



FACULTAD DE FARMACIA

Grado en Farmacia

**ENSAYOS CLÍNICOS Y
PRECLÍNICOS DE TERAPIA GÉNICA
PARA DISTROFIAS HEREDITARIAS
DE LA RETINA**

Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Febrero 2022

Autor: Álvaro Rodríguez Carretón

Modalidad: Revisión bibliográfica

Tutor/es: Gema Concepción Martínez Navarrete

ÍNDICE

RESUMEN.....	4
ABSTRACT.....	4
ABREVIATURAS	6
INTRODUCCION.....	7
EL FENÓMENO DE LA VISIÓN.....	7
ESTRUCTURA DE LA RETINA HUMANA.....	7
FOTORRECEPTORES	9
CASCADA DE FOTOTRANSDUCCIÓN	10
DISTROFIAS HEREDITARIAS DE LA RETINA.....	10
TERAPIA GÉNICA	12
VECTORES VIRALES Y NO VIRALES.....	13
VECTORES VIRALES.....	14
VECTORES NO VIRALES	15
ENSAYOS CLÍNICOS	15
OBJETIVOS.....	17
MATERIAL Y MÉTODOS	18
RESULTADOS	20
A. ENSAYOS CLÍNICOS CON VECTORES VIRALES	20
a. LENTIVIRUS.....	20
Tratamiento de enfermedad de Stargardt.....	20
Tratamiento del síndrome de Usher	21
b. VIRUS ASOCIADOS A ADENOVIRUS (AAV)	22
Tratamiento de RP ligada al cromosoma X	22

Tratamiento de la retinosquisis juvenil ligada al cromosoma X (XLRS)	23
Tratamiento de la acromatopsia (ACHM)	24
Tratamiento de la amaurosis congénita de Leber (LCA)	25
Tratamiento de la RP causada por mutaciones del gen <i>MERTK</i>	26
Tratamiento de enfermedad de Stargardt.....	26
B. ENSAYOS CLÍNICOS CON VECTORES NO VIRALES	28
a. NANOPARTÍCULAS	28
Tratamiento de la enfermedad de Stargardt.....	28
Tratamiento del metabolismo del hierro.....	28
DISCUSIÓN.....	30
CONCLUSIONES	33
BIBLIOGRAFIA.....	34
ANEXO	39

RESUMEN

Las distrofias hereditarias de la retina son enfermedades genéticas que provocan un gran impedimento visual, en condiciones normales afectan a los dos ojos, y tienen un carácter crónico e incapacitante, progresando con los años. En los últimos años, se han logrado grandes avances en su tratamiento mediante el uso de la terapia génica. La terapia génica para corregir defectos genéticos puede estar mediada tanto por vectores virales como no virales, y ha mostrado gran un potencial en el tratamiento las distrofias hereditarias de la retina, obteniendo unos mejores resultados que el tratamiento basado únicamente en agentes farmacológicos. Aun siendo una modalidad terapéutica actualmente limitada por factores como el número de genes a tratar o su método invasivo, los resultados obtenidos con esta modalidad terapéutica son una garantía de su potencial. El objetivo de esta revisión es el de poner de manifiesto el uso de la terapia génica enfocada al tratamiento de las distrofias hereditarias de la retina en la fase de ensayo clínico, así como los resultados, seguridad y potencial demostrados por dichos ensayos.

Palabras clave: Distrofias hereditarias de la retina, terapia génica, vectores virales/no virales, ensayos clínicos, ensayos preclínicos.

ABSTRACT

Hereditary retinal dystrophies are genetic diseases that cause great visual impairment, under normal conditions improved in both eyes, and have a chronic and disabling character, progressing over the years. In recent years, great strides have been made in its treatment by gene therapy. Gene therapy to correct genetic defects can be mediated by both viral and non-viral vectors, and has shown great potential in the treatment of hereditary retinal dystrophies, obtaining better results than treatment based solely on pharmacological agents. Even though it is a

therapeutic modality currently limited by factors such as the number of genes to be treated or its invasive method, the results obtained with this therapeutic modality are a guarantee of its potential. The objective of this review is to show the use of gene therapy focused on the treatment of hereditary retinal dystrophies in the clinical trial phase, as well as the results, safety and potential demonstrated by said trials.

Keywords: Hereditary retinal dystrophies, gene therapy, viral / non-viral vectors, clinical trials, preclinical trials



ABREVIATURAS

RP: Retinosis pigmentaria.

DHR: Distrofias hereditarias de la retina.

EIAV: Anemia infecciosa equina.

GFP: Proteína verde fluorescente.

ECO: (1-aminoethyl)iminobis [N-(oleoylcysteinyl-1-amino ethyl)propionamide).

RHO: Rodopsina.

GP: Partículas de genoma.

LCA: Amaurosis congénita de Leber.

ACHM: Acromatopsia.

TF: Transferrina.

cGMP: Guanosín monofosfato cíclico.

VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular.

IGF-1: Factor de crecimiento insulínico tipo 1.

AAV: Virus asociado a adenovirus o adenoasociado.

GTPasa: Guanosina trifosfatasa.

XLRS: Retinosquiasis juvenil ligada al cromosoma X.

KB: Kilobases.

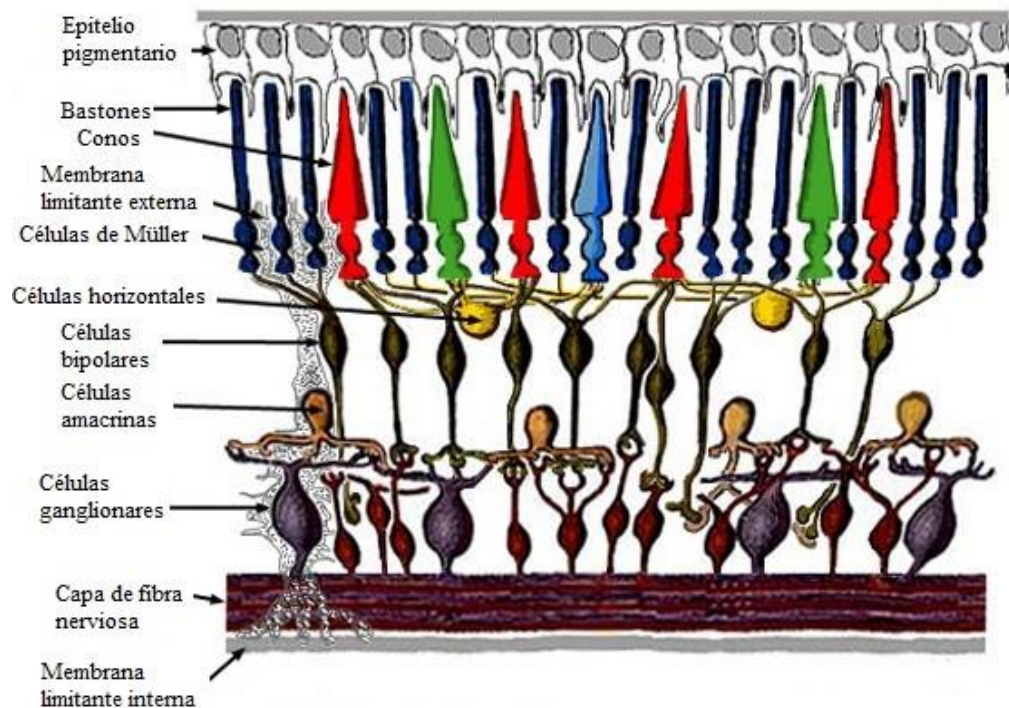


FIGURA 2: Capas de la retina humana (2)

Dentro de la estructura de la retina (Figura 2), encontramos una capa más externa que se denomina epitelio pigmentario, las células que la componen contienen pigmento granulado en su interior por lo que son capaces de absorber la luz recibida. A continuación, se encuentra la capa de fotorreceptores, de la que se hablará en el apartado siguiente con mayor profundidad. Seguidamente, está la membrana limitante externa, es aquí donde tiene lugar la sinapsis entre fotorreceptores y las células bipolares, las cuales unen células ganglionares y horizontales. La siguiente capa, es la capa nuclear interna, que contiene los cuerpos celulares tanto de las células bipolares y horizontales, así como de las gliales (células de Müller, astrocitos y células de microglía) y las células amacrinas, que son las encargadas de coordinar la información entre capas. Las células ganglionares son la última capa celular donde se realiza la sinapsis, hasta llegar a la capa de fibra nerviosa, la cual formará el nervio óptico, que es el

encargado de transmitir los estímulos dirigidos al cerebro para su procesamiento (3).

FOTORRECEPTORES

Esta capa está formada por conos y bastones, dos tipos de células de carácter sensorial. Estas células son las encargadas de captar los fotones y de realizar el proceso conocido como fototransducción. Los conos y bastones se encuentran distribuidos de manera diferente, lo que permite una mayor agudeza visual. Por un lado, los conos se concentran en la zona central de la retina, especialmente en la fovea, y están acondicionados a situaciones de alta intensidad luminosa proporcionando una visión en color. Por otro lado, se encuentran los bastones, los cuales se encuentran en mayor densidad en la retina periférica. Los bastones, al contrario que los conos, muestran adaptación a situaciones de baja intensidad luminosa, estando especializados en proporcionar una visión nocturna y en blanco y negro.

La conformación de un fotorreceptor consta de varias partes diferenciadas: segmento externo (donde da comienzo la cascada de fototransducción), segmento interno (donde se localizan los orgánulos celulares), axón y terminal axónico (Figura 3).

