

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)

(Marcar una)

- Nada
- Un poco
- Moderado
- Severo
- Muy severo

## DIFICULTAD CON LAS ACTIVIDADES

Las siguientes preguntas son acerca de cuánta dificultad tiene, si acaso tiene alguna, para hacer actividades. Si usa gafas o lentes de contacto, por favor responda a las preguntas como si los llevara puestos.

A4. ¿Cuánta dificultad tiene usted para leer la letra regular de los periódicos?

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)

(Marcar una)

- Ninguna dificultad
- Un poco de dificultad
- Moderada dificultad
- Extrema dificultad
- Dejó de hacerlo a causa de su vista
- Dejó de hacerlo por otras razones o no está interesado en hacer esto

A5. ¿Cuánta dificultad tiene para hacer trabajos o pasatiempos / hobbies que requieren que usted vea bien de cerca como cocinar, coser, arreglar cosas en la casa o usar herramientas? Diría usted que:

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)

(Marcar una)

- Ninguna dificultad
- Un poco de dificultad
- Moderada dificultad
- Extrema dificultad
- Dejó de hacerlo a causa de su vista
- Dejó de hacerlo por otras razones o no está interesado en hacer esto

A6. A causa de su vista, ¿cuánta dificultad tiene usted para encontrar algo que está en un estante/repisa lleno/a de cosas? Diría usted que tiene:

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)

(Marcar una)

- Ninguna dificultad
- Un poco de dificultad
- Moderada dificultad
- Extrema dificultad
- Dejó de hacerlo a causa de su vista
- Dejó de hacerlo por otras razones o no está interesado en hacer esto

A7. A causa de su vista, ¿cuánta dificultad tiene usted para leer los nombres de las calles o los nombres de las tiendas? Diría usted que tiene:

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)

(Marcar una)

- Ninguna dificultad
- Un poco de dificultad
- Moderada dificultad
- Extrema dificultad
- Dejó de hacerlo a causa de su vista
- Dejó de hacerlo por otras razones o no está interesado en hacer esto

A8. A causa de su vista, ¿cuánta dificultad tiene usted para bajar escalones, escaleras, o el borde de la acera/ banqueta cuando hay poca luz o es de noche? Diría usted que tiene:

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)

(Marcar una)

- Ninguna dificultad
- Un poco de dificultad
- Moderada dificultad
- Extrema dificultad
- Dejó de hacerlo a causa de su vista
- Dejó de hacerlo por otras razones o no está interesado en hacer esto

A9. A causa de su vista, ¿cuánta dificultad tiene usted para notar objetos a los lados cuándo va caminando? Diría usted que tiene:

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)

(Marcar una)

- Ninguna dificultad
- Un poco de dificultad
- Moderada dificultad
- Extrema dificultad
- Dejó de hacerlo a causa de su vista
- Dejó de hacerlo por otras razones o no está interesado en hacer esto

A10. A causa de su vista, ¿cuánta dificultad tiene usted para ver cómo reacciona la gente cuando usted dice algo? Diría usted que tiene:

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)

(Marcar una)

- Ninguna dificultad
- Un poco de dificultad
- Moderada dificultad
- Extrema dificultad
- Dejó de hacerlo a causa de su vista
- Dejó de hacerlo por otras razones o no está interesado en hacer esto

A11. A causa de su vista, ¿cuánta dificultad tiene usted para escoger y coordinar su propia ropa? Diría usted que tiene:

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)

(Marcar una)

- Ninguna dificultad
- Un poco de dificultad
- Moderada dificultad
- Extrema dificultad
- Dejó de hacerlo a causa de su vista
- Dejó de hacerlo por otras razones o no está interesado en hacer esto

A12. A causa de su vista, ¿cuánta dificultad tiene usted para visitar a la gente en su casa, en fiestas o restaurantes? Diría usted que tiene:

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)

(Marcar una)

- Ninguna dificultad
- Un poco de dificultad
- Moderada dificultad
- Extrema dificultad
- Dejó de hacerlo a causa de su vista
- Dejó de hacerlo por otras razones o no está interesado en hacer esto

A13. A causa de su vista, ¿cuánta dificultad tiene usted para salir al cine, al teatro o a ver eventos deportivos? Diría usted que tiene:

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)

(Marcar una)

- Ninguna dificultad
- Un poco de dificultad
- Moderada dificultad
- Extrema dificultad
- Dejó de hacerlo a causa de su vista
- Dejó de hacerlo por otras razones o no está interesado en hacer esto

A14. Ahora me gustaría hablarle sobre manejar un coche. ¿Conduce usted un coche en la actualidad, al menos de vez en cuando?