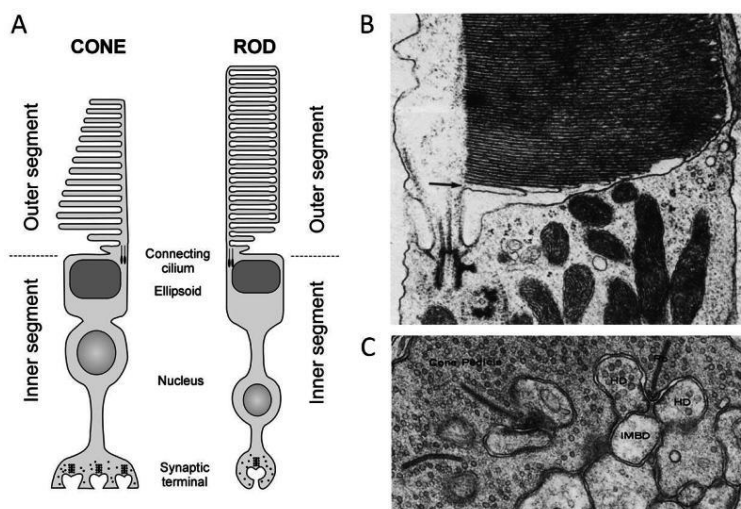


Figura 3: (A): fotorreceptores de vertebrados; (B): segmento externo; (C): terminales axónicos (4).

CASCADA DE FOTOTRANSDUCCIÓN

Es el proceso que permite que la información que es captada por los fotorreceptores se procese, transforme y viaje en forma de señales eléctricas dirigidas al cerebro. Se produce en los segmentos externos de los receptores, incluyendo en las membranas celulares, así como en los discos membranosos apilados (5).

Al llegar un fotón lumínico, cambia la conformación del cromóforo retinal, provocando a su vez un cambio en la opsina. Dicho cambio activa la transducina G_1 , la cual activa una fosfodiesterasa de GMP cíclico (cGMP), lo que provoca una reducción en los niveles de cGMP (molécula encargada de modular que se abran o cierren los canales de Na^+). Al disminuir la cantidad de cGMP, ya no pueden mantenerse abiertos dichos canales de Na^+

Esto causa una desactivación en los canales catiónicos, proceso por el cual se cierran también los canales de Ca^{2+} , lo que hiperpolariza la membrana de las células fotorreceptoras causando el fin de la liberación de neurotransmisores (proceso conocido como "Dark Current" o corriente de oscuridad). Esta reducción en el flujo de cationes reduce la liberación de glutamato. Cuando el glutamato ya no se libera, cesa la inhibición de estas neuronas (6).

DISTROFIAS HEREDITARIAS DE LA RETINA

Las distrofias retinianas hereditarias son un conjunto de trastornos genéticos retinianos que causan la muerte de células retinianas, en su mayoría células fotorreceptoras, causando una progresiva y severa pérdida de visión. Este tipo de patologías afecta a una persona entre 2.500 (7). Las distrofias hereditarias de la retina se dividen en diferentes grupos atendiendo al fotorreceptor que se vea afectado, en las que afectan a los conos, por otra las que afectan a los bastones, y por último, las distrofias generales que afectan a ambos tipos de fotorreceptores. Al ser un grupo de enfermedades tan heterogéneo a nivel genético, alélico, fenotípico y clínico, es muy complicado encontrar la mutación específica, y por tanto su tratamiento (8).

La distrofia hereditaria más común es la retinosis pigmentaria (RP), con una prevalencia de una persona entre 4.000. Es altamente heterogénea; en su forma asintomática, son más de 50 genes los que causan, y se conocen alrededor de 3100 mutaciones en estos genes. En su forma sintomática, es igualmente heterogénea, 12 genes causan el síndrome de Usher y 17 el de Bardet-Bield, conociéndose unas 1200 mutaciones en estos dos síndromes mencionados. Los pacientes que sufren la RP, generalmente, pierden visión nocturna en la adolescencia, visión periférica en el comienzo de la edad adulta, y visión en general a lo largo del resto de su vida. Los primeros fotorreceptores en degenerarse son los bastones, lo que causa la pérdida de visión nocturna antes mencionada, mientras que al degenerarse los conos a lo largo de la vida del paciente es cuando se pierde visión en términos generales (9).

Otras distrofias hereditarias conocidas son:

- **Enfermedad de Stargardt**, consiste en una degeneración macular hereditaria, con una prevalencia de 1:8-10.000 personas. Se caracteriza por una progresiva degeneración de conos y bastones. Su causa son mutaciones en el gen *ABCA4* (10)
- **Amaurosis congénita de Leber (LCA)**, con una prevalencia de 1:50-100,000, la LCA se caracteriza por la pérdida de visión, así como por nistagmo. Está causada por una mutación bilalélica en el gen *RPE-65* (11).
- **Retinopatía prematura**, causada por la pérdida de vasos sanguíneos, así como por una interrupción de la proliferación de éstos en bebés prematuros, creando una zona avascular en su retina. En la primera fase de la enfermedad, vasculogénesis, se forman las principales arcadas vasculares, mientras que en la angiogénesis se completa la vascularización. Al nacer el niño de forma prematura, se encuentra en una repentina hiperoxia, lo que causa una disminución en los factores angiogénicos que participan en la vascularización (VEGF e IGF-1), interrumpiendo la formación

de tejido vascular en la retina causando una obliteración en vasos ya formados (12).

- **Degeneración macular asociada a la edad**, enfermedad que afecta a personas de avanzada edad, siendo la tercera causa de ceguera después de las cataratas y el glaucoma. Su prevalencia aumenta a partir de los 50 años, siendo muy prevalente a partir de los 80 años. Puede ser de tipo seco, la cual no conlleva un riesgo de neovascularización, o de tipo húmedo, la cual sí implica una neovascularización en la mácula, teniendo así un carácter más severo que la anterior (13).
- **Retinopatía diabética**, ocurre eventualmente en uno de cada tres pacientes de diabetes, siendo más prevalente en los pacientes de diabetes de tipo 1 que los del tipo 2. La hiperglucemia causa un aumento en la permeabilidad de los vasos, teniendo edemas como consecuencia. Esto provoca a su vez una isquemia retiniana, lo que causa una neovascularización patológica que puede resultar en hemorragias vítreas y retinianas (14).

TERAPIA GÉNICA

La terapia génica se ha convertido en una gran terapia para enfermedades retinianas en estos tiempos recientes. Esto se ha debido al avance en campos como el desarrollo de técnicas de secuenciación genómica, así como el descubrimiento de nuevos genes implicados en dichas enfermedades. La retina es considerada como el mejor lugar para aplicar terapia génica, debido a la accesibilidad que presenta ya sea con técnicas invasivas o no invasivas, su reducido tamaño y la inmunidad que le otorga la barrera hemato-retiniana. La administración de genes puede ser a través de dos vías (15):

- **Subretiniana**, siendo esta forma la más invasiva, pero permitiendo alcanzar el epitelio pigmentario retiniano, así como el aérea de fotorreceptores de una manera más precisa.
- **Intravítrea**, siendo esta forma más sencilla de realizar e implicando menor riesgo, pero a su vez menos precisa, lo que puede provocar una respuesta inmunológica al poder esparcirse el agente génico por un área mayor del espacio vítreo.

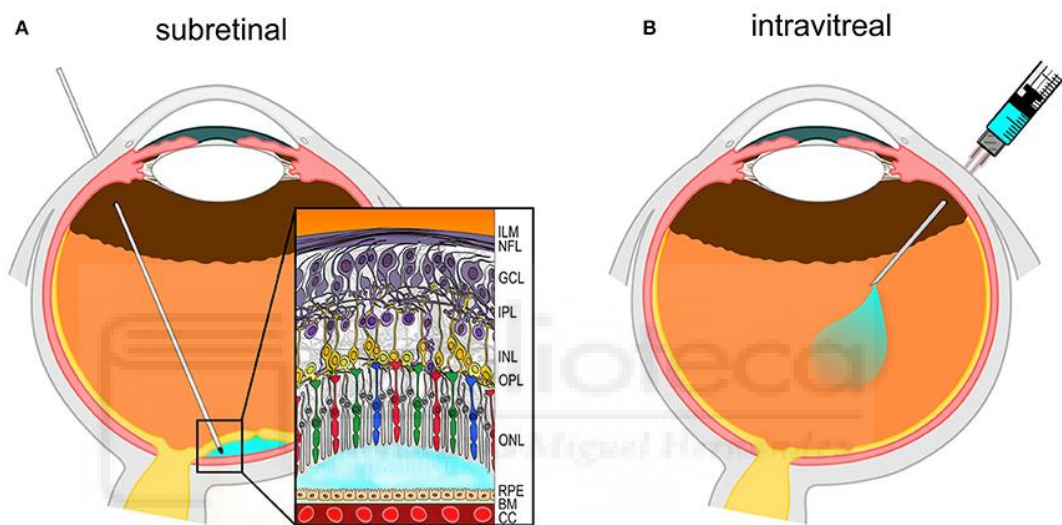


Figura 4: Diagrama ilustrativo de las diferentes vías de administración de terapia génica en el ojo (16).

VECTORES VIRALES Y NO VIRALES

Para internalizar los genes dentro de las células de la retina, la terapia génica requiere el empleo de un vehículo, estos pueden ser vectores virales, o vectores no virales (17). El vector utilizado es el factor clave a la hora de determinar el éxito de la terapia. Como las retinopatías requieren un tratamiento constante, se necesita que el gen introducido se preserve el mayor tiempo posible, así como que provoque la menor inmunogenicidad, debido a que la respuesta inmune del paciente puede determinar el tiempo de duración de la acción del gen. Otras cualidades del gen ideal a introducir serían una alta especificidad, para que sólo

afecte a las células deseadas, la mayor capacidad de clonación posible, altos niveles de pureza y ausencia de toxicidad.