(Marcar una)

- Sí → SALTAR a la pregunta A14C, en esta página
- No

A14a. ¿Es porque nunca ha conducido un coche o porque ha dejado de hacerlo?

- Nunca ha conducido → SALTAR a la pregunta A15, de la página siguiente
- Ha dejado de hacerlo

A14b. SI HA DEJADO DE CONDUCIR: ¿Dejó de conducir principalmente a causa de su vista, principalmente por otras razones, o por su vista y otras razones?

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)

(Marcar una)

- Principalmente por la vista
- Principalmente por otras razones
- Por las dos causas, la vista y otras razones

### **ENTREVISTADOR: Saltar a la pregunta A15, de la página siguiente**

A14c. SI CONDUCE ACTUALMENTE: ¿Cuánta dificultad tiene usted para conducir durante el día por lugares conocidos? Diría usted que tiene:

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)

(Marcar una)

- Ninguna dificultad
- Un poco de dificultad
- Moderada dificultad
- Extrema dificultad

14d. ¿Cuánta dificultad tiene usted para manejar de noche?

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)

(Marcar una)

- Ninguna dificultad
- Un poco de dificultad
- Moderada dificultad
- Extrema dificultad
- Dejó de hacerlo a causa de su vista
- Dejó de hacerlo por otras razones o no está interesado en hacer esto

### RESPUESTAS A PROBLEMAS DE LA VISTA

15. ¿Qué tan seguido ha realizado usted menos trabajo del que le hubiera gustado

hacer a causa de su vista?

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)

(Marcar una)

- Todo el tiempo
- La mayor parte del tiempo
- Parte del tiempo
- Una pequeña parte del tiempo
- Nunca

16. ¿Qué tan seguido está limitado/a por su vista en cuanto al tiempo que puede

trabajar o hacer otras cosas por su vista?

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)

(Marcar una)

- Todo el tiempo
- La mayor parte del tiempo
- Parte del tiempo
- Una pequeña parte del tiempo
- Nunca

17. ¿Qué tan seguido no puede hacer lo que quisiera a causa del dolor o malestar en los ojos o alrededor de los ojos; por ejemplo, ardor, picazón o dolor?

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)

(Marcar una)

- Todo el tiempo
- La mayor parte del tiempo
- Parte del tiempo
- Una pequeña parte del tiempo
- Nunca

18. Me quedo en casa la mayor parte del tiempo a causa de mi vista. Diría usted que es:

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)

(Marcar una)

- Definitivamente cierto.....1
- Mayormente cierto.....2
- No está seguro/a.....3
- Mayormente falso.....4
- Definitivamente falso.....5

19. Me siento frustrado/a gran parte del tiempo a causa de mi vista. Diría usted que es:

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)

(Marcar una)

- Definitivamente cierto.....1
- Mayormente cierto.....2
- No está seguro/a .....3
- Mayormente falso.....4
- Definitivamente falso.....5

20. Tengo mucho menos control sobre lo que hago a causa de mi vista. Diría usted que es:

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)

(Marcar una)

- Definitivamente cierto
- Mayormente cierto
- No está seguro/a
- Mayormente falso
- Definitivamente falso

21. A causa de mi vista, tengo que depender demasiado en lo que otra gente me dice.

Diría usted que es:

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)  
(Marcar una)

- Definitivamente cierto
- Mayormente cierto
- No está seguro/a
- Mayormente falso
- Definitivamente falso

22. Necesito mucha ayuda de otras personas a causa de mi vista. Diría usted que es:

- Definitivamente cierto
- Mayormente cierto
- No está seguro/a
- Mayormente falso
- Definitivamente falso

23. Me preocupa que voy a hacer cosas que me van a causar vergüenza a mí mismo o a otros a causa de mi vista. Diría usted que es:

(LEER LAS OPCIONES DE RESPUESTA SEGÚN SEA NECESARIO)  
(Marcar una)

- Definitivamente cierto
- Mayormente cierto
- No está seguro/a
- Mayormente falso
- Definitivamente falso



---

# ANEXO *III*

---

Este Anexo III contiene la encuesta de satisfacción tras la participación en el ensayo clínico que ha sentado las bases de esta Tesis Doctoral.