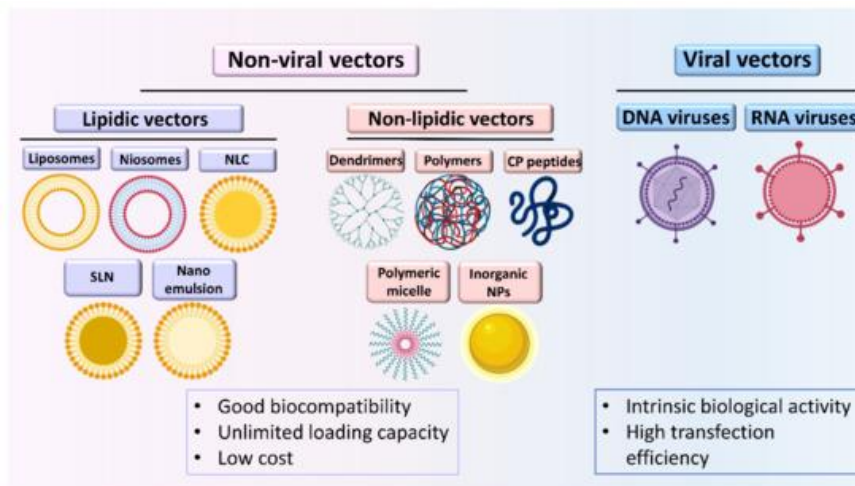


Figura 4: Ventajas y desventajas de vectores virales y no virales (18).

VECTORES VIRALES

Los más usados son vectores de virus recombinantes como el adenovirus, lentivirus y virus asociados al adenovirus (AAV) (19).

- **Adenovirus:** poseen una alta capacidad de transducción a un gran número de células, independientemente del ciclo celular en el que se encuentren. En comparación con otros vectores, los vectores adenovirales pueden tener un mayor tamaño de inserción (48 kb), pero están limitados por su seguridad, así como por la corta duración de su expresión, por lo que los hace inutilizables en patologías donde sea necesaria una expresión de larga duración.
- **Lentivirus:** son vectores virales de la familia de los retrovirus. Son capaces de integrar su genoma en la célula del huésped, consiguiendo una expresión estable. Esto, sin embargo, aumenta el riesgo de mutagénesis lo que limita su uso al epitelio pigmentario debido a que es el único tipo celular lo suficientemente seguro para la terapia. Los lentivirus pueden actuar como mediadores en la

entrega de factores neurotróficos y antiapoptóticos además de genes, lo cual es útil en el tratamiento de fotorreceptores.

- **Virus asociados al adenovirus:** son los vectores virales más prometedores para el tratamiento de muchas retinopatías; esto es debido a la poca patogenicidad e inmunogenicidad que presentan, así como su capacidad de mantener una expresión estable de genes terapéuticos. Su principal problema se encuentra en la baja capacidad que presentan a la hora de almacenar secuencias de un tamaño mayor a 5 kb.

VECTORES NO VIRALES

La necesidad de encontrar cada vez un mayor número de vectores a utilizar ha llevado al desarrollo de vectores no virales, siendo estos vectores más económicos en su producción que los vectores virales (20,21).

- **Nanopartículas:** moléculas de un tamaño menor a 100 nanómetros que son capaces de atravesar la membrana plasmática, evitar a las endosomas y transportar el gen contenido en el ADN plasmídico al núcleo. Destacan por su seguridad y estabilidad, pero, en comparación con vectores virales, presentan una menor expresión génica.
- **Liposomas:** han sido utilizados mayoritariamente para transferencia génica *in vitro*, pero son muchos menos eficaces que los vectores virales, presentando una mayor toxicidad, así como una menor duración(22).

ENSAYOS CLÍNICOS

Un ensayo clínico es un estudio de investigación médica. Su objetivo es evaluar seguridad, eficacia y efectos de un fármaco en humano antes de ser

aprobado. Es necesario articular ciertos factores dentro del ensayo para evitar al máximo los sesgos y errores. Estos factores son (23):

- **Población** a estudiar, la cual debe estar claramente definida en términos de edad, género y estadio de la enfermedad.
- **Intervención** a realizar lo más detallada posible teniendo en cuenta su formulación, dosis, vía de administración y duración.
- **Comparación.** Es necesario que exista un grupo o mas de control, para así tener un estándar sobre el cual comparar los resultados obtenidos en el ensayo.
- **Aleatorización.** Siguiendo este método de asignar pacientes a los diferentes grupos (control e intervención) y tratamientos dentro de un ensayo, se reduce considerablemente el riesgo de cometer sesgos en el ensayo.

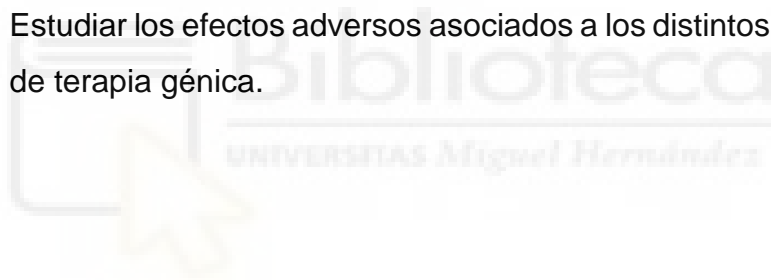
Estos ensayos son liderados por un investigador principal, el cual suele tener detrás a un equipo de trabajo. A menudo, los ensayos están esponsorizados por diversas compañías o incluso agencias estatales (24).

OBJETIVOS

El objetivo general de esta revisión bibliográfica es el de analizar los ensayos clínicos realizados con terapia génica enfocados al tratamiento de las distrofias retinianas hereditarias durante los últimos cinco años, para poder así evaluar su potencial como tratamiento.

Como objetivos específicos cabe destacar:

- Evaluar ensayos clínicos con Lentivirus y Adenovirus para diferentes tipos de retinosis pigmentaria y otras distrofias retinianas.
- Examinar los diferentes ensayos clínicos que utilizan nanopartículas como vectores no virales para distrofias hereditarias de la retina.
- Estudiar los efectos adversos asociados a los distintos tratamientos de terapia génica.



MATERIAL Y MÉTODOS

Esta revisión bibliográfica ha sido diseñada con el fin de revisar y analizar de forma crítica la literatura científica disponible en respecto al tratamiento de las distrofias hereditarias de la retina mediante el uso de la terapia génica.

Dicha literatura científica se ha obtenido a través de su búsqueda en internet, más concretamente en bases de datos como *MedLine* (utilizando *PubMed*) y *Embase*, dos bases de datos de referencia a nivel mundial sobre medicina basada en evidencia, y de gran relevancia en el campo de la ciencia, biomedicina y biología.

También se consultó la web de *ClinicalTrials*, web de acceso público que contiene información sobre los estudios y ensayos que se llevan a cabo en el mundo con el fin de corroborar ciertos resultados obtenidos en la búsqueda bibliográfica.

La metodología que se empleó en la búsqueda se basó en el uso de tesauros para establecer palabras clave en la búsqueda. Estas se establecieron en forma de Medical Subject Headings (MeSH). Dichas palabras clave fueron: *Ensayo clínico*, *Terapia génica*, y *Retina*; y sus correspondientes MeSH: *Clinical trial*, *Gene therapy*, y *Retina*. Al utilizar el MeSH de *Clinical trial*, también se obtuvieron resultados sobre los ensayos preclínicos. Además, se empleó el operador booleano AND/Y. Esto resultó en la siguiente ecuación de búsqueda:

$$((\textit{clinicaltrial}[\textit{Title/Abstract}])\textit{AND}(\textit{genetherapy}[\textit{Title/Abstract}]))\textit{AND}(\textit{retina}[\textit{Title/Abstract}])$$

Los artículos revisados para la elaboración de este trabajo datan de años comprendidos entre el 2004 y el 2021. Aunque la revisión trata sobre los últimos avances y potencial de la terapia génica, es necesario consultar y revisar material antiguo para comprender la evolución a la que se ha visto sometida esta terapia. Como el fin de esta revisión es comprobar los avances más recientes en el campo de la terapia génica enfocada a tratar distrofias hereditarias de retina, se seleccionan artículos de menos de 5 años de antigüedad.

Los criterios seguidos para la inclusión de artículos en esta revisión han sido:

- Artículos escritos en inglés o español.
- Relevancia y especificidad respecto al tema a tratar.
- Antigüedad no superior a 5 años.

En la primera búsqueda realizada, sin emplear ningún filtro, se encontraron 42 artículos. Por motivos comentados anteriormente, se acotó la búsqueda a artículos publicados en un rango de 5 años. Esta segunda búsqueda resultó en un total, de 23 artículos. En una tercera y última búsqueda, se obtuvieron 22 artículos, todos ellos en inglés. Estos fueron los artículos seleccionados.

A continuación, se muestra un diagrama (Figura 5) flujo que ilustra el proceso de búsqueda:

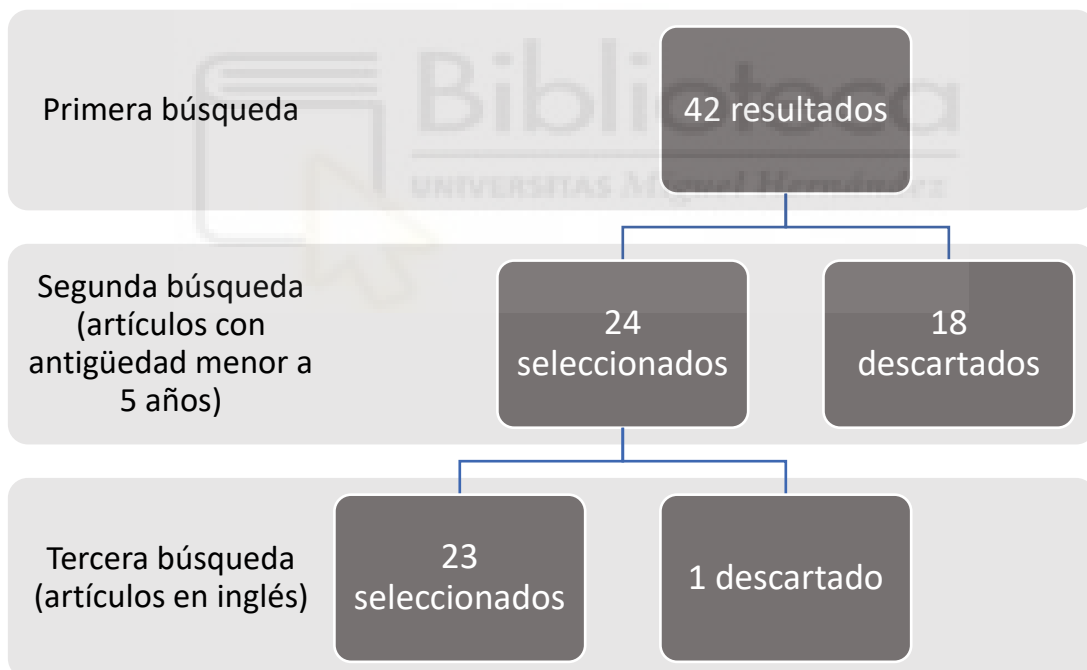


Figura 5: Representación gráfica del proceso de búsqueda.