**ENCUESTA PARA PACIENTES SOBRE PARTICIPACIÓN EN ENSAYOS CLÍNICOS**  
Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca  
ÁREA 1 MURCIA-OESTE



Deseamos conocer su grado de satisfacción por su participación en un Ensayo Clínico realizado en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. El objetivo es saber, con su ayuda, en qué debemos mejorar la calidad de la asistencia que prestamos. Por ello le agradeceremos que conteste las preguntas que contiene este cuestionario. Sólo tendrá que señalar con una cruz (☒) las respuestas escogidas, desde “muy poca satisfacción” puntuado con “0” hasta “Gran satisfacción” puntuado con “4”.



Nada de satisfacción (0)    Poca satisfacción (1)    Neutral satisfacción (2)    Moderada satisfacción (3)    Gran satisfacción (4)

Una vez contestadas las preguntas, entregar el cuestionario al coordinador del ensayo clínico.

**MUCHAS GRACIAS POR SU COLABORACIÓN. SU INFORMACIÓN NOS VA A SER DE GRAN UTILIDAD. AYÚDENOS A MEJORAR.**

Ensayo Clínico:	
Fecha:	

➤ **Primero, nos gustaría conocer algunos detalles sobre las instalaciones.**

Estado del Centro y mantenimiento	0	1	2	3	4
Comodidad de las instalaciones hospitalarias (consulta, planta...)	0	1	2	3	4
Respeto a la intimidad de los enfermos	0	1	2	3	4
Calidad de la comida	0	1	2	3	4
Facilidad para desplazarse en el Centro	0	1	2	3	4
Facilidades para la permanencia de familiares	0	1	2	3	4
Cercanía del Centro desde el lugar de alojamiento	0	1	2	3	4
Facilidad para llegar al hospital	0	1	2	3	4
Trámites para el ingreso y evaluaciones	0	1	2	3	4
Facilidad para programar las visitas al centro	0	1	2	3	4
Equipamiento y medios tecnológicos para pruebas y tratamientos	0	1	2	3	4
Horario de pruebas y evaluaciones médicas	0	1	2	3	4
Puntualidad de las pruebas / evaluaciones médicas	0	1	2	3	4

➤ **También queremos conocer su opinión sobre las personas que le atendieron.**

Amabilidad (cortesía) del personal no sanitario en su trato con el paciente	0	1	2	3	4
Amabilidad (cortesía) del personal de enfermería en su trato con el paciente	0	1	2	3	4
Amabilidad (cortesía) del personal médico en su trato con el paciente	0	1	2	3	4
Cuidados y atención del personal de enfermería	0	1	2	3	4
Cuidados y atención del personal médico	0	1	2	3	4
Tiempo dedicado por el médico	0	1	2	3	4
Información proporcionada por el médico	0	1	2	3	4
Seguimiento del caso por el médico	0	1	2	3	4
Confianza (seguridad) que el personal transmite al paciente	0	1	2	3	4
Trato personalizado que se da al paciente	0	1	2	3	4
Disposición del personal para ayudarle cuando lo necesita	0	1	2	3	4
Rapidez con que consigue lo que necesita	0	1	2	3	4
El personal cumple lo que dice que va a hacer	0	1	2	3	4
Comunicación que el personal mantiene con los familiares	0	1	2	3	4
Preparación del personal para realizar su trabajo	0	1	2	3	4

➤ .... **Y para terminar.**

Calidad de la atención en general	0	1	2	3	4
-----------------------------------	---	---	---	---	---

Calidad del servicio en general	0	1	2	3	4
---------------------------------	---	---	---	---	---

Satisfacción global con los cuidados sanitarios recibidos	0	1	2	3	4
---	---	---	---	---	---

➤ **En este apartado le pedimos algunos datos personales necesarios para clasificar las respuestas del cuestionario.**

Su fecha de nacimiento (sólo escriba el año): 19__ __
Sexo: <input type="checkbox"/> Hombre <input type="checkbox"/> Mujer
Nivel de estudios: <input type="checkbox"/> Ninguno <input type="checkbox"/> Estudios Primarios (Bachiller Elemental, E.S.O. o E.G.B.) <input type="checkbox"/> Medios (Bachillerato Superior o B.U.P., Artes y Oficios o Formación Profesional) <input type="checkbox"/> Superiores (Universidad...) <input type="checkbox"/> Otros (especificar)

➤ Finalmente, si este cuestionario no le ha preguntado por algún aspecto de la atención realizada en nuestro Hospital por su participación en el Ensayo Clínico, que usted considere de importancia, o desea hacer algún comentario o sugerencia, utilice este espacio para exponer su opinión:

--

**MUCHAS GRACIAS POR SU COLABORACIÓN. NOS ESTÁ AYUDANDO A MEJORAR.**



---

# ANEXO *IV*

---

Los resultados contenidos en esta Tesis Doctoral han dado lugar a las siguientes comunicaciones y publicaciones científicas:

N. García Inesta, F. Iniesta, A. V. García-Navarro, J.M. Marín, et al., “Resultados preliminares de un ensayo clínico fase I de tratamiento con inyección intravítrea de células madre de médula ósea autólogas en pacientes con retinosis pigmentaria.” En: *Reunión Anual Red de Terapia Celular*, Sevilla (2015).

M. E. Rodríguez González-Herrero, J. Di Pierdomenico, R. Reigadas López, [...], A. V. García-Navarro, et al., “Investigación con terapia celular en retinosis pigmentaria.” *Visión* nº47, pg. 10-15 (2º Semestre 2015) (ISBN: 84-604-1293-B).

N. García Inesta, F. Iniesta, A. V. García-Navarro, J.M. Marín, et al., “Intravitreal injection of autologous bone marrow stem cells in retinitis pigmentosa patients. Preliminary results of a phase I clinical trial.” En: *European Society for Blood and Marrow Transplantation Annual Meeting*, Valencia (2016), pg. S317-S318 (ISSN: 1476-5365).

A. V. García-Navarro, M. E. Rodríguez, R. Reigadas y J. M. Bueno, “Evolución de la agudeza visual en pacientes con retinosis pigmentaria tratados con inyección intravítrea de células madre.” En: *III Jornadas Doctorales de la Universidad de Murcia*, Murcia (2017). Publicación: Actas EIDUM, pg. 839-842 (ISBN: 978-84-608-9779-8).

M. E. Rodríguez González-Herrero, R. Reigadas López, J. Di Pierdomenico, A. V. García Navarro, et al., “Retinosis pigmentaria. Terapia celular”, *Laboratorios Thea* 078, pg. 1-24 (2017-I) (ISSN:84-1887-4096).

A. V. García-Navarro, M. E. Rodríguez, R. Reigadas y J. M. Bueno, “Evolución de la microperimetría en pacientes con retinosis pigmentaria tratados con inyección intravítrea de células madre.” En: *I Congreso Nacional Retina, Murcia* (2018). Publicación: Enfermedades

de la retina: Una mirada multidisciplinar (2019), pg. 97-104 (ISBN 978-84-120397-0-2). Comunicación PREMIADA con Accésit Investigación (Fundación HEFAME).

A. V. García-Navarro, E. Rodríguez, R. Reigadas y J. M. Bueno, “Evolución de la sensibilidad retiniana en pacientes con retinosis pigmentaria tratados con inyección intravítrea de células madre.” En: *II Congreso Interdisciplinar de Jóvenes Investigadores*, Murcia (2018).

A. V. García-Navarro, E. Rodríguez, R. Reigadas y J. M. Bueno, “Tomografía de coherencia óptica en pacientes con retinosis pigmentaria tratados con inyección intravítrea de células madre.” En: *V Jornadas Doctorales de la Universidad de Murcia*, Murcia (2019). Publicación: Actas EIDUM, pg. 18.

A. V. García-Navarro, E. Rodríguez, R. Reigadas y J. M. Bueno, “Tomografía de coherencia óptica en pacientes con retinosis pigmentaria tratados con inyección intravítrea de células madre.”