RESULTADOS

En la figura 6 se muestra un histograma con los artículos seleccionados para el presente trabajo correspondientes a cada año seleccionado.



Figura 6: Histograma que relaciona número de artículos publicados (eje VERTICAL) con su año de publicación (eje HORIZONTAL). El total de artículos seleccionados para su revisión es de 23.

Durante este apartado se analizarán los resultados obtenidos de la revisión bibliografía de los 23 artículos seleccionados, los cuales se adjuntan en una tabla en el Anexo I.

A. ENSAYOS CLÍNICOS CON VECTORES VIRALES

a. LENTIVIRUS

Tratamiento de enfermedad de Stargardt

Los lentivirus son especialmente prometedores a la hora de emplearlos como terapia génica destinada a tratar la enfermedad de Stargardt, esto es debido a

su capacidad de almacenaje de 8kb (el doble de la capacidad habitual, la cual es aproximadamente 4 kb lo cual es un tamaño limitado para transportar genes contenidos en plásmidos), permitiéndoles transportar incluso las secuencias más largas, incluyendo el gen involucrado en la enfermedad, el gen *ABCA4* (6,8 kb de tamaño). La secuencia completa de *ABCA4* se incluyó en el virus de anemia infecciosa equina (EIAV), el cual se inoculó por inyección subretiniana a un ratón con 5 días de vida cuyo *ABCA4* estaba inactivado (25). Este transgén incluía un gen reportero de *LacZ*, el cual facilitaba el seguimiento de las células transfectadas con el gen *ABCA4*. Se consiguió una expresión que se mantuvo durante 12 meses en los ojos que habían sido tratados.

En el estudio llevado a cabo por Davis et al. (26), se inyectó en la retina de macacos y conejos *GFP-EAIV* y *ABCA4-EAIV* respectivamente, esta vez sin reportero *LacZ*, en su lugar el gen reportero fue *GFP*. En ambas especies fueron bien tolerados logrando una transfección exitosa, por lo que se pasó a un ensayo clínico de 27 pacientes humanos que presentaban la enfermedad de Stargardt. Este estudio terminó en 2019 y se obtuvieron los datos en 2020. Se detectaron efectos adversos graves en dos de los pacientes, uno presentaba un aumento en la presión intraocular, mientras que el otro desarrolló uveítis. No se logró una transfección exitosa. El resto de los pacientes presentaron efectos adversos menores. Ya que el ensayo tuvo una finalización temprana debido a la retirada del patrocinador, los pacientes se encuentran en un proceso de seguimiento que durará 15 años (27).

Tratamiento del síndrome de Usher

Este síndrome se caracteriza por una mutación en el gen *MYO7A* (encargado de dar instrucciones para la producción de miosina) causando pérdida grave de audición, así como RP. Al ser este gen demasiado grande (120kb) para inocularlo en un AAV, en el ensayo clínico liderado por Peng et al. (28) se suministró junto al virus de anemia infecciosa equina (EIAV) antes mencionado. Se inyectó a un ratón *USH1B* modelo de la enfermedad del síndrome de Usher, así como a primates no humanos (29). Como se muestra en la Figura 7, los resultados fueron prometedores, ya que se aprecia un aumento de miosina,

especialmente en el epitelio pigmentario y en los segmentos externos de los fotorreceptores (Figura 7B y 7D).

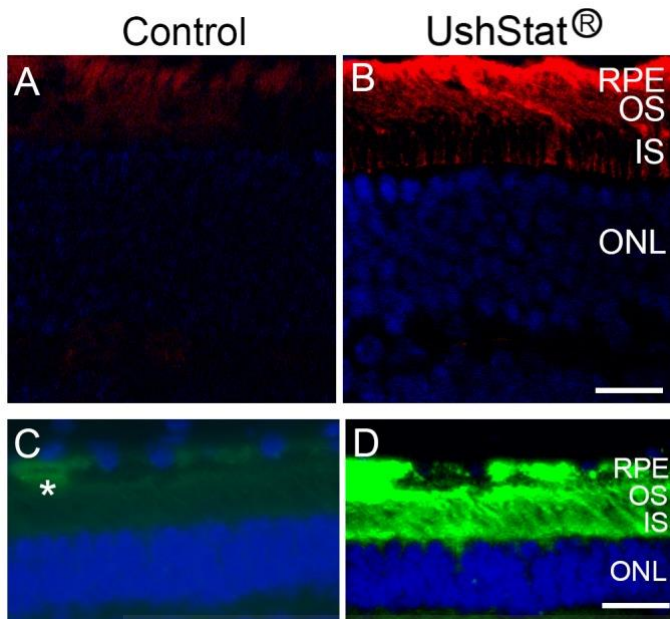


Figura 7: (A) Retina de ratón control; (B) retina de ratón tratado (células transfectadas en rojo); (C) retina de primate control; (D) retina de primate tratado (células transfectadas en verde). En (B y D) se puede apreciar con facilidad el aumento de la cantidad de miosina (30).

Los primates presentaron uveítis en los ojos tratados además de anomalías en la zona de administración, debido al procedimiento de inyección subretiniana. Se continuaron investigando diferentes formas de administrar esta terapia génica causando un menor daño (30), pero, hasta la fecha, no se ha llegado a una conclusión satisfactoria, por lo que no se puede considerar la terapia génica para tratar el síndrome de Usher en humanos como una posibilidad hoy en día.

b. VIRUS ASOCIADOS A ADENOVIRUS (AAV)

Tratamiento de RP ligada al cromosoma X

Este tipo de RP tiene su origen en mutaciones en el gen *RPGR*, el gen regulador de la GTPasa. Esta clase de RP es recesiva y la más común(31). En el ensayo clínico más reciente, realizado por Días et al. (32) (y el primero realizado con humanos, concretamente con 18 sujetos), se suministró unas concentraciones comprendidas entre 5×10^{10} gp/ml y 6×10^{10} gp/ml de

AAV8.coRPGR, un vector basado en el serotipo 8 del AAV2. Este vector se introdujo con éxito en el espacio subretiniano, creando una especie de ampolla en dicho espacio. Esta ampolla logró cubrir el polo que presentaba desprendimiento a nivel foveal en 17 de los 18 pacientes, logrando contrarrestar dicho desprendimiento. Todos los pacientes recibieron un tratamiento de prednisona de 1 mg/kg peso previo al estudio como protocolo de seguridad (33).

Durante el ensayo, los pacientes se dividieron en tres grupos, uno al que se le administró una dosis baja de vector, otro una dosis media, y otro una dosis alta. El grupo de dosis baja (5×10^{10} gp/ml) no experimentó ningún cambio significativo en la función visual de sus ojos. El grupo de dosis media (5×10^{11} gp/ml) sí experimentó una ganancia en la sensibilidad de la retina, así como una regresión en la pérdida de campo visual al mes de la operación, este efecto se prolongó durante 6 meses. El grupo de dosis alta (5×10^{12} gp/ml y superiores) presentó resultados igualmente exitosos, pero opacados por una ligera inflamación en los ojos operados, solventada con el uso de corticoesteroides orales.

Estos datos, permiten concluir que el tratamiento de RP ligada al cromosoma X empleando AAV8.coRPGR no presenta una toxicidad limitante, mientras que ha quedado demostrado que puede lograrse una regresión en el proceso de pérdida de visión(32).

Tratamiento de la retinosquiasis juvenil ligada al cromosoma X (XLR5)

La retinosquiasis juvenil ligada al cromosoma X es un tipo de RP que afecta de 1:5,000 a 1:20,000 jóvenes (34) y se debe a mutaciones en el gen *RS1*, el gen que codifica para la retinosquina, proteína encargada de la organización retinal.

En el ensayo llevado a cabo por Cukras et al. (35), se administró por vía intravítrea terapia génica con el adenovirus AAV8 y el gen *RS1* (*AAV8-RS1*) a 9 pacientes. Los resultados de la transfección génica se evaluaron midiendo la capacidad visual de los pacientes. A los 18 meses, ninguno de ellos presentó

una mejoría significativa en su capacidad visual, pero tampoco efectos adversos significativos, con excepción del noveno paciente (Figura 8). Este paciente experimentó un desprendimiento y una hemorragia vítrea que fueron tratadas mediante éxito con láser y una vitrectomía. Su capacidad visual regresó con éxito a los valores iniciales en unos tres meses.