A. V. García-Navarro, M. E. Rodríguez, R. Reigadas y J. M. Bueno, “Cambios fisiológicos en la retina de pacientes con retinosis pigmentaria tratados con inyección intravítrea de células madre.” En: *VI Jornadas Doctorales Universidad de Murcia*, Murcia (2021). Publicación: Actas EIDUM-EINDOC-CMN, pg. 40.

J. M. Bueno, A. V. García-Navarro and M. E. Rodríguez, “Changes in visual acuity after injection of autologous bone-marrow-derived mononuclear stem cells in patients with retinitis pigmentosa.” En: *Vision Sciences International Symposium (RNO2021)* [virtual]. Publicación: Libro de Resúmenes de la XIII Reunión Nacional de Óptica, pg. 196-197 (ISBN: 13 978-84-09-37622-3).

A. V. García-Navarro, M. E. Rodríguez and J. M. Bueno, “Optical coherence tomography in retinitis pigmentosa patients treated with an injection of autologous bone-marrow-derived mononuclear stem cells.” En: *XXXVIII Reunión Bienal de la Real Sociedad Española de Física*, Murcia (2022). Publicación: Libro de Resúmenes de la XXXVIII Reunión Bienal de la RSEF, pg. 539 (ISBN: 978-84-09-46885-0).

---

# *Agradecimientos*

---

Cada persona tiene su destino marcado y el mío con esta Tesis Doctoral no ha sido diferente. Estar en un momento determinado, en el lugar adecuado, puede hacer que el futuro de alguien vaya por unos derroteros y no por otros. Tal es así, que el haber realizado mi Trabajo de Fin Máster en el HCUVA marcó un antes y un después en mi vida, pues me permitió enlazar lo que allí estaba haciendo con un ensayo clínico que por entonces comenzaba y en el que he centrado todos mis esfuerzos durante estos últimos años que, dicho sea de paso, por unas circunstancias u otras no han sido pocos.

Llegado este punto, ser parca en palabras es una virtud, porque sobriedad y moderación es lo que necesito para escribir lo que quiero dejar patente y plasmado *per saecula saeculorum* en este apartado “tan crucial” como cualquier otro, me atrevería a decir.

Todo doctorand@ que ha pasado por este trámite sabe de lo duro, difícil, y si cabe largo, del proceso. Altibajos, noches sin poder dormir, ratos de desidia, días de euforia,... Pero también es cierto que nunca he estado sola en este trayecto de mi vida académica. En mi caso particular ha sido la misma persona, que actuando como director y tutor, siempre me ha resguardado, dado cobijo científico (y personal), y la cual “ha sufrido” conmigo quizás más de lo que ambos hubiésemos deseado. Sin su paciencia, vigor, empatía y empuje no hubiera sido posible estar escribiendo esta última página, que pretendo cierre otra de mis etapas. Quiero por ello agradecer infinitamente a Juanma Bueno, el haberme guiado en todo el camino recorrido para la realización de este trabajo, quien con su experiencia, consejos e ideas ha conseguido que vea la luz. Gracias, de corazón, por todo el tiempo que me has dedicado.

Quiero también dar las gracias a la Dra. Elena Rodríguez del Servicio de Oftalmología del HCUVA, por incluirme en este proyecto con células madre y ayudarme en los primeros años de mi doctorado. A Natalia García Iniesta le agradezco todas las horas que hemos pasado juntas en la organización, recogida de datos y trato con los pacientes. Y a la Dra. Rosa Reigadas por hacer amenas las consultas, en las que siempre aprendí algo nuevo. Gracias también a los miembros del Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria ligados a este ensayo, por facilitarme innumerables veces el acceso a la base de datos.

Y no quiero poner el punto y final, sin antes mostrar un sincero agradecimiento a mi familia, que de la mejor manera que han podido y sabido, me han mostrado su apoyo y me han acompañado, no sólo en los momentos buenos, sino también en los malos. Sólo espero que puedan sentirse orgullosos de mí, por haber podido llegar hasta aquí.

*Sombras en la noche, lejos de la luz  
van formando parte de la multitud.  
Sombras en la noche luchan sin cesar  
por salir a flote de la oscuridad.*

*(C. De Castro / A. De Castro)*