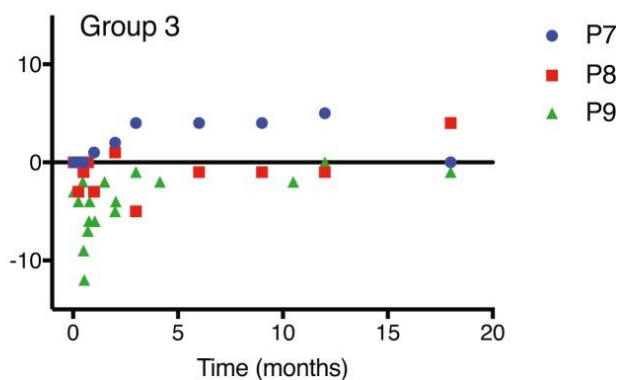


Figura 8: Aumento de la capacidad visual del paciente tras la intervención. Vuelve a sus valores normales transcurridos tres meses aproximadamente (35).

En otro ensayo, realizado por Molday et al. (36), se administraron por vía intravítrea el adenovirus AAV2 junto al gen de la retinosquisis (*AAV2tYF-CB-hRS1*), dado que previamente se había publicado en un ensayo pre-clínico que podría ser más efecto que el AAV8. (37). La conclusión obtenida fue la misma que en el ensayo anterior, ningún cambio significativo en la capacidad visual, por lo que se concluye que es una terapia segura, pero es necesaria más investigación para una mejora funcional de la visión.

Tratamiento de la acromatopsia (ACHM)

La acromatopsia se caracteriza por una enorme fotosensibilidad, bajo nivel de agudeza visual y por impedir la percepción de colores. Los genes *CNGA3* y *CNGB3* son responsables del 70 % de los casos de ACHM (38). En los conos, se encargan de codificar las subunidades alfa y beta del canal catiónico CNG.

Un ensayo reciente se testeó la administración subretiniana de un vector de AAV8 que contenía *CNGA3* en ojos portadores de mutaciones en dicho gen (39).. El total de los 9 pacientes estudiados presentaban buena tolerancia después de 1 año de la intervención, mostrando sólo leves efectos adversos

debidos a la forma de administración. Todos los pacientes presentaron una mejoría en la funcionalidad de los conos, la capacidad de distinguir colores y en la fotosensibilidad.

Se ha teorizado sobre si este tratamiento pudiera ser más beneficioso a edades tempranas, debido a la mayor plasticidad del ojo (40). Para poder asegurar la prometedora eficacia clínica de este método, es necesario llevar a cabo un cribado selectivo de pacientes, debido a que su fotosensibilidad puede ser un factor limitante.

Tratamiento de la amaurosis congénita de Leber (LCA)

Los ensayos clínicos con terapia génica para el tratamiento de la amaurosis congénita de Leber (LCA) con mutaciones en el *RPE65* han resultado exitosos. Estas mutaciones causan una severa ceguera bilateral con una herencia autosómica recesiva con un diagnóstico de LCA o RP según la edad del paciente. Estas mutaciones son responsables de, al menos, un 6% del total de casos de LCA. Se realizó un ensayo en 2017(41) empleando LUXTURNA™ (nombre registrado del AAV²-*hRPE65v2*, tratamiento que ha sido aprobado por la FDA de los EE. UU en pacientes de LCA (42). Se inyectaron 1.5×10^{11} gp/ml de este vector a 20 pacientes, de los cuales un 65 % presentaron mejoras significativas medidas por la prueba de visión específica MLMT (Novel Movility Test).

El uso de dosis altas (mayores a 1.5×10^{11}) de *rAAV2/2 RPE65*, ha llegado a causar inflamación en 5 de 8 pacientes, pudiendo ser un factor limitante en el tratamiento. Además, se detectaron dos casos de agujero macular y uno de endoftalmitis, aunque se debieron a la vía de administración y no al propio vector. Aún es necesario más investigación sobre el tratamiento del gen *RPE65*, ya que su especificidad, así como la vía de administración y la potencial respuesta inmune son factores que complican su tratamiento.

Tratamiento de la RP causada por mutaciones del gen *MERTK*

Este es otro tipo de RP similar a la LCA. Se caracteriza por una mutación en el gen *MERTK* (43), de tal manera que se produce un fallo en la fagocitosis a nivel del segmento externo de los fotorreceptores y acaban acumulándose en este espacio desechos celulares (44).

En un estudio realizado por Lavalí et al. (45), se inyectó *AAV2-VMD2-hMERTK* por vía subretiniana a varias ratas. La diferencia a nivel ocular de ojos inyectados y no inyectados fue notoria; en los ojos no inyectados, la membrana limitante externa se había degenerado y prácticamente desaparecido, además, se podía apreciar una capa de fotorreceptores muy disminuida provocada por las acumulaciones de los restos celulares que o habían sido fagocitados en las capas más externas de la retina. Por otra parte, en los ojos que sí fueron inyectados, las estructuras y fagosomas de la membrana limitante externa aparecían funcionales y sin daños; estos fagosomas duraron hasta 6 meses y medio en la retina siendo funcionales, logrando revertir así la ausencia de fagosomas provocada por la mutación en el gen *MERTK*. La actividad eléctrica de los fotorreceptores como respuesta a estímulos lumínicos también se vio incrementada dónde antes presentaba una carencia significativa.

Estos resultados son totalmente exitosos, por lo que se puede considerar el vector *AAV2-VMD2-hMERTK* una terapia a considerar para RP asociadas a mutaciones del *MERTK*.

Tratamiento de enfermedad de Stargardt

Dado que el gen *ABCA4* ocupa un gran tamaño (6,8 kb), se han llegado a crear transgenes “sobredimensionados” (con un tamaño mayor al original) que contienen la secuencia completa del *ABCA4*, logrando una transducción exitosa

tanto *in vitro* como *in vivo*. Sin embargo, la naturaleza irregular de este proceso de empaquetado resulta en la presencia de una población de transgenes heterogénea en la cápside del AAV, lo que lleva a la presencia de transgenes indeseados. El éxito de este tratamiento reside en que en esta población heterogénea se encontraban las secuencias superpuestas necesarias. Esto ocurre de forma casual, es decir, no se puede asegurar la presencia de las secuencias necesarias por lo que el tratamiento no es factible (46).

Una estrategia más reciente (47) es la conocida como estrategia del **vector dual**, la cual involucra una reconstitución del *ABCA4* al completo mediante inteínas (secuencias proteicas que catalizan de forma espontánea su escisión mediante un proceso conocido como empalme de proteínas o *splicing*). En el estudio mencionado anteriormente, las inteínas serán eliminadas por procesos nativos de las células y los dos *ABCA4* que estas inteínas contenían se combinarán formando así un *ABCA4* de tamaño completo. De este modo, se han logrado resultados exitosos en ojos de ratones y cerdos. De 11 sujetos de estudio a los que se inyectaron $3,3 \times 10^9$ copias de genoma contenido en el vector por ojo, 10 presentaban *ABCA4* de la longitud deseada para la terapia.

Esta estrategia del vector dual ha sido optimizada para limitar productos de expresión indeseados, volviendo cada vector inerte hasta su combinación evitando así dichos productos. Si se diagnostica la enfermedad de Stargardt de forma temprana, y dado que su progresión es generalmente prolongada, cualquier intento que logre expresar un *ABCA4* funcional en estadíos tempranos de la enfermedad sería de gran utilidad para su tratamiento, en este sentido la estrategia del vector dual cuenta con un potencial muy interesante.

B. ENSAYOS CLÍNICOS CON VECTORES NO VIRALES

a. NANOPARTÍCULAS

Tratamiento de la enfermedad de Stargardt

Las nanopartículas cuentan con la ventaja de no provocar una respuesta inmune, al contrario que los vectores virales. Al estar recubriendo al ADN cargado negativamente, normalmente en forma de plásmido, cuentan con una protección ante la degradación provocada por nucleasas y son capaces de atravesar membranas celulares.

El ensayo clínico más reciente al respecto(48) ha empleado una nanopartícula sensible al pH conocida como ECO, la cual contenía plásmido de ADN que contenía el gen que codifica para la rodopsina bovina (RHO) con la secuencia de *ABCA4* al completo. Los ratones a los que se les inyectó presentaron a los 4 días unos niveles superiores a 500-2500 respecto a los no tratados, pero al pasar 4 meses y medio, estos niveles se redujeron hasta niveles de 2-15 respecto a los no tratados. No hubo signos de toxicidad evidentes. Por lo que se concluyó que las nanopartículas ECO tienen gran potencial terapéutico para suplementar *ABCA4*.

Tratamiento del metabolismo del hierro

En pacientes con retinosis pigmentaria y con degeneración macular asociada a la edad, se observa una irregularidad en el metabolismo del hierro, lo que puede contribuir a un daño oxidativo de la retina. La transferrina (TF) se ha propuesto como opción para solucionar dicho daño (49). Para ello, se inoculó *pEYS611*, un plásmido que contenía TF en el musculo ciliar de ratones y conejos con degeneración retiniana.

En cuanto a los ratones, la cantidad inoculada por ojo fue de 30 µg por ojo (una cantidad capaz de inducir un incremento en la TF), y se empleó el método

de electrotransfección. Mediante este método en el que se emplean electrodos y un generador, se emiten una serie de pulsos eléctricos que abren poros en las membranas plasmáticas deseadas para que entre el vector con el plásmido que contiene el gen deseado. Tres días después de la administración, fue cuando se alcanzaron los niveles máximos de TF, y la proteína se mantuvo presente en el humor vítreo hasta 90 días después de su inoculación.

Respecto a los conejos, se les suministraron 45 μg por ojo siguiendo el mismo método y la máxima concentración de TF se alcanzó a los cinco después de su inoculación, siendo esta cinco veces mayor en el humor vítreo que en el humor acuoso. Tras 6 meses de su administración, en un 75 % de los ojos tratados aún quedaba TF.

Cabe destacar que el efecto terapéutico del plásmido es el mismo a partir de dosis de 3 μg en ratones, ya que la TF se expresa a niveles funcionales tanto con 3 μg como con 30 μg o cantidades superiores, como se aprecia en la Figura 9.

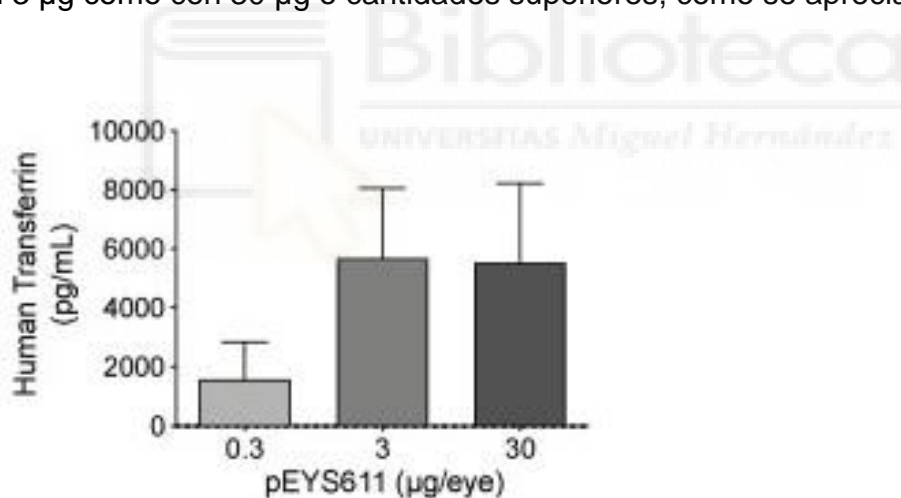


Figura 9: Cantidad de expresión de transferrina humana (eje vertical) frente a cantidad de plásmido administrado en el ojo (eje horizontal) (50).

DISCUSIÓN

Las distrofias hereditarias de la retina son enfermedades con una prevalencia de 1:4.000 personas (51), siendo la retinosis pigmentaria una de las distrofias más común entre estas (52). Se trata de enfermedades en su mayoría incapacitantes e incurables, y es por ello por lo que se necesita investigar nuevos métodos para su tratamiento, como la terapia génica. La terapia génica es un modelo de tratamiento para las DHR relativamente joven y en desarrollo, ya que el primer tratamiento aprobado en los E.E.U.U. fue tan sólo en 2017, se trata de LUXTURNA para la LCA (53).

Actualmente hay ensayos clínicos en marcha para tratar las DHR, y junto los resultados de los ya finalizados, se augura un futuro prometedor a esta terapia. No obstante, también se ha de ser consciente de los inconvenientes que acarrear dichos ensayos.

Uno de estos inconvenientes es la especificidad necesaria para poder llevar a cabo un ensayo clínico con pacientes humanos debido a la naturaleza particular de cada distrofia. Se debe tener suficiente material y pruebas previas al ensayo, así como poder asegurar la seguridad de los pacientes previo ensayo con animales de experimentación modelo de la patología. También es necesario un conocimiento de cada enfermedad en cada caso concreto, además de su estado y avance. Por último, se necesita determinar con anterioridad al ensayo si el objetivo es mejorar la capacidad visual o frenar el deterioro de la retina y ser capaz de acarrear con los elevados gastos que la investigación de esta terapia implica, en muchas ocasiones algo imposible a no ser que intervenga un patrocinador.

Es necesario destacar también que, en bastantes ocasiones, la vía de administración es causante de efectos adversos, sobre todo de inflamación. Esta inflamación se puede solventar, y se solventa, con el uso de antiinflamatorios, pero para un mayor bienestar del paciente, sería mucho mejor evitar que aparezca esta inflamación en un primer lugar, lo cual es muy complicado si se utilizan los métodos actuales. Por ejemplo, en el ensayo sobre la XLRS llevado a cabo por Días et al. (41) se utiliza la vía intravítrea, y los efectos adversos son mínimos, mientras que en el ensayo sobre el síndrome de Usher llevado a cabo por Peng et al. (54), los primates experimentaron uveítis y anormalidades, motivo de peso para no pasar a un ensayo clínico con humanos

Respecto a las ventajas y desventajas de utilizar vectores de tipo viral o no viral, los no virales han mostrado mejorías a niveles de seguridad y biocompatibilidad, aunque están lejos de ser perfectos (55). Actualmente, se está investigando sobre nuevos vectores fluorescentes como pueden ser los puntos cuánticos o complejos metálicos, los cuales serían capaces de transportar el gen deseado y a su vez, gracias a sus propiedades fluorescentes, indicar visualmente el progreso del proceso (56).

En cuanto a las diferencias entre vectores, destaca la cantidad de ensayos donde se utilizan vectores virales, y dentro de estos, los AAV. Estos han quedado como el vector viral de elección, una vez superada su limitación de espacio inicial gracias a la técnica del vector dual. Aunque dicha limitación ha sido superada (57), aún no son capaces de albergar secuencias de un tamaño mayor a 14kb, como pueda ser el caso del gen que se encuentra mutado en el síndrome de Usher, lo que no permite su uso en distrofias causadas por mutaciones en genes mayores de este tamaño. Si se consiguiera solventar este inconveniente, las posibilidades de utilizar AAV como vectores aumentarían considerablemente. Lo mismo ocurre con los lentivirus, como se ha comentado anteriormente, su tamaño y estructura viral parecen limitan su capacidad de transducción.

Es también necesario hablar de la importancia que tiene el momento de la enfermedad en el que se realice la intervención. No todos los sujetos de los ensayos analizados se encontraban en el mismo estadio de la enfermedad. Los pacientes en estados más avanzados presentaban resultados menos exitosos en comparación a aquellos que se encontraban en estados tempranos, como evidencia el ensayo realizado por Jones et al.(58), donde los ratones con retinosis pigmentaria en estado más avanzado presentan una mejoría mucho menor respecto a los que se encuentran en las primeras fases de la enfermedad. Para alcanzar el mismo grado de éxito en unos y en otros, es posible que aquellos pacientes más avanzados tengan que someterse a otro tipo de terapia más agresiva, como podría ser el empleo de la terapia optogenética para lograr construir fotorreceptores de forma artificial, aunque actualmente se trata de una terapia en proceso de desarrollo (54).

En los últimos 25 años ha habido un avance significativo en el campo de la terapia génica, la cual muestra un gran potencial para su uso en el presente y en el futuro. Podría llegar a ser la terapia de elección para patologías con un componente genético (en algunas ya no es una utopía, si no una realidad), aunque aún es necesario mayor trabajo e investigación sobre este tema.

CONCLUSIONES

En esta revisión bibliográfica, se han puesto de manifiesto los ensayos clínicos más relevantes sobre el uso de la terapia génica destinada al tratamiento de las distrofias hereditarias en la retina.

Las conclusiones extraídas son las siguientes:

- Con el uso de AAV como vectores, se ha logrado aumentar la capacidad visual en ratones notablemente durante un periodo de hasta 6 meses, incluso ya hay un tratamiento aprobado para su uso en humanos.
- Respecto al uso de lentivirus como vectores, se ha demostrado su potencial con primates, pero ahora mismo no es factible su uso en humanos debido a efectos adversos.
- Las nanopartículas (vectores no virales) han logrado resultados muy positivos en ratones, logrando mantener el efecto terapéutico hasta 6 meses sin causar ningún tipo de respuesta inmune.
- La limitación de tamaño del gen ha sido un factor limitante en algunos ensayos en los que se emplearon AAV y lentivirus, incluso utilizando métodos que permiten superar su limitación inicial de tamaño como el método del vector dual.
- Los efectos secundarios de la terapia, en muy pocos casos son limitantes, y si aparecen, suelen ser debidos a la vía de administración y no a la propia terapia.
- Cuanto más temprano sea el estadio de la DHR a tratar, mayores probabilidades de éxito tendrá el empleo de la terapia génica.

BIBLIOGRAFIA

1. Figure 7. [Human visual pathway.]. - Webvision - NCBI Bookshelf [Internet]. [cited 2022 Jan 12]. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK391004/figure/FernandezIVP.F7/>
2. Webvision: Histología de la Retina [Internet]. [cited 2022 Jan 9]. Available from:
<http://retina.umh.es/Webvision/spanish/vgeneral.html>
3. Nguyen KH, Patel BC, Tadi P. Anatomy, Head and Neck, Eye Retina. StatPearls [Internet]. 2021 Aug 11 [cited 2022 Jan 12]; Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542332/>
4. Figure 16. [Jawed vertebrate retinal photoreceptors. A,...]. 2013 Jul 10;
5. Grossniklaus HE, Geisert EE, Nickerson JM. Introduction to the Retina. Progress in Molecular Biology and Translational Science. 2015 Jan 1;134:383–96.
6. Mannu GS. Retinal phototransduction. Neurosciences [Internet]. 2014 [cited 2022 Jan 12];19(4):275. Available from: </pmc/articles/PMC4727664/>
7. Olivares-González L, Velasco S, Campillo I, Rodrigo R. Retinal Inflammation, Cell Death and Inherited Retinal Dystrophies. International Journal of Molecular Sciences [Internet]. 2021 Feb 2 [cited 2022 Jan 3];22(4):1–19. Available from: </pmc/articles/PMC7924201/>
8. Nuzbrokh Y, Ragi SD, Tsang SH. Gene therapy for inherited retinal diseases. Annals of Translational Medicine [Internet]. 2021 Aug [cited 2022 Jan 12];9(15):1278–1278. Available from: </pmc/articles/PMC8421966/>
9. Daiger SP, Sullivan LS, Bowne SJ. Genes and mutations causing retinitis pigmentosa. Clinical genetics [Internet]. 2013 Aug [cited 2022 Jan 3];84(2):132–41. Available from: </pmc/articles/PMC3856531/>
10. Piotter E, McClements ME, Maclaren RE. Therapy Approaches for Stargardt Disease. Biomolecules [Internet]. 2021 Aug 1 [cited 2022 Jan 12];11(8). Available from: </pmc/articles/PMC8393614/>
11. Nuzbrokh Y, Ragi SD, Tsang SH. Gene therapy for inherited retinal diseases. Annals of Translational Medicine [Internet]. 2021 Aug [cited 2022 Jan 12];9(15):1278–1278. Available from: </pmc/articles/PMC8421966/>
12. Camba Longueira F, Perapoch López Nieves Martín Begué J. 46 Retinopatía de la prematuridad. [cited 2022 Jan 3]; Available from: www.aeped.es/protocolos/
13. Gheorghe A, Mahdi L, Musat O. AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION. Romanian Journal of Ophthalmology [Internet]. 2015 Apr 1 [cited 2022 Jan 3];59(2):74. Available from: </pmc/articles/PMC5712933/>
14. Sun Y, Smith LEH. Retinal Vasculature in Development and Diseases. Annual review of vision science [Internet]. 2018 Sep 15 [cited 2022 Jan 3];4:101. Available from: </pmc/articles/PMC6326083/>

15. Nuzbrokh Y, Ragi SD, Tsang SH. Gene therapy for inherited retinal diseases. *Annals of Translational Medicine* [Internet]. 2021 Aug [cited 2022 Jan 12];9(15):1278–1278. Available from: [/pmc/articles/PMC8421966/](#)
16. Ochakovski GA, Ulrich Bartz-Schmidt K, Fischer MD. Retinal gene therapy: Surgical vector delivery in the translation to clinical trials. *Frontiers in Neuroscience*. 2017 Apr 3;11(APR):174.
17. Ziccardi L, Cordeddu V, Gaddini L, Matteucci A, Parravano M, Malchiodi-Albedi F, et al. Gene Therapy in Retinal Dystrophies. *International Journal of Molecular Sciences* [Internet]. 2019 Nov 2 [cited 2022 Jan 3];20(22). Available from: [/pmc/articles/PMC6888000/](#)
18. Attia N, Mashal M, Puras G, Pedraz JL. Mesenchymal Stem Cells as a Gene Delivery Tool: Promise, Problems, and Prospects. *Pharmaceutics* 2021, Vol 13, Page 843 [Internet]. 2021 Jun 7 [cited 2022 Jan 12];13(6):843. Available from: <https://www.mdpi.com/1999-4923/13/6/843/htm>
19. Ong T, Pennesi ME, Birch DG, Lam BL, Tsang SH. Adeno-Associated Viral Gene Therapy for Inherited Retinal Disease. *Pharmaceutical research* [Internet]. 2019 Feb 1 [cited 2022 Jan 13];36(2):34. Available from: [/pmc/articles/PMC6534121/](#)
20. Adijanto J, Naash MI. Nanoparticle-based Technologies for Retinal Gene Therapy. Available from: <http://sph.uth.tmc.edu/retnet/disease.htm>
21. AAV8-RGPR para Retinosis Pigmentaria ligada al cromosoma X - Asociación Mácula Retina [Internet]. [cited 2022 Jan 9]. Available from: <https://www.macula-retina.es/aaav8-rgpr-para-retinosis-pigmentaria-ligada-al-cromosoma-x/>
22. Azzam T, Domb A. Current developments in gene transfection agents. *Current drug delivery* [Internet]. 2004 Mar 25 [cited 2022 Jan 4];1(2):165–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16305382/>
23. Schultz A, Saville BR, Marsh JA, Snelling TL. An introduction to clinical trial design. *Paediatric Respiratory Reviews*. 2019 Nov 1;32:30–5.
24. Learn About Clinical Studies - ClinicalTrials.gov [Internet]. [cited 2022 Jan 12]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/about-studies/learn#WhatIs>
25. Kong J, Kim SR, Binley K, Pata I, Doi K, Mannik J, et al. Correction of the disease phenotype in the mouse model of Stargardt disease by lentiviral gene therapy. *Gene therapy* [Internet]. 2008 [cited 2022 Jan 13];15(19):1311. Available from: [/pmc/articles/PMC3110063/](#)
26. Davis JL. The Blunt End: Surgical Challenges of Gene Therapy for Inherited Retinal Diseases. *American Journal of Ophthalmology* [Internet]. 2018 Dec 1 [cited 2022 Jan 4];196:xxv–xxix. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01367444>
27. Phase I/IIA Study of SAR422459 in Participants With Stargardt’s Macular Degeneration - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. [cited 2022 Jan 13]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01367444>
28. Peng YW, Zallocchi M, Wang WM, Delimont D, Cosgrove D. Moderate Light-Induced Degeneration of Rod Photoreceptors with Delayed Transducin Translocation in shaker1 Mice. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* [Internet]. 2011 Aug [cited 2022 Jan 5];52(9):6421. Available from: [/pmc/articles/PMC3176018/](#)

29. Zallocchi M, Binley K, Lad Y, Ellis S, Widdowson P. ElAV-Based Retinal Gene Therapy in the shaker1 Mouse Model for Usher Syndrome Type 1B: Development of UshStat. *PLoS ONE* [Internet]. 2014;9(4):94272. Available from: www.plosone.org
30. Jacobson SG, Aleman TS, Sumaroka A, Cideciyan A v., Roman AJ, Windsor EAM, et al. Disease boundaries in the retina of patients with Usher syndrome caused by MYO7A gene mutations. *Investigative ophthalmology & visual science* [Internet]. 2009 Apr [cited 2022 Jan 5];50(4):1886–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19074810/>
31. Talib M, van Schooneveld MJ, Thiadens AA, Fiocco M, Wijnholds J, Florijn RJ, et al. CLINICAL AND GENETIC CHARACTERISTICS OF MALE PATIENTS WITH RPGR-ASSOCIATED RETINAL DYSTROPHIES: A Long-Term Follow-up Study. *Retina* (Philadelphia, Pa) [Internet]. 2019 Jun 1 [cited 2022 Jan 5];39(6):1186–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29528978/>
32. Dias MF, Joo K, Kemp JA, Fialho SL, da Silva Cunha A, Woo SJ, et al. Molecular genetics and emerging therapies for retinitis pigmentosa: Basic research and clinical perspectives. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2018 Mar 1;63:107–31.
33. Maguire AM, Simonelli F, Pierce EA, Pugh EN, Mingozzi F, Bennicelli J, et al. Safety and Efficacy of Gene Transfer for Leber's Congenital Amaurosis. *N Engl J Med* [Internet]. 2008;358:2240–8. Available from: www.nejm.org
34. George NDL, Yates JRW, Moore AT. X linked retinoschisis. *The British Journal of Ophthalmology* [Internet]. 1995 [cited 2022 Jan 5];79(7):697. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC505202/>
35. Cukras C, Wiley HE, Jeffrey BG, Sen HN, Turriff A, Zeng Y, et al. Retinal AAV8-RS1 Gene Therapy for X-Linked Retinoschisis: Initial Findings from a Phase I/IIa Trial by Intravitreal Delivery. *Molecular Therapy* [Internet]. 2018 Sep 5 [cited 2022 Jan 12];26(9):2282. Available from: [/pmc/articles/PMC6127971/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6127971/)
36. Molday RS, Kellner U, Weber BHF. X-linked juvenile retinoschisis: Clinical diagnosis, genetic analysis, and molecular mechanisms. *Progress in Retinal and Eye Research* [Internet]. 2012 May [cited 2022 Jan 12];31(3):195–212. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02416622>
37. Petrs-Silva H, Dinculescu A, Li Q, Min SH, Chiodo V, Pang JJ, et al. High-efficiency Transduction of the Mouse Retina by Tyrosine-mutant AAV Serotype Vectors. *Molecular Therapy: the Journal of the American Society of Gene Therapy* [Internet]. 2009 [cited 2022 Jan 5];17(3):463. Available from: [/pmc/articles/PMC2835095/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2835095/)
38. Roosing S, Thiadens AAHJ, Hoyng CB, Klaver CCW, den Hollander AI, Cremers FPM. Causes and consequences of inherited cone disorders. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2014 Sep 1;42:1–26.
39. Fischer MD, Michalakis S, Wilhelm B, Zobor D, Muehlfriedel R, Kohl S, et al. Safety and Vision Outcomes of Subretinal Gene Therapy Targeting Cone Photoreceptors in Achromatopsia: A Nonrandomized Controlled Trial. *JAMA Ophthalmology* [Internet]. 2020 Jun 1 [cited 2022 Jan 5];138(6):1. Available from: [/pmc/articles/PMC7193523/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7193523/)
40. Espinosa JS, Stryker MP. Development and Plasticity of the Primary Visual Cortex. *Neuron* [Internet]. 2012 Jul 26 [cited 2022 Jan 5];75(2):230. Available from: [/pmc/articles/PMC3612584/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3612584/)

41. Dias MF, Joo K, Kemp JA, Fialho SL, da Silva Cunha A, Woo SJ, et al. Molecular genetics and emerging therapies for retinitis pigmentosa: Basic research and clinical perspectives. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2018 Mar 1;63:107–31.
42. FDA approves novel gene therapy to treat patients with a rare form of inherited vision loss | FDA [Internet]. [cited 2022 Jan 19]. Available from: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-novel-gene-therapy-treat-patients-rare-form-inherited-vision-loss>
43. Garafalo A v., Cideciyan A v., Héon E, Sheplock R, Pearson A, WeiYang Yu C, et al. Progress in treating inherited retinal diseases: Early subretinal gene therapy clinical trials and candidates for future initiatives. *Progress in retinal and eye research [Internet]*. 2020 Jul 1 [cited 2022 Jan 6];77:100827. Available from: </pmc/articles/PMC8714059/>
44. Gal A, Li Y, Thompson DA, Weir J, Orth U, Jacobson SG, et al. Mutations in MERTK, the human orthologue of the RCS rat retinal dystrophy gene, cause retinitis pigmentosa. *Nature Genetics* 2000 26:3 [Internet]. 2000 [cited 2022 Jan 6];26(3):270–1. Available from: https://www.nature.com/articles/ng1100_270
45. Lavail MM, Yasumura D, Matthes MT, Yang H, Hauswirth WW, Deng WT, et al. Gene Therapy for MERTK-Associated Retinal Degenerations. *Advances in experimental medicine and biology [Internet]*. 2016 Oct 1 [cited 2022 Jan 6];854:487. Available from: </pmc/articles/PMC4942279/>
46. McClements ME, Issa PC, Blouin V, MacLaren RE. A fragmented adeno-associated viral dual vector strategy for treatment of diseases caused by mutations in large genes leads to expression of hybrid transcripts. *Journal of genetic syndromes & gene therapy [Internet]*. 2016 [cited 2022 Jan 4];7(5). Available from: </pmc/articles/PMC5321474/>
47. Tornabene P, Trapani I, Minopoli R, Centrulo M, Lupo M, de Simone S, et al. Intein-mediated protein trans-splicing expands adeno-associated virus transfer capacity in the retina. *Science translational medicine [Internet]*. 2019 [cited 2022 Jan 4];11(492). Available from: </pmc/articles/PMC6863751/>
48. Piotter E, McClements ME, Maclaren RE. Therapy Approaches for Stargardt Disease. *Biomolecules [Internet]*. 2021 Aug 1 [cited 2022 Jan 4];11(8). Available from: </pmc/articles/PMC8393614/>
49. Bigot K, Gondouin P, Bénard R, Montagne P, Youale J, Piazza M, et al. Transferrin Non-Viral Gene Therapy for Treatment of Retinal Degeneration. *Pharmaceutics [Internet]*. 2020 Sep 1 [cited 2022 Jan 8];12(9):1–22. Available from: </pmc/articles/PMC7557784/>
50. Bigot K, Gondouin P, Bénard R, Montagne P, Youale J, Piazza M, et al. Transferrin Non-Viral Gene Therapy for Treatment of Retinal Degeneration. *Pharmaceutics [Internet]*. 2020 Sep 1 [cited 2022 Jan 13];12(9):1–22. Available from: </pmc/articles/PMC7557784/>
51. Nash BM, Wright DC, Grigg JR, Bennetts B, Jamieson R v. Retinal dystrophies, genomic applications in diagnosis and prospects for therapy. *Translational Pediatrics [Internet]*. 2015 [cited 2022 Jan 13];4(2):139. Available from: </pmc/articles/PMC4729094/>
52. Verbakel SK, van Huet RAC, Boon CJF, den Hollander AI, Collin RWJ, Klaver CCW, et al. Non-syndromic retinitis pigmentosa. *Progress in retinal and eye research [Internet]*. 2018 Sep 1 [cited 2022 Jan 6];66:157–86. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29597005/>
53. Russell S, Bennett J, Wellman JA, Chung DC, Yu ZF, Tillman A, et al. Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated

inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *The Lancet*. 2017 Aug 26;390(10097):849–60.

54. Peng YW, Zallocchi M, Wang WM, Delimont D, Cosgrove D. Moderate Light-Induced Degeneration of Rod Photoreceptors with Delayed Transducin Translocation in shaker1 Mice. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* [Internet]. 2011 Aug [cited 2022 Jan 13];52(9):6421. Available from: [/pmc/articles/PMC3176018/](#)
55. Sun D, Schur RM, Sears AE, Gao SQ, Vaidya A, Sun W, et al. Non-viral Gene Therapy for Stargardt Disease with ECO/pRHO-ABCA4 Self-Assembled Nanoparticles. *Molecular Therapy* [Internet]. 2020 [cited 2022 Jan 19];28(1):293. Available from: [/pmc/articles/PMC6952167/](#)
56. Patil S, Gao YG, Lin X, Li Y, Dang K, Tian Y, et al. The Development of Functional Non-Viral Vectors for Gene Delivery. *International Journal of Molecular Sciences* [Internet]. 2019 Nov 1 [cited 2022 Jan 13];20(21). Available from: [/pmc/articles/PMC6862238/](#)
57. Tornabene P, Trapani I, Minopoli R, Centrulo M, Lupo M, de Simone S, et al. Intein-mediated protein trans-splicing expands adeno-associated virus transfer capacity in the retina. *Science translational medicine* [Internet]. 2019 [cited 2022 Jan 13];11(492). Available from: [/pmc/articles/PMC6863751/](#)
58. Jones BW, Pfeiffer RL, Ferrell WD, Watt CB, Marmor M, Marc RE. Retinal remodeling in human retinitis pigmentosa. *Experimental Eye Research*. 2016 Sep 1;150:149–65.
59. Busskamp V, Picaud S, Sahel JA, Roska B. Optogenetic therapy for retinitis pigmentosa. *Gene Therapy* 2012 19:2 [Internet]. 2011 Oct 13 [cited 2022 Jan 13];19(2):169–75. Available from: <https://www.nature.com/articles/gt2011155>



ANEXO

Nombre del artículo	Autor/es	Fecha de publicac ion	DOI
Gene therapy for neovascular age-related macular degeneration: rationale, clinical trials and future directions	Cabral de Guimares et al.	8/4/2020	10.1136/bjophthalmol-2020-316195
Macular dystrophies: clinical and imaging features, molecular genetics and therapeutic options	Rahman et al.	8/11/2019	10.1136/bjophthalmol-2019-315086
Innovative therapies for neovascular age-related macular degeneration	Al-Khersan et al.	20/10/2019	10.1080/14656566.2019.1636031
Retinal AAV8-RS1 Gene Therapy for X-Linked Retinoschisis: Initial Findings from a Phase I/IIa Trial by Intravitreal Delivery	Cukras et al.	7/7/2018	10.1016/j.ymthe.2018.05.025

Bilateral visual improvement with unilateral gene therapy injection for Leber hereditary optic neuropathy	Yu-Wai-Man et al.	9/12/2020	10.1126/scitranslmed.aaz7423
Optogenetic approaches to vision restoration	Simunovic et al.	13/9/2018	10.1016/j.exer.2018.09.003
Molecular Therapy for Choroideremia: Pre-clinical and Clinical Progress to Date	Kalatzis et al.	25/11/2021	10.1007/s40291-021-00558-y
Of men and mice: Human X-linked retinoschisis and fidelity in mouse modeling	Vijayasarathy et al.	11/8/2021	10.1016/j.preteyeres.2021.100999
Three-year results of phase I retinal gene therapy trial for CNGA3-mutated achromatopsia: results of a non randomised controlled trial	Reichel et al.	18/5/2021	10.1136/bjophthalmol-2021-319067

Restoring vision using optogenetics without being blind to the risks	Harris et al.	1/11/2021	10.1007/s00417-021-05477-6
Leber congenital amaurosis/early-onset severe retinal dystrophy: current management and clinical trials	Varela et al.	12/3/2021	10.1136/bjophthalmol-2020-318483
AAV-Delivered <i>Tulp1</i> Supplementation Therapy Targeting Photoreceptors Provides Minimal Benefit in <i>Tulp1</i> ^{-/-} Retinas	Palfi et al.	27/8/2020	10.3389/fnins.2020.00891
Autosomal Dominant Retinitis Pigmentosa Due to Class B <i>Rhodopsin</i> Mutations: An Objective Outcome for Future Treatment Trials	Sumaroka et al.	21/10/2019	10.3390/ijms20215344
Progression in X-linked Retinitis Pigmentosa Due to ORF15-RPGR	Cideciyan et al.	4/9/2018	10.1167/iovs.18-24931

Mutations: Assessment of Localized Vision Changes Over 2 Years			
Codon-Optimized RPGR Improves Stability and Efficacy of AAV8 Gene Therapy in Two Mouse Models of X-Linked Retinitis Pigmentosa	Fischer et al.	2/8/2017	10.1016/j.ymthe.2017.05.005
Functional expression of complement factor I following AAV-mediated gene delivery in the retina of mice and human cells	Dreisman et al.	10/3/2021	10.1038/s41434-021-00239-9
Report from a Workshop on Accelerating the Development of Treatments for Inherited Retinal Dystrophies Associated with Mutations in the <i>RDH12</i> Gene	Sofia et al.	17/7/2020	10.1167/tvst.9.8.30
Longitudinal Evaluation of Hyper-Reflective Foci in the Retina Following Subretinal Delivery of	Rodríguez-Bocanegra	3/5/2021	10.1167/tvst.10.6.15

Adeno-Associated Virus in Non-Human Primates			
Defining inclusion criteria and endpoints for clinical trials: a prospective cross-sectional study in CRB1-associated retinal dystrophies	Talib et al.	1/5/2021	<u>10.1111/aos.14597</u>
Assessment of AAV Dual Vector Safety in the <i>Abca4</i> ^{-/-} Mouse Model of Stargardt Disease	McClements et al.	1/6/2020	<u>10.1167/tvst.9.7.20</u>
Real-world outcomes of voretigene neparvovec treatment in pediatric patients with RPE65-associated Leber congenital amaurosis	Deng et al.	10/1/2020	<u>10.1007/s00417-021-05508-2</u>
Advanced late-onset retinitis pigmentosa with dominant-acting D477G RPE65 mutation is	Kenna et al.	5/5/2020	<u>10.1136/bmiophth-2020-000462</u>

responsive to oral synthetic retinoid therapy			
Inclusion of the Woodchuck Hepatitis Virus Posttranscriptional Regulatory Element Enhances AAV2-Driven Transduction of Mouse and Human Retina	Patricio et al.	17/3/2017	10.1016/j.omtn.2016.12.006

Figura 10: Artículos obtenidos siguiendo la ecuación de búsqueda empleada.

